



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ANA ROSA BRISSANT DE ANDRADE LUSTOSA

**APLICAÇÃO DE TÉCNICAS *IN VITRO* E *IN VIVO* PARA QUANTIFICAÇÃO DE
RESÍDUOS DE DIMETOATO COMO ESTRATÉGIA PARA AVALIAÇÃO DA
EXPOSIÇÃO DE TRABALHADORES ENVOLVIDOS NA AGRICULTURA
FAMILIAR**

Recife, 2024

ANA ROSA BRISSANT DE ANDRADE LUSTOSA

**APLICAÇÃO DE TÉCNICAS *IN VITRO* E *IN VIVO* PARA
QUANTIFICAÇÃO DE RESÍDUOS DE DIMETOATO COMO
ESTRATÉGIA PARA AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO DE
TRABALHADORES ENVOLVIDOS NA AGRICULTURA
FAMILIAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências Farmacêuticas da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito para obtenção do título de
Doutora em Ciências Farmacêuticas.
Área de Concentração: Fármacos e
Medicamentos.

Orientador: Prof.^a. Dr.^a. Leila Bastos Leal
Co-orientador: Prof. Dr.^a. Cheila Nataly Galindo Bedor

Recife, 2024

ANA ROSA BRISSANT DE ANDRADE LUSTOSA

**“APLICAÇÃO DE TÉCNICAS IN VITRO E IN VIVO PARA
QUANTIFICAÇÃO DE RESÍDUOS DE DIMETOATO COMO
ESTRATÉGIA PARA AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO DE
TRABALHADORES ENVOLVIDOS NA AGRICULTURA
FAMILIAR”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 07/03/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Leila Bastos Leal (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Davi Pereira de Santana (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Fernando José Malagueño de Santana (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Octavio Augusto França Presgrave (Examinador Externo)
Fundação Oswaldo Cruz

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, meu alicerce, minha força, luz e proteção. Por me permitir seguir com meus sonhos e propósitos, sempre segurando minha mão e guiando meus passos.

Ao meu marido, Deoclécio. Companheiro da vida, das pesquisas, por estar comigo em todos os momentos, sempre com muito amor carinho.

A Tânia, minha mãe, inspiração de amor, cuidado, doçura e alegria, minha amiga e companheira, e Alexandre, meu pai, que sempre acredita em mim, me fortalece e me apoia. Meu amor por vocês é incondicional.

Hugo, Ricardo e Alice, meus irmãos, que sempre me incentivam e aplaudem minhas conquistas, com eles, há garantia de amor, fraternidade, lealdade e companheirismo.

À minha família, Tios, Sogros, padrinhos... que nunca mediram esforços para me ver feliz.

A minha orientadora, Professora. Dr^a. Leila Bastos, por quem tenho grande carinho e admiração. Obrigada por me acolher desde a graduação, e por contribuir muito com meu crescimento pessoal e profissional. À senhora a minha gratidão.

Ao Professor Danilo Bedor, por todos os ensinamentos durante o doutorado.

Ao professor Dr. Davi Santana, pelo acolhimento, apoio e ensinamentos. Muita gratidão.

Aos meus amigos do laboratório, obrigada por toda amizade e companheirismo, durante todo o período dos estudos, vocês fizeram essa jornada ser mais leve e alegre.

Ao NUDFAC, por toda sua estrutura para o desenvolvimento do doutorado.

A todos os trabalhadores rurais e transeuntes, que participaram de forma voluntária. Vocês foram essenciais.

Aos professores e funcionários do PPGCF-UFPE.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

RESUMO

Os agrotóxicos são substâncias empregadas na agricultura para proteger as plantas contra pragas e promover um alto rendimento das culturas e seus derivados. No entanto, o contato dos trabalhadores rurais com estes produtos, primariamente através da pele, da via inalatória e da mucosa ocular, pode expô-los a inúmeros riscos à saúde, como irritação dérmica, parestesia, alterações nos sistemas cardiovascular, respiratório, alterações hematológicas e reações alérgicas. Sendo assim, este trabalho busca avaliar a exposição dérmica (ED) ao Dimetoato de trabalhadores da agricultura familiar, após 4 horas de aplicação rotineira em plantação de limão, e de forma complementar, avaliar a concentração deste pesticida na saliva, mucosa nasal e fluido lacrimal. Ao mesmo tempo, tem como objetivo avaliar a permeação *in vitro* (IVPT) do dimetoato através de mucosas esofágica, sublingual e jugal de porco, além das peles humana, de porco e rato, utilizando células de difusão vertical e horizontal. No estudo *in vivo*, a técnica empregada para a retirada do estrato córneo (EC) foi o *tape-stripping*, associado a dosagem do agrotóxico em patches de algodão que foram aderidos as vestimentas dos trabalhadores antes do início da aplicação. O doseamento foi realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à espectrometria de massas. No estudo *in vivo*, a média de dimetoato obtida para ED foi de $342,19 \pm 487,14$ mg/dia, a porcentagem de dose tóxica por hora foi maior que os demais agrotóxicos verificados em outros estudos, e os fatores de penetração no EC variaram entre 0,5-14,81 e 0,05-53,96% para nuca e braços, respectivamente. Nos estudos de IVPT, a absorção de dimetoato através da pele humana foi de 14,75% e o valor padrão, na ausência de dados experimentais para este produto, é de 70%. Os resultados mostram que na agricultura familiar há exposição dermal, principalmente relacionada a deficiência de vestimentas corretas durante a aplicação de agrotóxicos, o que torna estes trabalhadores mais vulneráveis.

Palavras-chave:

Agrotóxicos, absorção cutânea, agricultor familiar, pele humana, IVPT, *tape-stripping*.

ABSTRACT

Pesticides are substances used in agriculture to protect plants against pests and promote a high crop yield and their derivatives. However, the contact of rural workers with pesticides, primarily through the skin, inhalation route and ocular mucosa, can expose them to numerous health risks, such as dermal irritation, paresthesia, changes in the cardiovascular and respiratory systems, hematological changes and allergic reactions. Therefore, this work seeks to evaluate the dermal exposure (DE) to dimethoate of agricultural workers after 4 hours of routine application in a lemon plantation, in addition to performing and evaluating in vitro permeation of dimethoate through esophageal, sublingual, jugal and mucosa of pig, human, pig and mouse skins, using vertical and horizontal diffusion cells, and also to evaluate the concentration of dimethoate residue in vivo in saliva, nasal mucosa and lacrimal fluid of rural workers, before and after application of dimethoate, in crops of lemon. The methodology used to remove the EC was tape-stripping, the dosage of pesticides was done with the aid of cotton patches adhered to the garments, and the dosage of all samples was done using the bioanalytical method through Liquid Chromatography Efficiency (Shimadzu Corp. Kyoto, Japan) coupled to mass spectrometry. As a result, dimethoate was quantified in workers' clothing and in the stratum corneum (EC), nasal mucus, tears, and saliva. The average of dimethoate obtained for (ED) was 342.19 ± 487.14 mg/day, the percentage of toxic dose per hour was higher than the other pesticides, and the penetration factors in the EC ranged from 0.5-14 .81 and 0.05-53.96% for the back of the neck and arms, respectively. In the IVPT studies, the absorption of dimethoate through human skin was 14.75%, and the default value, in the absence of experimental data, for this product is 70%. The results show that in family farming, dermal exposure is mainly related to the lack of correct clothing during applying pesticides, which makes workers more susceptible to intoxication and even future health problems.

Key words:

Pesticides, cutaneous absorption, family farmer, human skin, IVPT, *tape-stripping*.

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Lustosa, Ana Rosa Brissant de Andrade.

Aplicação de técnicas in vitro e in vivo para quantificação de resíduos de dimetoato como estratégia para avaliação da exposição de trabalhadores envolvidos na agricultura familiar / Ana Rosa Brissant de Andrade Lustosa. - Recife, 2025.

84 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2024.

Orientação: Leila Bastos Leal.

Coorientação: Cheila Nataly Galindo Bedor.

Inclui referências, anexos e apêndices.

1. Agrotóxicos; 2. Absorção cutânea; 3. Agricultor familiar; 4. Pele humana; 5. IVPT. I. Leal, Leila Bastos. II. Bedor, Cheila Nataly Galindo. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Fórmula molecular do Dimetoato19
Figura 2-	Visão de corte da pele e da tela Subcutânea21
Figura 3-	Secção transversal da pele humana, com espessura do estrato córneo, epiderme, derme e tela subcutânea.21
Figura 4-	Comparação de características histológicas da pele humana e suína.24
Figura 5-	Células de difusão de Franz automatizadas.27
Figura 6-	Conjunto de Células de difusão de Horizontal Side-Bi-Side™ (PermeGear®)27
Figura 7-	Células de difusão de horizontal Side- Bi-Side™ (PermeGear®)28
Figura 8-	Locais em que as amostras foram coletadas com secções de algodão e com as fitas adesivas para avaliar a distribuição do pesticida dimetoato.37
Figura 9-	Cromatograma da molécula do Dimetoato43
Figura 10-	Distribuição do dimetoato em cada parte do sistema de difusão como resultado de 6h de exposição de Dimexion®, 24h de tempo total do experimento, em pele de rato, porco e humana (n= 6).41

Figura 11- Perfil cumulativo de dimetoato permeado41
(ng/cm ²) no experimento de 24h com aplicação de Dimexion®, diretamente em pele de rato, porco e humana (n= 6).	
Figura 12- Perfil cumulativo de dimetoato permeado43
(ng/cm ²) no experimento de 4h com aplicação de Dimexion® (50 mL/cm ² , diluição como em uso real, 32 ± 1°C), diretamente em diferentes mucosas de pele de porco (n= 6).	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Critérios para avaliação e classificação toxicológica de acordo com a RDC nº 294 da ANVISA, 201917
Tabela 2-	Vestuário dos participantes da pesquisa44
Tabela 3-	Quantidade de dimetoato (ng/cm ²) analisada nos patches de algodão avaliada em diferentes regiões do corpo em sete trabalhadores, um residente e um pesquisador, após 4 horas de rotina de trabalho.45
Tabela 4-	Quantidade de dimetoato (ng/cm ²) no estrato córneo (SC) avaliada em diferentes regiões do corpo em todos os participantes após 4 horas de trabalho.46
Tabela 5-	Exposição e porcentagem de dose tóxica por hora dos trabalhadores ao dimetoato durante a pulverização de limão.46
Tabela 6-	Fator de penetração do dimetoato (PF%) no estrato córneo (EC) analisado para todos os participantes.46
Tabela 7-	Quantidade de Dimetoato (ng/mL) presente na saliva.47
Tabela 8-	Quantidade de Dimetoato (ng/mL) presente nas coletas de lágrima e muco nasal (ng/ mL)49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NR	Norma Regulamentadora
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MMA	Ministério do Meio Ambiente
LC-MS/MS	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas.
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
PRONAF	Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar
EPI	Equipamentos de proteção individuais
EPC	Equipamentos de proteção coletivos
EC	Etrato Córneo
FP	Fator de Penetração
OMS	Organização Mundial da Saúde
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
NOTIVISA	Sistema de Notificações para a Vigilância Sanitária
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
CEUA	Comissões de ética para uso de animais
RENAMA	Rede Nacional de Métodos Alternativos
OECD	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
LIQ	Limite Inferior de Quantificação
NE	Não avaliado neste estudo.
IVPT	Testes de Permeação <i>in vitro</i>

EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
CP	Consulta Pública
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação

LISTA DE SÍMBOLOS

mg/mL	miligrama por mililitro
ng/mL	Nanograma por mililitro
mg/kg	miligrama por quilograma
nm	Nanômetro
mm ²	milímetro quadrado
m ³	metro cúbico
®	marca registrada
mL/min	mililitro por minuto
mM	Milimolar
Kg	Quilograma
Kg/L	quilograma por litro
m	Metro
L	Litro
Litro/Há	litro por hectare
µg/mL	micrograma por mililitro
±	mais ou menos
cm ²	centímetro quadrado
ng/cm ²	nanograma por centímetro quadrado
%	Porcentagem
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µm	Micrómetro
cm	Centímetro
g	Gramas
J	Fluxo
K _p	coeficiente de permeabilidade
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
°C	graus celsius
pH	potencial hidrogeniônico
r ²	coeficiente de determinação

RPM	rotação por minuto
CV%	coeficiente de variação
DL50	dose letal média a 50%
CL50	concentração letal a 50%
Log P	coeficiente de partição
pKa	constante de dissociação

SUMÁRIO	
INTRODUÇÃO	9
1 OBJETIVOS	11
1.1 Objetivo Geral	11
1.2 Objetivos específicos	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Agricultura familiar em Pernambuco	12
.1 Produção agrícola e impactos na saúde do trabalhador	14
3.2 Legislação de manejo de agrotóxicos no Brasil	15
3.3 Dimetoato	18
3.4 Estudos <i>in vitro</i> utilizando peles e mucosas	20
3.4.1 Pele humana, pele de dorso de rato e pele de orelha de porco	20
3.4.2 Mucosas de porco (jugal, sublingual, esofágica e nasal)	24
3.4.3 Estudos de absorção cutânea <i>in vitro</i> utilizando células de difusão	26
3.5 Avaliação da exposição de agrotóxicos em humanos	28
3 MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 Insumos	31
3.2 Quantificação das amostras	31
3.2.1 Solução padrão	31
3.2.2 Método analítico	31
3.2.3 Condições cromatográficas	32
3.2.4 Preparo da solução de trabalho de dimetoato	32
3.3 ESTUDOS DE PERMEACÃO CUTÂNEA UTILIZANDO VISION® MICROETTE™	32
3.4 ESTUDOS DE PERMEACÃO <i>IN VITRO</i> UTILIZANDO MUCOSAS DE PORCO EM CÉLULAS DE DIFUSÃO HORIZONTAL <i>SIDE BY SIDE</i> (PERMEGEAR ®)	34
3.5 ESTUDOS <i>IN VIVO</i>	35
3.6 PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS DOS ESTUDOS <i>IN VITRO</i>, <i>EX VIVO</i> E <i>IN VIVO</i>	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 Método analítico	39
4.1.1 Condições cromatográficas	39
4.2 Estudo de permeação <i>in vitro</i>	40
4.2.1 Estudo de permeação <i>in vitro</i> com pele de rato, porco e humana	40
4.2.2 Estudos de permeação <i>in vitro</i> com mucosas	43
4.3 Estudo <i>in vivo</i>	44
5 CONCLUSÃO	51

REFERÊNCIAS	52
APÊNDICE A- PRODUÇÃO CIENTÍFICA	61
APÊNDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO	66
APÊNDICE C- TERMO DE CONSENTIMENTO	68
ANEXO I – SUBMISSÃO AO COMITÊ DE ÉTICA E APROVAÇÃO DO ESTUDO	70
ANEXO II – SUBMISSÃO AO COMITÊ DE ÉTICA E APROVAÇÃO DO ESTUDO	

1 INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos são amplamente utilizados na agricultura para proteger as plantas de pragas prejudiciais e indesejadas, como por exemplo ervas daninhas e fungos, e para promover um alto rendimento das culturas e seus derivados (Sahin, 2021). Impulsionado, desde o início da “Revolução-verde”, após o fim da Segunda Guerra Mundial, financiado por duas grandes fundações privadas americanas, a Rockefeller e a Ford, tal movimento, além do slogan bonito, visava aumentar a produtividade agrícola e acabar com a fome no mundo (Fontenele et al, 2021). Esta revolução se caracterizou pela utilização de novos meios de produção derivados da revolução industrial, como a motorização, a mecanização e a introdução de produtos químicos (adubos, fertilizantes, agrotóxicos). Daí o surgimento de muitas mudanças na agricultura tradicional, principalmente no que diz respeito a implementação de novas tecnologias e no uso de agrotóxicos para controle de pragas e doenças, mas apesar do grande avanço tecnológico, essas novas facilidades não foram acompanhadas pela implementação de programas de qualificação da força de trabalho, nem de leis que protegessem adequadamente o trabalhador rural, expondo-o a inúmeros riscos. (Santana, 2004; Abramovay, 2012).

O contato dos trabalhadores rurais com os agrotóxicos ocorre primariamente através da pele, da via inalatória e da mucosa ocular. Tais exposições podem levar a ardência, sensação de formigamento ou queimadura, irritação dérmica e parestesia (Cardoso, 2020). Além desses, outros efeitos prejudiciais à saúde, como alterações nos sistemas cardiovascular, respiratório, alterações hematológicas e reações alérgicas também são descritos (Scharmach, 2020). Estima-se, portanto, que a exposição a agrotóxicos, principalmente do tipo organofosforado, cause mais de 100.000 mortes e 2 milhões de internações hospitalares todos os anos, em quase todos os países de baixa e média renda (Eddleston, 2020).

Nos países em desenvolvimento, como o Brasil, grande parte da agricultura é de base familiar. Essa modalidade é responsável pela renda de 40% da população economicamente ativa e por mais de 70% dos brasileiros ocupados no campo (Brasil, 2019). Esse tipo de agricultura é passado de geração em geração, e visto pelos trabalhadores como seguro e inofensivo. No entanto, muitas vezes, além do descumprimento das normas de saúde e segurança (uso indiscriminado de agrotóxicos, sem medidas de proteção adequadas), o amplo contato dos trabalhadores rurais com diferentes classes de agrotóxicos os expõe a um risco maior (Esechie, 2011; Damalas, 2016). Isso pode ser evidenciado por meio do registro de 54.332 notificações de casos de intoxicação por agrotóxicos no Brasil entre 2019 e 2023, por meio do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) (Brasil, 2024). No entanto, de acordo com o Ministério da Saúde brasileiro, para cada caso notificado, estima-se que existam 50 não

notificados, elevando esses valores/números para cerca de 480.000 casos (Peres,2003).

O Brasil ocupou o primeiro lugar no ranking mundial do mercado de agrotóxico na última década, uma expansão de 190%, ou seja, um crescimento maior que o dobro do mercado mundial, de 93%. (Rigotto, Vasconcelos, Rocha, 2014). No sertão pernambucano, mais precisamente na região do Vale do São Francisco e Sertão de Itaparica, há uma área de exploração da hortifruticultura muito produtiva, com destaque para a plantação de manga, melão, uva, limão, cebola, entre outros. Boa parte da agricultura se desenvolve em terras familiares, sendo o proprietário, o próprio administrador em conjunto com a família (Scharmach, 2020).

É sabido que a região do submédio do Vale do São Francisco faz uso intenso de agrotóxicos, muitas vezes em condições inseguras de trabalho, o que coloca em risco a população, principalmente rural. (Bedor *et al*, 2007; Corcino, 2019). Dentre os diferentes tipos de agrotóxicos utilizados na região, podemos citar o Dimetoato, um dos inseticidas e acaricidas mais importantes da classe dos organofosforados, inicialmente, bastante usado em todo o mundo desde sua introdução no mercado em 1956, entretanto após estudos, seu uso foi banido na União Europeia em 2021 (Dionisio *et al*, 2021; Pessoa *et al*, 2022). Seu espectro de ação abrange uma ampla variedade de insetos como pulgões, gafanhotos e moscas. Ele é bem absorvido pela pele, trato respiratório e trato gastrointestinal, condição muitas vezes favorecida pelos solventes utilizados nas formulações, bem como pelas temperaturas elevadas ou pela presença de lesões, no caso da absorção cutânea (Seizi, Camargo, Batistuzzo, 2014). Diante disto, a realização de estudos controlados que avaliem as condições de trabalho dessas populações, de tal forma que possam minimizar os riscos e efeitos da exposição indiscriminada a agrotóxicos, tanto em países desenvolvidos, mas principalmente em países em desenvolvimento, tem sido conduzidos e são ainda necessários (Muttray *et al*, 2006; An, 2014; Cao *et al*, 2015; Damalas, 2016).

Este estudo ora proposto, teve como objetivo estender pesquisas anteriores (avaliação de exposição do dimetoato em três trabalhadores rurais da agricultura familiar na região do submédio do Vale do São Francisco, Brasil, e avaliação da absorção dérmica *in vitro* realizado por De Araujo Cardoso *et al* (2020), usando o mesmo agrotóxico, mas expandindo o escopo do estudo para incluir um número maior de trabalhadores da agricultura familiar, além de avaliar a exposição dérmica associada à avaliação do dimetoato na saliva e fluido nasal. No estudo de permeação *in vitro* (IVPT), a permeação de dimetoato através de peles de rato, porco e humana, foi mensurada. Além disso, a permeação através da mucosa bucal, sublingual e esofágica de suínos também foi avaliada.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a passagem transmucosa e cutânea do dimetoato, através de estudos de permeação *in vitro* e exposição *in vivo*.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a permeação *in vitro* de dimetoato através de mucosas esofágica, sublingual e jugal de porco, utilizando células de difusão horizontal;
- Avaliar a permeação *in vitro* de dimetoato, através das peles humana, de porco e rato, utilizando células de difusão vertical;
- Avaliar a concentração de resíduo de dimetoato *in vivo*, em saliva, mucosa nasal e fluido lacrimal de trabalhadores rurais, antes e após aplicação do produto na lavoura de limão;
- Realizar a avaliação do resíduo de dimetoato *in vivo* na roupa e no estrato córneo de trabalhadores rurais, após aplicação do produto em lavoura de limão (Avaliação de exposição dérmica);
- Realizar a avaliação de resíduo de dimetoato *in vivo* em saliva e muco nasal dos trabalhadores rurais;
- Realizar correlações *in vitro* e *in vivo*;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Agricultura familiar em Pernambuco

A agricultura familiar tem uma grande importância no que diz respeito ao número de estabelecimentos agropecuários em todas as regiões do Brasil, bem como a alta participação na produção e na ocupação da mão de obra (Sampaio & Vital, 2020). De acordo com a Lei 11.326, de 24 de julho de 2006, que define as diretrizes para formulação da Política Nacional da Agricultura Familiar e os critérios para identificação desse público e segundo a legislação, é considerado agricultor familiar e empreendedor familiar rural, aquele que não detenha, a qualquer título, área maior do que 4 (quatro) módulos fiscais, utilize predominantemente mão-de-obra da própria família nas atividades econômicas do seu estabelecimento ou empreendimento, tenha renda familiar predominantemente originada de atividades econômicas vinculadas ao próprio estabelecimento ou empreendimento e dirija seu estabelecimento ou empreendimento com sua família.

Apesar de algumas fragilidades estruturais, a agricultura familiar é considerada de extrema importância e se expressa em grandes números de estabelecimentos agropecuários em todo Brasil e, nos últimos 25 anos, muitas linhas de créditos foram lançadas, com intenção de elevar a produtividade (Sampaio & Vital, 2020). Entretanto, tais ampliações pressionam a agricultura familiar pela necessidade de atender a alta demanda do mercado interno, e apesar de ainda apresentar fortes práticas de cultivo tradicionais e sustentáveis, são fomentados incentivos através do Programa Nacional de Agricultura Familiar (PRONAF) à utilização de agrotóxicos a partir de pacotes tecnológicos (Araújo & Oliveira, 2016; Paiva Filho, Cardoso & Rego, 2020).

A agricultura familiar é uma prática em que os membros familiares têm posse da propriedade, ou faz algum tipo de usufruto, possuindo autossustentabilidade, podendo promover uma safra permanente ou temporária para o mercado, sendo o grupo de trabalho, predominantemente familiar, mas podendo existir uso de mão de obra adicional. Além disso, possui autonomia na gestão das atividades agrícolas, como poder escolher o que plantar e quanto plantar de acordo com as necessidades internas e do mercado (Altafin, 2016).

Diante dos cultivos no Brasil, segundo dados do Censo Agropecuário de 2017, dentre as 5 milhões de propriedades rurais no Brasil, 77% são consideradas como de agricultura familiar, totalizando uma área de 80,9 milhões de hectares, ou 23% da área total das propriedades rurais do país, produzindo cerca de 80% do valor da produção de café, banana e mandioca, 69% do abacaxi e 42% da produção do feijão (IBGE, 2017).

Em meados da década de 60, o Nordeste (NE), apresentava um percentual de estabelecimentos da agricultura familiar ligeiramente superior ao do Brasil, essa representação traz a teoria do desenvolvimento econômico, onde quanto mais desenvolvida uma região ou país, menor a participação da agricultura (Kuznetz, 1966). Em alguns estados do Nordeste a população rural total tem diminuído, embora em menor proporção se comparado a outras áreas do país, o que enseja também queda no número de estabelecimentos familiares.

No entanto, apesar das diminuições, é válido salientar que no Nordeste houve uma tendência de expansão da produção de todos os grãos, com a exceção do trigo, sendo as maiores perspectivas: amendoim (12,3%), feijão (11,8%), milho (9,0%), arroz (4,4%) e soja (4,2%). Além disso, as produções de cacau (4,8%), café arábica (2,5%), fumo (1,6%), cana-de-açúcar (0,3%) e batata-inglesa (0,1%) também estarão em ascensão. Na produção do NE ainda é importante destacar a produção de algumas culturas, destacando-se mamona (100,0%), castanha de caju (99,3%), cacau (46,3%), banana (33,4%), uva (27,6%), algodão (24,1%), feijão (22,3%), mandioca (18,7%) e soja (8,9%). O clima desta região favorece o plantio de grãos em seis dos nove estados, sendo Paraíba, Piauí, Maranhão, Alagoas, Bahia e Pernambuco (Diário Econômico Etene, 2020).

Em Pernambuco, o percentual de estabelecimentos familiares, em 2017, foi maior que em todo nordeste e essa região permanece com percentual maior que o do Brasil, tendo um papel de destaque, já que o comportamento também ocorre em relação à área ocupada pela agricultura familiar e ao valor da produção nesses estabelecimentos, sendo então Pernambuco, um estado de contribuição mais expressiva se comparado à região nordestina e ao País. (Sampaio & Vital, 2020).

O Nordeste tem a maior parte de seu território com região semiárida, correspondendo a 88,6% da sua área total, sendo a Caatinga o bioma predominante (Teixeira, 2016). Ainda Pernambuco, dentre suas culturas agrícolas, destacam-se a cana-de-açúcar, a uva, a manga, a banana, a acerola, o coco e a goiaba, que juntas correspondem a quase 80% de toda produção agrícola do estado, sendo Petrolina, Santa Maria da Boa Vista e Lagoa Grande, cidades de destaque para a produção de uva e manga, e as cidades da zona da mata pernambucana, para produção da cana-de-açúcar (Levien et al, 2021; IBGE, 2021).

3.2 Produção agrícola e impactos na saúde do trabalhador

O processo de produção agrícola segue em constante evolução desde os anos 30, tanto em mudanças tecnológicas quanto organizacionais, tendo como principal objetivo, o aumento da produtividade. Todavia, foi a partir da Segunda Guerra Mundial que seu uso foi intensificado, outra importante mudança é a introdução da biotecnologia, destacando-se os organismos geneticamente modificados, os transgênicos (Abramovay, 1992; Silva et al., 2005).

Entre os anos de 1950 e 1960, a Revolução Verde introduziu novas técnicas agrícolas e variedades de plantas cultivadas de alto rendimento, como arroz e trigo, especialmente em países de média e baixa renda, com intuito de diminuir a fome (Pingali, 2012). Entretanto, o aumento da produção veio atrelado ao uso de agrotóxico, o que acarretaria prejuízos à saúde humana e ao meio ambiente. O uso de agrotóxicos como os organofosforados e organoclorados por famílias rurais, totalmente despreparadas para usá-los ou armazená-los com segurança, tiveram repercussões imediatas, com mortes por envenenamento ocupacional não intencional e envenenamento intencional (suicida) (Karunaratne et al., 2020).

A ação do Brasil na modernização da agricultura, baseada na Revolução Verde, foi intensa e direta, pois além das políticas agrícolas implementadas através de concessão de crédito rural ao agricultor para adquirir insumos e equipamentos agrícolas, controle de pragas e doenças e garantia da produção, foram também implementados programas de pesquisa agropecuária e extensão rural (Silva et al., 2005).

Os fatores de riscos e dos impactos à saúde do trabalhador estão relacionados a organização, condição e divisão do trabalho, bem como a execução e as condições físicas e mentais, sendo assim, podemos relacionar os principais riscos e danos que acometem os agricultores. São eles acidentes físicos, acidentes com animais peçonhentos, exposição a agentes infecciosos e parasitários endêmicos, exposição às radiações solares por longos períodos, exposição a ruído e à vibração, exposição a partículas que podem gerar doenças respiratórias. (Silva et al., 2005). Além de todos os fatores citados, as pessoas que desempenham atividades relacionadas à plantação, criação de animais e pesca, ou está de alguma forma associada ao trabalho rural e ao maior tempo de moradia na zona rural, apresentaram maior probabilidade de contato e conseqüentemente exposição a esses produtos se comparados àqueles que não exercem tais atividades rurais (Bortolotto, 2020).

Também é válido salientar que, durante o uso dos agrotóxicos, os mesmos se dispersam pelo ar, pela água e pelo solo de maneira intensa, contaminando não somente os trabalhadores, mas também os indivíduos que de alguma forma se expõem ao produto (Silva, 2015).

Portanto, em locais onde a agricultura familiar é a principal atividade, as pessoas que passam a maior parte do tempo no ambiente rural, de certo modo, aumentam a exposição a esses agrotóxicos (Melo, 2016).

De acordo com Araújo (2020), existem evidências sobre uso abusivo e de intoxicações por agrotóxicos em diferentes regiões rurais do estado de Pernambuco. Estudos publicados por Bedor e colaboradores (2007) mostram que a variedade de agrotóxicos utilizada na região submédica do Vale do São Francisco é preocupante, pois muitos desses insumos (mais de 40%) são extremamente tóxicos para o homem. No entanto, apesar da preocupação sobre os riscos de exposição aos agrotóxicos, de acordo com a classificação de toxicidade desses produtos, segundo sua periculosidade, deveria servir como parâmetro para a definição de medidas de controle e de gerenciamento de riscos, porém, no Brasil, essa classificação é meramente figurativa, uma vez que não há diferença em um produto ser da Classe I (extremamente tóxico) ou da Classe IV (pouco tóxico), já que eles podem ser recomendados, comercializados e utilizados da mesma forma e por qualquer usuário (Cardoso, 2020).

Assim, mesmo com todo empenho, o trabalhador continua sendo exposto a diversos riscos no ambiente de produção agrícola, pois a maioria das atividades acontece a céu aberto, o que impossibilita o controle direto, além de que, muitos desconhecem ou não usam os equipamentos de proteção individual, que muitas vezes podem gerar prejuízo à saúde do trabalhador (Magalhães, 2010). Além disso, diversos problemas podem estar relacionados a inadequação dos EPIs a certas condições de trabalho, principalmente porque algumas das características desejáveis aos EPIs, que foram projetadas para conferir maior segurança, podem estar dificultando processos operacionais em muitas situações de trabalho, como por exemplo, uma maior resistência de um tecido à permeabilidade, e também maior resistência ao calor, podem estar associadas a menor conforto térmico e menos mobilidade. Outro aspecto importante é a dificuldade da adequação dos EPIs às características antropométricas dos trabalhadores e às características ambientais de cada localidade (Veiga, 2007).

3.3 Legislação de manejo de agrotóxicos no Brasil

A primeira proposta normativa para a regulamentação sobre uso de agrotóxico no Brasil foi o Decreto nº 24.114, de 12 de abril de 1934, ele incentivava a regulamentação e a permissão do uso de agrotóxicos, entretanto, desconsiderava a capacitação, orientação, toxicidade e controle do uso desses produtos (Brasil, 1934). Assim, após três décadas, a Lei 4.785, de 6 de outubro de 1965 é instaurada, sendo então, considerada como o primeiro marco regulatório de agrotóxicos no Brasil, por trazer "fiscalização do comércio e uso de produtos fitossanitários e dá outras providências" como eixo principal (Brasil, 1965).

Já ao final da década de 80, em 1988 é publicada a Constituição Federal, onde o termo agrotóxico passou a ser utilizado em detrimento de defensivos agrícolas, e em sequência surge uma legislação mais rigorosa para tais produtos, colocando-se em vigor, após aprovação do Congresso Nacional, a Lei 7.802 de 11 de julho de, 1989, conhecida como a Lei dos Agrotóxicos, um avanço no controle sobre o uso dessas substâncias no país e que ao longo dos anos sofreu pequenas alterações, sendo então regulamentada pelo Decreto nº 4.074, em 2002. (Siqueira & Kruse 2008).

É válido ressaltar que a partir da existência da Lei dos Agrotóxicos, a regulação dos agrotóxicos passou a ser realizada em três esferas federais, assim, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) ficou responsável pela avaliação da eficiência e da necessidade agrônômica do produto a ser registrado, já o Ministério da Saúde junto à Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) pelas análises relacionadas a toxicidade e seus impactos à saúde humana, enquanto o Ministério do Meio Ambiente (MMA), através do Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente), pela avaliação dos estudos de impactos ao meio ambiente. (Franco & Pelaez, 2016).

Ainda sobre as legislações de manejo de agrotóxicos no Brasil, uma resolução de extrema importância é a RDC nº 294 de 31 de julho de 2019, que “Dispõe sobre os critérios para avaliação e classificação toxicológica, priorização da análise e comparação da ação toxicológica de agrotóxicos, componentes, afins e preservativos de madeira, e dá outras providências”, entre as atribuições da RDC, está a definição das 6 categorias para agrotóxicos, e a sugestão para a identificação destes produtos através dos respectivos nomes das categorias e faixas coloridas do rótulo dos produtos, além de trazer a classificação toxicológica em função da toxicidade aguda oral (DL50 oral), cutânea (DL50 cutânea) e inalatória (CL50 inalatória) (BRASIL, 2019), conforme descrito na tabela 1.

Tabela 1 - Critérios para avaliação e classificação toxicológica de acordo com a RDC nº 294 da ANVISA, 2019

Categoria	Categoria 1	Categoria 2	Categoria 3	Categoria 4	Categoria 5	Não classificado
Nome da categoria	Extremamente tóxico	Altamente tóxico	Medianamente tóxico	Pouco tóxico	Improvável de Causar Dano Agudo	Não classificado
Classificação	I	II	III	IV	V	VI
Coloração	Faixa Vermelha	Faixa Vermelha	Faixa Amarela	Faixa Azul	Faixa Azul	Faixa Verde
Via de exposição Oral (mg/kg p.c.)	<=5	> 5 - 50	> 50 - 300	> 300- 2000	> 2000 - 5000 >	> 5000
Via de exposição Cutânea (mg/kg p.c.)	<= 50	> 50 - 200	> 200 - 1000	> 1000- 2000	> 2000 - 5000	> 5000
Via de exposição Inalatória	Gases (ppm/V)	<= 100	> 100 - 500	> 500 - 2500	> 2500- 20000	> 20000- 50000
	Vapores (mg/L)	<= 0,5	> 0,5 - <= 2,0	> 2,0 - <= 10	> 10 <= 20	> 20-50
	Produtos sólidos e líquidos (mg/L)	<= 0,05	> 0,05 - 0,5	> 0,5 - 1,0	> 1,0- 5,0	> 5,0-12,5

Fonte: RDC nº 294, BRASIL, 2019.
mg/kg p.c. (miligramas por quilo de peso corporal)

A RDC nº 294 de 2019 também descreve que uma das formas de avaliação toxicológica é através do monitoramento da absorção cutânea, para isto, “*Devem ser apresentados estudos para estimar a absorção cutânea, in vitro ou in vivo ou ambos, específicos para a formulação concentrada e na maior diluição (menor dose indicada). No caso de ausência desses estudos, poderão ser apresentados estudos conduzidos com outras formulações, concentrações e diluições, ou valor padrão de absorção cutânea, mediante argumento que justifique a estimativa da absorção cutânea*”, assim entrando no contexto de avaliação de risco.

No entanto, é válido salientar que no Brasil, não existe ainda uma legislação implementada que aborde especificamente sobre a avaliação de risco para a exposição aos agrotóxicos que não seja através da via oral, mas existe uma Consulta pública nº 987 de 2020 que “*Dispõe sobre diretrizes para a Avaliação do Risco da Exposição de Operadores, Trabalhadores, residentes e Transeuntes aos Agrotóxicos*”, que prever outras vias e que segue em análise pela ANVISA.

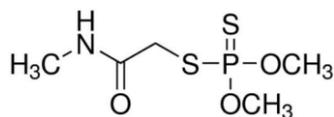
Além da CP nº 987 de 2020, está disponível um Guia técnico para avaliação de risco ocupacional (ANVISA, 2020) que também trata sobre a avaliação da exposição de operadores, trabalhadores, residentes e transeuntes para a avaliação do risco aos agrotóxicos, o guia traz recomendações de valores específicos de absorção dérmica para o produto formulado, que devem ser utilizados os valores-padrão, conforme recomendação do Guia sobre Absorção Dérmica da Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (*European Food Safety Authority - EFSA*, 2017), além disso, podem ser obtidos por meio da condução de estudos *in vitro* com pele humana, *in vitro* com pele de ratos ou *in vivo* com ratos, conforme as Diretrizes 427 e 428 da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE).

3.4 Dimetoato

O agrotóxico em estudo, o dimetoato, é definido quimicamente como *O, O-dimethyl S-methylcarbamoylmethyl phosphorodithioate*, cuja molécula está representada abaixo, na figura 1, com peso molecular de 229,3g/mol. A molécula pertence ao grupo químico dos organofosforados, apresenta-se na forma de sólido cristalino incolor com um odor semelhante à cânfora e normalmente é comercializado como concentrado emulsionável. Possui faixa de fusão entre 45 e 52,5°C, solubilidade em água de 2,08 mg/mL, log P 0,78 e pKa 15,93, além de ser estável em água, em solução ácida e instável em solução alcalina (Pubchem, 2024).

O dimetoato foi introduzido em meados da década de 50, é produzido e usado em muitos países, contra uma gama de insetos presentes nas agriculturas e para o controle da mosca doméstica (*World Health Organization*, 1989), sendo classificado como inseticida e acaricida. Está inserido na Classe II, em relação a sua classificação toxicológica, portanto é altamente tóxico segundo RDC nº 294 de 2019, sendo seu uso agrícola autorizado em aplicação foliar e em solos usados para culturas de algodão, citros, maçã, rosa, tomate e trigo. (Brasil, 2019; Anvisa, 2020).

Figura 1. Fórmula molecular do Dimetoato



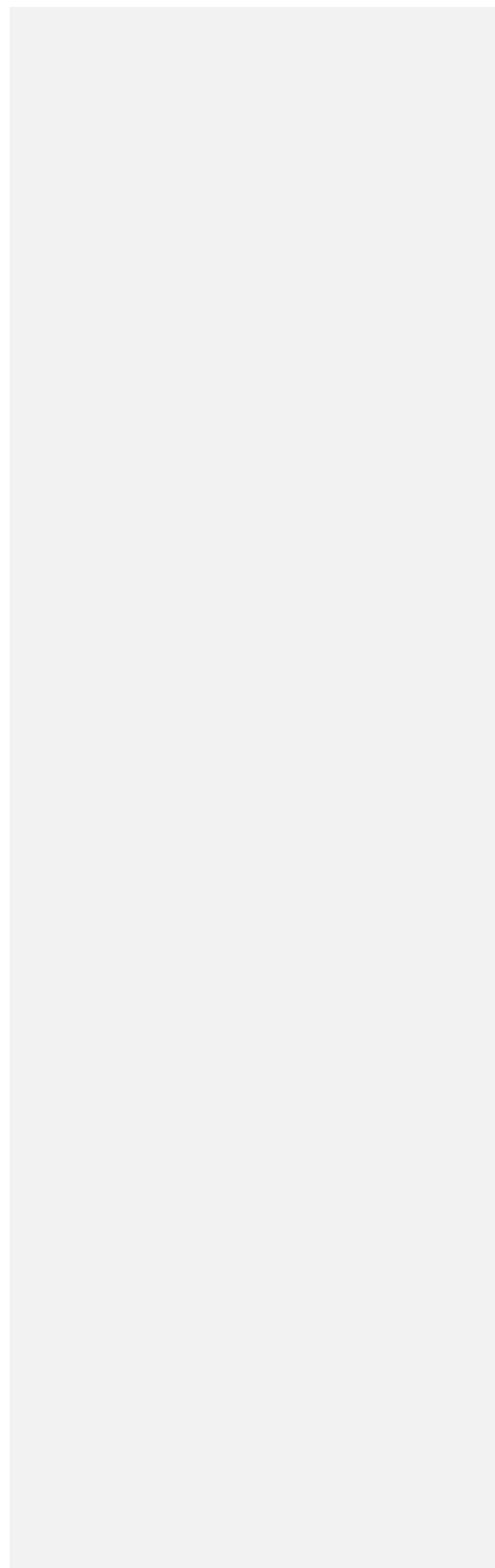
Fonte: Anvisa,2020.

Segundo estudos, o dimetoato tem boa absorção através da pele, trato respiratório e trato gastrointestinal, tal condição é muitas vezes favorecida pelos solventes utilizados nas formulações, como também pelas temperaturas elevadas ou presença de lesões cutâneas (Seizi, Camargo, Batistuzzo, 2014). Através da via oral, a absorção é rápida e extensiva sendo rapidamente eliminado pela via renal, já que estudos demonstram seu aparecimento na urina no período de 24 horas. Além disso, quatro metabólitos com atividade anticolinesterase foram identificados em ratos e humanos, que parecem resultar da oxidação tiona, levando à formação do análogo de oxigênio do dimetoato, o ometoato (maior toxicidade em relação ao dimetoato). Esta etapa é seguida de hidrólise para formação do tiocarboxil, considerado o principal metabólito em ratos e humanos (Who, 1997).

Devido a sua classe toxicológica, o dimetoato foi várias vezes relatado em casos acidentais de exposição, por negligência das precauções de segurança e casos de envenenamento propositais. A dose oral letal para seres humanos foi estimada em 50-500 mg/kg de peso corporal. No entanto, em voluntários humanos, uma dose oral de 0,2 mg/kg de peso corporal por dia, durante 39 dias, não produziu nenhum efeito no sangue total relacionado as dosagens de total colinesterase, também não foram observadas irritações na pele ou inibição de colinesterase após uma exposição dérmica de 2 horas a 2,5 ml de um líquido a 32% formulação de dimetoato. Entretanto, ainda houve relatos de sensibilização da pele ao dimetoato (Who, 1989).

Um estudo realizado por Carman e colaboradores (1982) investigou a exposição a dimetoato e outros agrotóxicos de condutores de tratores de cabines abertas e fechadas, usando jatos de ar durante o tratamento de árvores cítricas, no qual a exposição dérmica foi medida colocando uma gaze embebida com etilenoglicol nos ombros, e nos joelhos dos motoristas. Uma concentração emulsionável (EC) formulação de dimetoato contendo 0,009 kg/litro foi aplicado à razão de 16.822 litros/ha, e confirmaram que o lado esquerdo do trabalhador foi mais exposto se comparado ao direito, uma vez que as gazes tiveram uma maior concentração dos agrotóxicos. Portanto, os patches, fragmentos de algodão aderidos ao alumínio, são colocados nas roupas dos motoristas, para mimetizar a absorção média de agrotóxicos, e assim verificar o

grau de exposição aos agrotóxicos.



Como mecanismo de ação, em caso de intoxicação, o dimetoato causa a inibição da acetilcolinesterase, resultando no acúmulo de acetilcolina nas sinapses colinérgicas no sistema nervoso central, periférico somático e autônomo, levando ao aumento da resposta nos receptores pós-sinápticos, nicotínicos ou muscarínicos. A ligação entre o dimetoato e a AChE rapidamente se transforma em covalente, gerando a inibição irreversível da enzima e assim, prolongando seus efeitos tóxicos (Olson *et al*, 2014). Estudos recentes também apontaram que a exposição aguda e crônica ao dimetoato pode causar estresse oxidativo por meio da geração de radicais livres e indução de peroxidação lipídica (Eken, 2021).

E como consequência, foi verificado que a toxicidade do dimetoato resulta em efeitos deletérios em muitos órgãos, tanto em humanos quanto em mamíferos, afetando fígado, rim, pâncreas, cérebro, sistema nervoso, sistema imunológico e sistema reprodutivo (Eken, 2017).

3.5 Estudos *in vitro* utilizando peles e mucosas

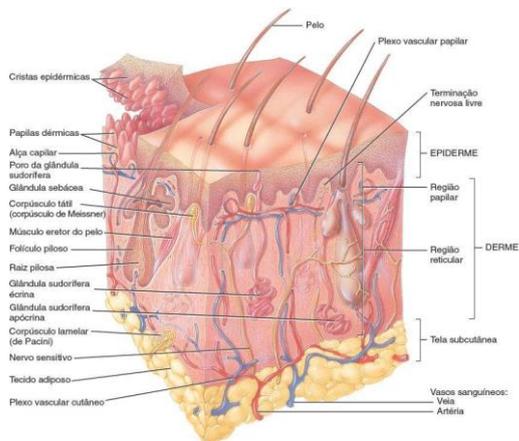
3.5.1 Pele humana, pele de dorso de rato e pele de orelha de porco

Pele Humana

A pele representada na figura 2, é responsável por cobrir a superfície externa do corpo e é considerada o maior órgão do corpo em peso, cobrindo uma área de cerca de 2 m² e pesando entre 4,5 a 5 kg, correspondente a de 7% do peso corporal total, de um indivíduo adulto. A sua espessura varia de 0,5 mm até 4,0 mm, dependendo do local, tendo na maior parte do corpo uma espessura entre 1 e 2 mm (Tortora & Derrickson, 2016).

Tem um papel importante, sendo barreira física, imunológica e sensorial ao nosso meio ambiente, de entrega de medicamentos, também um órgão heterogêneo, com várias vias e locais de entrega que podem ser direcionados para respostas farmacológicas e imunológicas desejáveis ou indesejáveis (Abd *et al.*, 2016).

Figura 2. Visão de corte da pele e da tela subcutânea



Fonte: Tortora, 2004

A pele humana excisada é preferível para experimentos de permeação *in vitro* (considerada o padrão ouro) porém, a forma de aquisição e os entraves éticos podem gerar dificuldades para o uso de pele humana neste tipo de avaliação (Barbero & Frasch 2009).

Pele de Rato

Os ratos são animais facilmente disponíveis, de pequeno porte e relativamente fáceis de manusear, por isto, eles são comumente usados em estudos de permeação, bem como estudos de toxicidade regulatória, entretanto, a pele de roedores, geralmente, mostra taxas de permeação mais altas em comparação com a pele humana (Godin & Touitou, 2007). A camada mais externa da pele dos roedores, a epiderme, possui certa semelhança estrutural à pele dos humanos, sendo assim a pele de porquinho-da-índia, rato e camundongo, usadas com frequência, como alternativas à pele humana, em estudos de absorção percutânea para o desenvolvimento de formulações tópicas, além de avaliações da exposição dérmica a produtos químicos. Esses modelos são relativamente mais fáceis de obtenção, incluindo a menor variabilidade (Todo, 2017), apesar de estudos publicados demonstrarem que a pele de rato, é geralmente mais permeável que a pele humana. Este substrato biológico apresenta padrões cinéticos comparáveis com a pele humana (Hughes & Edwards 2010).

Um estudo publicado por Jung e Maibach (2014), revisou artigos originais publicados após 1993 que descreveram a permeabilidade da pele de rato e da pele humana, a revisão analisou 79 estudos, que mediram a absorção de 110 produtos químicos, mostrando que em 83 produtos químicos presentes em 54 estudos, a pele do rato é mais permeável do que a pele humana.

Outro estudo publicado por van Ravenzwaay e Leibold (2004) compararam a taxa de penetração *in vivo* de 14 agrotóxicos, com uma ampla gama de lipofilicidade e pesos moleculares, com a taxa de penetração *in vitro* em ratos, bem como uma taxa de penetração *in vitro* em humanos, mostrando que há uma tendência da pele do rato ser mais permeável para todas as substâncias testadas, no entanto, o fator de diferença não parece ser determinado pelo peso molecular ou solubilidade.

Uma questão demonstra que as variações interindividuais na permeabilidade da pele de ratos congelados são pequenas em relação a pele fresca, o que facilita o manuseio da pele e a torna uma boa alternativa para os estudos de permeação cutânea *in vitro*, além disso, a taxa de permeação desta pele pode ser correlacionada com a pele humana. Finalmente, a avaliação a exposição de piretróides na pele, por exemplo, demonstrou ser potencialmente alta, assim o exame da absorção dérmica desta classe de inseticidas é importante para que o risco de sua exposição possa ser devidamente avaliado (Takeuchi *et al*, 2011).

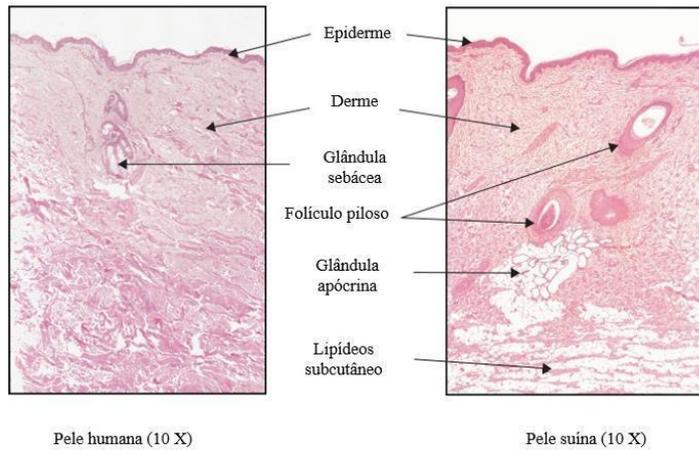
Pele de Porco

Os estudos de permeação da pele, são essenciais na seleção de medicamentos para a aplicação tópica ou transdérmica, além de estarem se tornando forma de avaliação da exposição ocupacional a agrotóxicos e a outras substâncias químicas. Desta maneira, a escolha do modelo preditivo de permeação *in vitro* é de suma importância, e entre os modelos animais utilizados para a realização dos estudos de permeação *in vitro*, a pele suína é uma das principais escolhas (OECD, 2004). Embora a pele animal e a humana não sejam idênticas, a pele suína é histologicamente semelhante à pele humana, como a compatibilidade entre a espessura, composição lipídica e até características morfológicas e fisiológicas, sendo, portanto, um bom modelo animal para substituição a pele humana, como é possível observar na figura 04, (Barbero, Frasch 2009). Considerando que, por razões éticas, existem grandes dificuldades de obtenção da pele humana, a pele de porco continua sendo preferida, pois pode ser prontamente obtido como resíduos de animais abatidos para alimentação, não sendo necessário a submissão a comitê de ética em pesquisa, para seu uso. (Sullivan *et al*, 2001).

Os testes de absorção cutânea *in vitro*, há tempos estão sendo aplicados como uma alternativa aos testes *in vivo*, na tentativa de prever o grau de exposição ocupacional a agrotóxicos, como por exemplo no estudo proposto por Moody e Nadeau, 1994, onde foram realizados testes de absorção cutânea *in vitro* com o pesticida Diazinon, dissolvido em acetona e aplicado na pele dermatomizada (0,5 mm) (Moody, Nadeau, 1994). Um outro estudo proposto por Clarke, 2018 avaliou a absorção cutânea *in vitro* em pele de porco de quatro agrotóxicos, o trinexapac-ethyl, clodinafop-propargil, difenoconazol e propiconazol, os ensaios foram realizados usando células de difusão de Franz, o método utilizado foi baseado nos guias existentes.

No entanto, vale salientar, que mesmo que seja uma pele bastante utilizada no Brasil para a avaliação de produtos cosméticos e medicamentos, ainda assim, não são consideradas adequadas para uso na avaliação de agrotóxicos (OECD, 2019). Para tal, diretrizes com um escopo mais amplo seriam úteis para uma avaliação de risco mais específica, para então estimar a permeação da pele e avaliar os riscos à saúde pública e ocupacional decorrentes da exposição a qualquer produto químico (Hopf, 2020).

Figura 4. Comparação de características histológicas da pele humana e suína.



Fonte: Adaptado de Sullivan *et al.*, 2001

3.5.2 Mucosas de porco (jugal, sublingual, esofágica)

O uso de mucosa bucal na avaliação da permeação de fármacos é uma alternativa vantajosa para a via oral, uma vez que a mucosa oral é classificada em três categorias: mucosa mastigatória, mucosa de revestimento e mucosa especializada. A primeira compreende a gengiva e o palato, e é caracterizada por uma estratificação, escamosa, queratinizada e epitélio pouco permeável, entretanto a segunda inclui o revestimento das bochechas (mucosa bucal) e lábios, e consiste em um epitélio estratificado, escamoso e não queratinizado, apresentando-se mais permeável que a superfície queratinizada e mais bem-adaptada para entrega de drogas. (Diaz Del Consuelo *et al.*, 2005).

Além disso, a mucosa oral é altamente vascularizada, o que permite a entrega do fármaco diretamente na circulação sanguínea sistêmica através da veia jugular. Sendo assim, a permeabilidade da mucosa oral oferece vantagens sobre a administração transdérmica de fármacos (Mahboob *et al.*, 2016).

A mucosa bucal de porco está mais próxima do tecido humano em termos de estrutura e capacidade de permeabilidade, e embora sua disponibilidade seja alta e o baixo custo de obtenção a tornem um bom modelo para estudos de entrega de fármacos, sua superfície é pequena, a excisão é demorada e trabalhosa, e muitas vezes este tecido é de má qualidade devido à danos causados pela mastigação. Sendo assim, a substituição de mucosa bucal pela mucosa esofágica suína tem sua validade, uma vez que oferece uma maior área, e normalmente intacta (Squier, Kremer 2001).

É válido salientar que apesar de algumas diferenças histológicas entre as mucosas de porco, bucal e esofágica, ainda assim são preferíveis e demonstraram ter características histológicas, estruturais e composição, semelhantes aos tecidos humanos correspondentes, cujos tecidos bucais, geralmente são de difícil obtenção, além da necessária aprovação por comitês de ética (Diaz Del Consuelo *et al*, 2005; Diaz Del Consuelo, 2005). Finalmente, os modelos suínos são facilmente obtidos, uma vez que há amplo abate dos animais para consumo alimentar, possibilitando a redução do uso de animais em pesquisas. (Diaz Del Consuelo *et al*, 2005; Kulkarni, Astheimer, Buttemer 2010).

Desde o final da década de 90, vários modelos *in vitro* usando segmentos de mucosa nasal excisados e monocamadas de células epiteliais foram estabelecidos, proporcionando uma oportunidade de prever a absorção nasal *in vivo*, evitando assim, usar animais inteiros, o que tornava os experimentos mais complexos (Schmidt, *et al* 1998; Werner, Kissel, 1996). Esses sistemas *in vitro* são considerados convenientes ao investigar mecanismos de transporte, metabolismo e questões relacionadas à avaliação de medicamentos e/ou drogas isoladas (Lee *et al*, 1997).

3.5.3 Estudos de absorção cutânea *in vitro* utilizando células de difusão

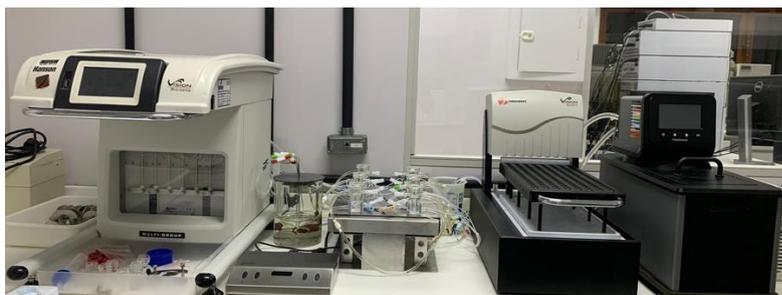
A absorção cutânea de uma substância ocorre por difusão passiva através da pele ou de forma direta por glândulas sudoríparas e folículos pilosos. Geralmente produtos químicos que penetram na epiderme são eliminados por descamação e não atingem a circulação sistêmica. No entanto, alguns produtos têm capacidade de atingir a derme subjacente à epiderme, e dessa forma entram em contato com a circulação sistêmica. Por este motivo, a determinação da absorção de uma substância é essencial para avaliar a exposição sistêmica (Selzer *et al*, 2015). Normalmente, a absorção cutânea de uma substância teste é obtida através de estudos *in vitro* e/ou *in vivo* a partir de pele de diferentes animais, incluindo porco, camundongo, rato, cobaia e pele humana (Gray, 1975; Abd *et al*, 2016).

A OECD 428 traz as diretrizes para avaliação da absorção cutânea utilizando método “*in vitro*”, que é realizado com pele excisada (humana ou de outros mamíferos) em células de difusão. As células de difusão são consideradas “padrão ouro” devido ao trabalho pioneiro do

Dr. Thomas J. Franz, que desenvolveu a “célula de Franz” na década de 70 (Franz, 1975). Ela determina relações importantes entre pele e as formulações testes (Sesto Cabral, *et al* 2015). Esta ferramenta consiste em uma célula que contém um compartimento doador para aplicação da formulação, uma membrana dentro da qual a molécula pode se difundir e um compartimento receptor, onde a concentração da molécula pode ser investigada (Zsikó *et al*, 2019).

As células de difusão podem ser categorizadas em duas classes principais, sendo células estáticas e células de fluxo, e são, normalmente, de vidro. As de difusão de Franz são normalmente células verticais, e podem constituir sistemas manuais ou automatizados. O compartimento doador pode ser aberto, estando em contato com o meio ambiente, ou fechados (procedimentos com oclusão). Os sistemas automatizados, conforme representado na figura 5, facilitam o trabalho dos pesquisadores e reduzem o erro da amostragem humana (Zsikó *et al*, 2019).

Figura 5. Células de difusão de Franz automatizadas.



Fonte: Acervo pessoal

Já células de difusão horizontal, do tipo Side-Bi-Side™ PermeGear Inc., representadas pelas figuras 6 e 7 podem ser usadas para pesquisas que usem barreiras e meios úmidos, como absorção nasal, bucal, jugal entre outros. Os dois compartimentos estão localizados horizontalmente, separados por uma membrana. A agitação magnética é possível em ambos os lados, para garantir a distribuição uniforme do produto medicamentoso e do fármaco, sendo a coleta e reposição de meio feitas de forma manual (Trbojevich *et al*, 2016).

Figura 6. Conjunto de Células de difusão de horizontal Side-Bi-Side™ (PermeGear)



Fonte: Acervo pessoal

Figura 7. Células de difusão de horizontal Side-Bi-Side™ (PermeGear®)



Fonte: Acervo pessoal

3.6 Avaliação da exposição de agrotóxicos em humanos

Os potenciais riscos que envolvem a utilização de agrotóxicos não estão relacionados simplesmente entre o usuário e o produto exposto. Outros fatores como as características químicas e toxicológicas dos produtos, a concentração ambiental, a dose de exposição do agrotóxico, as vias de absorção, o grau de exposição, tempo e a frequência da exposição, susceptibilidade individual e se a exposição se dá a um único produto ou a vários, também devem ser considerados (Garcia, 2005).

Sendo assim, os efeitos para a saúde humana decorrentes da exposição aos agrotóxicos não são resultados de um simples contato entre o produto e o indivíduo exposto, mas de diversos fatores e variáveis, como as características físico-químicas dos produtos (Grisolia, 2005).

A exposição humana a agrotóxicos pode ocorrer através da exposição ocupacional no caso de trabalhadores agrícolas em campos abertos e estufas, como de trabalhadores da indústria de agrotóxicos e agentes de endemias (Damalas *et al*, 2011). É evidente que os trabalhadores responsáveis por misturar, carregar, transportar e aplicar os agrotóxicos, são normalmente considerados o grupo que receberá maior exposição devido à natureza de seu trabalho e, portanto, estão em maior risco de possíveis intoxicações agudas (Fenske *et al*, 2005).

No entanto, além do risco ocupacional, a exposição a agrotóxicos também pode ocorrer de forma acidental, como derramamentos acidentais de produtos químicos, vazamentos ou equipamentos de pulverização defeituosos, quando há não concordância às instruções de uso dos agrotóxicos e, principalmente, quando ignoram as orientações básicas de segurança sobre o uso de equipamentos de proteção individual e práticas sanitárias fundamentais, como lavar as mãos após o manuseio dos agrotóxicos ou antes da alimentação (Harris & Gaston, 2004).

A absorção dérmica pode ocorrer durante a borrifação, derramamento ou deriva de pulverização, ao misturar, empilhamento, arrumação e limpeza adicional de agrotóxicos (Salvatore *et al*, 2008). As formas na fabricação de agrotóxicos e suas propriedades físico-químicas podem influenciar na sua capacidade de ser absorvido através da pele (Beard, *et al* 2014), e que pode impactar na soma e extensão da exposição dérmica (Macfarlane *et al*, 2013).

A exposição oral, acontece quando ocorre o consumo do produto químico através do trato digestivo, podendo acontecer por meio do uso ocupacional, intencional ou durante a pulverização, quando uma pequena quantidade de vapor entra no nariz e na boca e é engolida durante a pulverização (Thundiyil *et al*, 2008).

Há vários casos em que indivíduos foram afetados, após beber agrotóxicos que tinham sido armazenados em outros recipientes ou após beberem a água potável armazenadas em garrafas contaminadas com diluições de agrotóxicos (Kumar,2019).

Devido à presença de constituintes voláteis, os agrotóxicos têm potencial para doenças respiratórias (Amaral, 2014), uma vez que se inalados em quantidades adequadas e constantes, eles podem causar danos aos tecidos da garganta, nariz e pulmões (Damalas, Eleftherohorinos, 2011).

A exposição dos olhos também precisa ser levada em consideração, já que os agrotóxicos têm um grande potencial de danos químicos a este tecido. A segurança dos olhos é necessária em todas as etapas, desde a mistura e diluições de agrotóxicos concentrados ou muito tóxicos, até a sua aplicação na lavoura. Sendo assim, são de extrema necessidade o uso de protetores faciais ou óculos de proteção que devem ser usados em qualquer pulverização de agrotóxico, seja para evitar o contato visual com a poeira e outras partículas, como proteger

contra as gotículas lançadas durante a aspersão (Kumar 2019).

A Organização Mundial de Saúde (1982), disponibilizou um guia para examinar e determinar a exposição dos trabalhadores envolvidos na aplicação de agrotóxicos e assim, verificar se a exposição real constitui um nível seguro, para determinar quais medidas de proteção precisam ser implementadas para garantir o uso seguro. Algumas questões como o tempo de exposição, a quantidade de agrotóxico aplicada por cada homem, os detalhes sobre a proteção utilizada, a quantidade de agrotóxico que entra em contato com o exterior da roupa, sob a roupa e pele exposta, os testes quantitativos de absorção e excreção do composto original ou metabólito e outros detalhes de quaisquer efeitos da exposição, são também descritos e precisam ser investigados (Abreu,2016).

Avaliação da exposição dérmica, descrita no guia da OMS (1982), pode ser realizada por dois diferentes métodos. No primeiro, cada trabalhador deve ser avaliado quanto à exposição dérmica. Ele deve usar um novo macacão e manoplas descartáveis por um período mínimo de uma hora ou mais, durante qualquer dia de pulverização. No segundo, a verificação da exposição é realizada através de patches, que são preparados com malhas de algodão e revestidos com papel alumínio. Em 1997, foi publicado pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico, documento de orientação para a realização de estudos de exposição ocupacional a agrotóxicos durante a aplicação agrícola (OECD, 1997). O documento trabalha abordagens para a condução desses estudos, trazendo atualizações sobre o doseamento quanto a exposição dérmica, inalatória e outros métodos para medir a dose absorvida e assim garantir o monitoramento biológico.

De acordo com as notas de orientação sobre a absorção dérmica (OECD 156), a exposição a produtos químicos pode ocorrer pelas vias oral, inalatória e dérmica. Já em ambientes ocupacionais as principais vias de exposição são as vias inalatórias e dérmicas. Como é afirmado que a exposição ocupacional a produtos químicos por inalação diminuiu, a via dérmica é considerada primeira via de exposição por exposição ocupacional a agrotóxicos e produtos químicos industriais e por exposição a cosméticos. Sendo assim, os estudos de permeação cutânea fornecem informações relevantes para desenvolvimento de formulações e investigações sobre segurança no manejo de agrotóxicos e repelentes de insetos (So *et al.*, 2014).

No contexto regulatório brasileiro, a publicação da RDC nº294 de 29 de julho de 2019 tornou obrigatório a realização de estudos de absorção cutânea *in vitro*. Também está em vigor a consulta pública CP 298/2020 e a minuta do guia 2020 da Anvisa, que também trazem orientações e obrigatoriedades sobre avaliação da exposição de operadores, trabalhadores, residentes e transeuntes.

O guia *European Food Safety Authority* (EFSA) 2017, traz diretrizes que podem ser aplicadas para as formulações com agrotóxicos e todos os tipos de produtos químicos, tratando sobre a escolha dos valores de absorção dérmica para exposição do trabalhador/residente , no

qual é proposto o valor de absorção dérmica adequado para exposições a resíduo, que deve ser o maior dos valores para o concentrado e a diluição em uso, além disso, se uma estimativa aceitável da exposição do trabalhador/residente não puder ser obtida usando esta abordagem, avaliações específicas podem ser realizadas caso a caso. Estes podem levar em conta fatores como o nível de resíduo foliar desalojado (massa/unidade de área) e coeficiente de transferência versus carga usada nos estudos de absorção dérmica com produto concentrado e diluído para ajudar a determinar a valor de absorção dérmica mais apropriado para uso.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 INSUMOS

O agrotóxico utilizado foi o dimetoato, Dimexion® (concentrado emulsionável composto de dimetoato: 400 g/L; ciclohexanona: 308,0 g/L; xileno: 290,0 g/L; outros: 83 g/L), produto comercial obtido da FMC Química do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil. A diluição de Dimexion® (600 µg/mL) foi preparada conforme descrito na bula do produto. O dimetoato padrão foi adquirido da Absolute®, Inc. New Haven, EUA, lote: 217011077. Os outros produtos químicos utilizados foram metanol (Edo. De Mex, México), água deionizada obtida em um sistema de ultrapurificação (Purelab, Elga, EUA) e ácido fórmico 85% (Labsynth Produtos para laboratório Ltda, São Paulo, Brasil).

4.2 QUANTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

Toda a metodologia de quantificação e extração foi previamente desenvolvida por Cardoso, 2020.

4.2.1 Solução padrão

A solução estoque do dimetoato estava na concentração de 5.000 ng/ mL, obtida através da diluição do padrão (1 mg/ mL). A partir da solução estoque, foi preparada uma curva de calibração com concentrações de 10, 40, 80, 100, 500, 700 e 1000 ng/mL.

4.2.2 Método analítico

O método bioanalítico utilizado para a quantificação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (Shimadzu Corp. Kyoto, Japão) acoplada à espectrometria de massas triplo quadrupolo AB Sciex-3200 (MDS-SCIEX, Toronto, Canadá) foi desenvolvido por Cardoso, 2020 e validado conforme a RDC nº 27/2012 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2003).

4.2.3 Condições cromatográficas

Em relação às condições cromatográficas, a fase móvel foi estabelecida a partir de variações das concentrações de cada componente para que estes proporcionassem melhor separação cromatográfica do dimetoato bem como simetria de pico no menor tempo de análise. O solvente orgânico utilizado foi metanol acidificado com ácido fórmico, para aumentar a ionização, sendo fixado na concentração de 0,1%, além de água também acidificada com ácido fórmico a 0,1%. O fluxo estabelecido da fase móvel foi de 0,6 mL/min, a coluna cromatográfica escolhida com as seguintes especificações: C18 de 3,5µm SunFire® e o volume de injeção foi fixado no intervalo de 2 µL.

4.2.4 Preparo da solução de trabalho de dimetoato

Para o preparo da solução de dimetoato, foi utilizado 150µL do produto comercial (Dimexion®) em um balão volumétrico que teve seu menisco aferido para 100 mL, e então sonificado por 15 minutos. A solução emulsionada obtida possuía concentração de 600µg/mL. Esta concentração foi baseada na diluição indicada na bula para citrus

4.3 ESTUDOS DE PERMEACÃO CUTÂNEA UTILIZANDO VISION® MICROETTE™

Para os estudos de permeação cutânea, foram utilizadas peles de orelha de porco, dorso de rato e pele humana de abdominoplastia. Os experimentos de absorção cutânea *in vitro* foram realizados utilizando um sistema automático de células de difusão (Vision® Microette™) com volume de meio receptor de 6,0 mL e área de 1,77 cm². O líquido receptor utilizado foi água destilada a pH 6,0, na temperatura de 32±1°C. Os intervalos de tempo estabelecidos para as coletas foram de 2; 4; 6; 8; 12; e 24 horas, onde para cada intervalo foi coletado 1 mL do fluido receptor seguido de reposição do mesmo volume de solução limpa. É importante salientar que, após 6 horas do experimento, as superfícies das peles de cada célula foram limpas com swab de álcool isopropílico 70% (Biosoma®) sem interrupção do teste (EFSA, 2017). Finalizadas as 24h, as peles foram removidas e limpas com swab de álcool isopropílico 70% (Biosoma®) novamente, para cálculo do balanço de massas. Para remoção do estrato córneo (EC), foi realizado o procedimento de *tape-stripping*, com fita adesiva (Scotch Book Tape, 3M Co., St. Paul, MN, USA). A quantificação do dimetoato no EC e no restante da pele seguiu o procedimento realizado por De Araújo Cardoso *et al*, 2020.

A pele da orelha do porco foi obtida de um matadouro local (Paulista, Pernambuco, Brasil), foi lavada com água e qualquer pêlo visível foi aparado com o auxílio de tesouras, na sequência, a pele foi separada da cartilagem e cortada em pedaços menores, de modo a caber na superfície da célula de Franz.

Os ratos, do tipo Wister, foram doados pelo Biotério do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Pernambuco, Brasil). Para a retirada da pele (CEUA 007/2021), os ratos foram eutanasiados, e em seguida realizado o procedimento de tricotomia dos pelos, com máquina cortadora de pelos, modelo CAB173 cadence®, Brasil. Na sequência, a pele foi excisada com auxílio de tesouras e bisturis e também foi cortada, de modo a caber na superfície da célula de Franz.

As peles humanas foram obtidas após procedimento de abdominoplastia, realizado na área de cirurgia plástica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Após procedimento, a pele foi imediatamente colocada em uma caixa térmica embebida em soro fisiológico em temperatura controlada ($20^{\circ}\text{C} \pm 1$). Após o transporte (~1 minuto), foi realizado um procedimento de limpeza com água destilada, seguido de cortes longitudinais da pele com cerca de 10 cm de comprimento. Após avaliação visual da pele, foram excluídas áreas que continham hematomas, coloração heterogênea (exceto as áreas com estrias), manchas, cicatrizes, feridas ou quaisquer outras alterações visíveis. Em seguida, essas peles foram dermatomizadas (~400 μm , Zimmer®, EUA) seguidas da avaliação da perda de água transepidérmica através do Acqua Flux®. As peles dermatomizadas foram cortadas em pequenos fragmentos, próprios para uso em células de Franz, codificadas, colocadas em sacos de selagem e armazenadas em freezer -70°C para uso posterior.

4.4 ESTUDOS DE PERMEAÇÃO *IN VITRO* UTILIZANDO MUCOSAS DE PORCO EM CÉLULAS DE DIFUSÃO HORIZONTAL *SIDE BY SIDE* (PERMEGEAR®)

As células contêm 3,4 mL nos compartimentos doador e receptor, que foram mantidos sob agitação magnética constante a $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$. A área de permeação foi de 0,65 cm². Em cada um dos compartimentos doadores foram aplicados 36 μL do Dimexion® diluídos para uma concentração de 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e o tempo total do ensaio foi de 4 horas, sendo realizadas um total de 7 coletas (15 e 30 min; 1, 1:30, 2, 3 e 4 h). Ao final do estudo, as mucosas foram removidas, limpas com swab de álcool isopropílico 70% (Biosoma®), cortadas em pequenos pedaços e submetidas aos procedimentos de extração.

As mucosas de porco oral (bochecha e sublingual) e esofágica foram adquiridas em matadouro local (Paulista, Pernambuco, Brasil). Inicialmente, todas as partes foram lavadas em

água corrente. As línguas e esôfagos foram obtidas de formas separadas, enquanto as bochechas foram obtidas após a secção longitudinal da cabeça do porco. Para a obtenção da mucosa sublingual, após a limpeza, as línguas foram dermatomizadas, com auxílio de um dermatômetro elétrico (Zimmer®). Após a dermatomização, a espessura média das membranas sublinguais foi de 0,69 mm. Já, a mucosa esofágica, esta foi separada do tecido muscular, e então as secções são feitas dos tamanhos compatíveis com as células, com espessura média de 0,35 mm.

A mucosa jugal foi retirada com auxílio de pinça, tesoura e bisturi. Com a cabeça seccionada de forma longitudinal, as bochechas foram retiradas. Após a retirada, o tecido muscular foi separado da mucosa e na sequência, as mucosas foram novamente lavadas com solução fisiológica NaCl 0,9%. Posteriormente, as espessuras foram medidas, tendo uma média de 0,96mm.

4.5 ESTUDOS *IN VIVO*

Os experimentos *in vivos* de exposição foram aprovados pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco - Brasil, sob CAAE número 44601721.5.0000.5208. O estudo avaliou sete trabalhadores rurais (aplicadores de agrotóxicos) com idade entre 18 e 40 anos, com peso e altura médios de $70 \pm 2\text{kg}$ e $1,68 \pm 0,03\text{m}$ respectivamente, um morador de uma das fazendas que estava limpando a lavoura no mesmo horário de aplicação, e um pesquisador que acompanhou todas as aplicações nas sete fazendas avaliadas, sendo duas em Petrolina, PE e cinco em Belém do São Francisco, PE (Sertão de Itaparica).

A Tabela 1 descreve a vestimenta de cada participante do estudo, onde o agrotóxico do estudo, o dimetoato ($600 \mu\text{g}/\text{mL}$) (Dimexion®) foi preparado por cada um dos sete trabalhadores, de acordo com as recomendações do fabricante para o uso do produto, adicionando 30 mL do produto a 20 litros de água ($600 \mu\text{g}$ de dimetoato /mL). O dispositivo de aplicação utilizado foi a bomba costal de pulverização, popularmente conhecida como “mochila”, onde cada trabalhador tinha sua própria bomba. Cada trabalhador estava vestindo suas roupas de trabalho habituai, sem que houvesse a interferência da pesquisadora.

A aplicação do dimetoato ocorreu durante o horário de pulverização convencional (entre 5 e 9 horas da manhã). O período total foi de 4 horas contínuas, equivalente a meia jornada de trabalho. Todas as aplicações foram feitas no prazo de um mês, em dias diferentes nas 7 localidades. Assim, as mesmas áreas (~1,5ha) receberam a aplicação do produto.

O estudo foi realizado conforme proposta de Araújo Cardoso *et al* (2020), utilizando

duas abordagens diferentes para cada trabalhador: 1) um patche de algodão (1mm de espessura) (Cremer®, Brasil), imitando uma vestimenta, foi fixado em papel alumínio e, em seguida, fixado na roupa do trabalhador em diferentes regiões (centro das costas, centro do peito, coxa direita, coxa esquerda, braço direito, braço esquerdo, pé direito, pé esquerdo) com uma área exposta específica (100 cm²) para investigar a exposição dérmica de dimetoato; 2) para a segunda abordagem, a quantificação do estrato córneo foi realizada pela técnica de *tape-stripping* (cinco fitas retiradas de cada área demarcada (2 cm²) em regiões específicas (região posterior do pescoço e antebraços) para prever o fator de penetração EC do dimetoato

Trinta minutos antes do início da aplicação dos agrotóxicos, foram coletadas amostras de saliva, em um tubo Falcon® com capacidade de 15 mL, além de cinco fitas adesivas, que foram utilizadas para retirar uma amostra de EC da pele (região lateral do tórax). Ambos foram controles negativos, para cada um dos participantes, a fim de garantir que nenhum produto tenha entrado em contato com eles antes do momento da aplicação, além da saliva, também foram feitas coletas do muco nasal e lágrima, com auxílio de swab seco e estéril (Olen®). Ao final da aplicação dos agrotóxicos todas as amostras de algodão foram retiradas, transferidas para tubos Falcon e armazenadas a -20°C, até os procedimentos de extração. O EC foi coletado nos locais demarcados, após pré-limpeza de cada área com dois swabs de álcool isopropílico 70% (Biosoma®). Em seguida, a saliva foi coletada (cuspir em um tubo de ensaio). Com exceção da saliva, todas as amostras (fitas e algodão) seguiram o procedimento de extração já descrito. A quantificação foi realizada pelo método LC-MS/MS validado (de Araújo Cardoso et al, 2020).

O potencial de exposição dérmica do dimetoato foi calculado de acordo com a diretriz da OCDE de 1997 para o método do adesivo (OECD, 1997). Em resumo, o valor de dimetoato ng/cm² foi multiplicado pelas áreas corpóreas regionais correspondentes (descritas na Tabela do mesmo guia) para encontrar ng/região corpórea. A exposição dérmica potencial total foi calculada somando os dados com base nas concentrações encontradas nas secções de algodão. Ao final, de acordo com a OMS, 1982, a porcentagem da dose tóxica foi calculada pela Equação 1. (WHO, 1982).

Equação 1:

$$\text{Exposição dérmica} = \frac{\text{Exposição dérmica} \left(\frac{\text{mg}}{\text{h}} \right) + \text{Exposição respiratória} \left(\frac{\text{mg}}{\text{h}} \right) \times 10}{\text{DL50 Dérmica} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) \times 70} \times 100$$

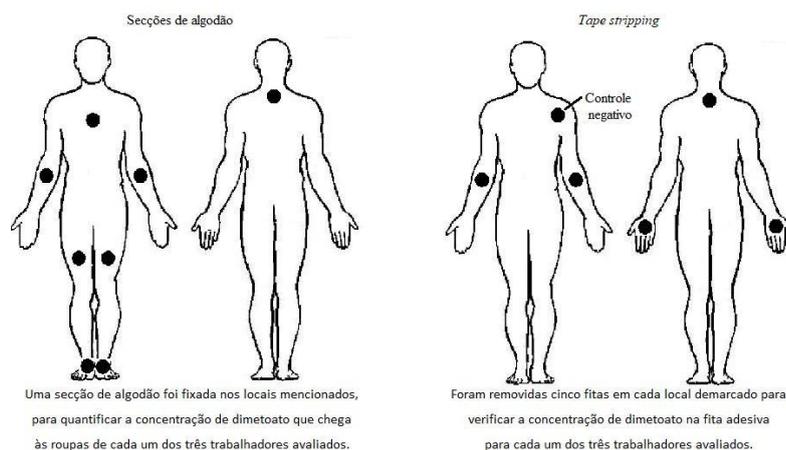
O fator de penetração (FP) do dimetoato foi previsto seguindo o método de corpo inteiro de acordo com a diretriz da OCDE de 1997 (modificada por De Araújo Cardoso et al., 2020).

A equação 2 foi utilizada para determinar o valor de FP a partir da extração do dimetoato em manchas colocadas na nuca e antebraços (resíduo na parte externa) e a extração do dimetoato na fita utilizada para coletar EC (resíduo na parte interna).

Equação 2:

$$\text{Fator de Penetração (FP)} = \frac{\text{Dimetoato na fina}}{\text{Dimetoato no patche} + \text{Dimetoato na fita}} \times 100$$

Figura 9. Locais em que as amostras foram coletadas com secções de algodão e com as fitas adesivas para avaliar a distribuição do pesticida dimetoato.



Fonte: Cardoso, 2020.

4.6 PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS DOS ESTUDOS *IN VITRO*, *EX VIVO* E *IN VIVO*

Para a extração das amostras de fitas adesivas, algodão, cotonetes, swabs, foram colocados tubos do tipo eppendorf ® de 1 mL, com uma solução água: metanol (80:20). As amostras foram agitadas (300 rpm) em uma mesa de agitação por 15 minutos e sonicadas por mais 15 minutos. Em seguida, foram filtradas com filtros seringa de 0,45µm (Millipore®) e analisadas. A extração das amostras de peles humana, porco e rato, e mucosas de porco, foram previamente limpas, cortadas em pedaços menores e em seguida, colocadas em tubos do tipo eppendorf ® de 1 mL, com uma solução água: metanol (80:20). As amostras foram agitadas (300 rpm) em uma mesa de agitação por 15 minutos e sonicadas por mais 15 minutos. Para a extração da saliva, 1 mL de amostra + 9 mL de solução (água: metanol, 80:20) foram agitados e centrifugados a 3000 RPM por 10 minutos. Na sequência, todos os sobrenadantes foram filtrados com filtros seringa de 0,45µm (Millipore®) e analisado pelo método LC-MS/MS validado (DE ARAUJO CARDOSO [et al.](#), 2020).

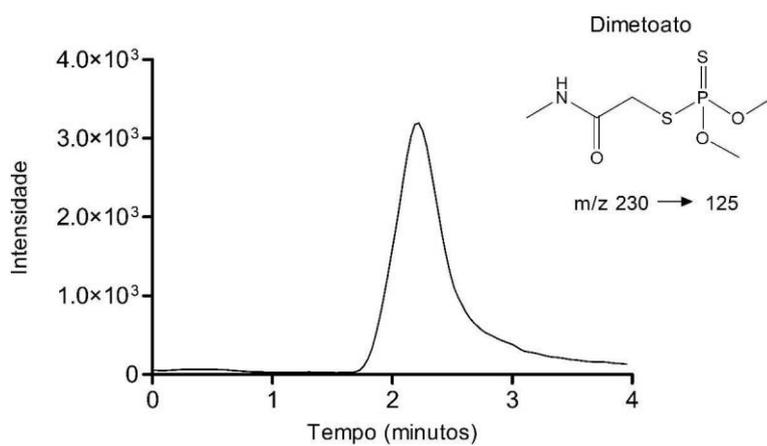
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Método analítico

5.1.1 Condições cromatográficas

A coluna cromatográfica selecionada foi a C18 de 3,5 μ m SunFire 2,1 x 50 mm (Waters, EUA) e em uma pré-coluna C18 4 x 4 mm (5 μ m) a 40 °C. A fase móvel foi uma mistura 90:10 de água + ácido fórmico a 0,1% e metanol + ácido fórmico a 0,1%; o fluxo foi de 0,6 mL/min, o volume de injeção 2 μ L e curva de calibração 10, 40, 80, 100, 500, 700 e 1000 ng/mL. O tempo de retenção para o dimetoato foi de 2,5 minutos e a corrida analítica foi de 4,5 minutos, conforme ilustrado na figura 10, abaixo.

Figura 10. Cromatograma da molécula do Dimetoato



Fonte: Autorial própria

5.2 Estudo de permeação *in vitro* (IVPT)

5.2.1 Estudo de permeação *in vitro* com pele de rato, porco e humana

Sabe-se que a permeação está relacionada com o conteúdo aplicado na superfície da pele que passa através da epiderme e atinge o fluido do compartimento doador (Friend, 1992). Na avaliação de IVPT, o perfil de permeação foi semelhante, independentemente do tipo de pele utilizada. No entanto, é válido salientar que devido as diferenças anatômicas e físico-químicas concernentes as composições das peles de rato, porco e humano, podemos notar uma diferença significativa na quantidade de dimetoato permeado, evidenciado nos valores de fluxo, como observado na figura 13.

De acordo com a lei de Fick, a espessura da pele é inversamente proporcional ao fluxo da substância através da pele. Neste estudo, apenas a pele humana obtida após o procedimento de abdominoplastia foi dermatomizada, pois, devido ao tamanho da pele da orelha do porco e da pele do dorso do rato, não foi possível realizar o procedimento de dermatomização. Ainda assim, foi verificado que a pele de rato foi mais permeável a substância química que a pele humana. Outros estudos também confirmam esta informação (Abd, E., Yousef, S. A., Pastore, M. N et al 2016; Todo, 2017; Omelchuk & Yastrub, 2020).

Já em um estudo proposto por de Heylings e colaboradores (2018) sobre estudos *in vitro* de absorção dérmica de testosterona usando pele humana e suína, constatou-se que houve penetração mais eficaz na pele suína em comparação com a pele humana. Somado a isto, a penetração percutânea *in vitro* de compostos organofosforados usando espessura total, espessura parcial e pele de porco e humana, foi observado que, independentemente da espessura da membrana da pele e do organofosforado testado, a pele da orelha de porco era 1,5 a 2 vezes mais permeável do que a pele abdominal humana (Vallet, Cruz, Josse, et al, 2007).

As Figuras 11 e 12 mostram a distribuição do dimetoato em cada parte do sistema de difusão e o perfil cumulativo do dimetoato permeado (ng/cm^2) no experimento de 24 horas, respectivamente. É importante notar que o fluxo de permeação do dimetoato ($\text{ng}/\text{cm}^2/\text{h}$) foi muito maior até 6 h (tempo de contato da formulação com a pele), comparado ao restante do tempo do experimento (entre 6-24 h). No cálculo do balanço de massa, a recuperação do dimetoato foi entre 95-105%, demonstrando reprodutibilidade na execução da metodologia.

Figura 11. Distribuição do dimetoato em cada parte do sistema de difusão como resultado de 6h de exposição de Dimexion®, 24h de tempo total do experimento, em pele de rato, porco e humana (n= 6).

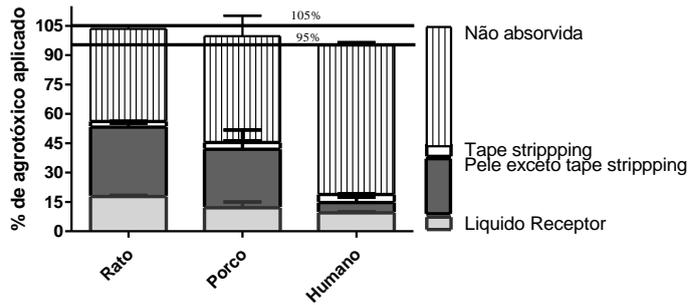
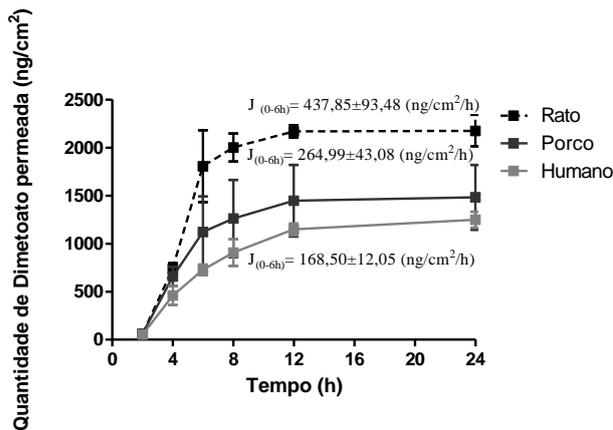


Figura 12. Perfil cumulativo de dimetoato permeado (ng/cm^2) no experimento de 24h com aplicação de Dimexion®, diretamente em pele de rato, porco e humana (n= 6).



Embora os modelos de pele de orelha de porco sejam relevantes devido às semelhanças biológicas com a pele humana (Boudry, 2008; ABD *et al.*, 2016; Moniz & Costa Lima, Reis, 2020), e de manuseio relativamente simples, pois não requer aprovação do comitê de ética, em algumas situações, como na avaliação da absorção cutânea de agrotóxicos, a comparação pode não parecer razoável. Para analisar a absorção cutânea *in vitro* de agrotóxicos, a legislação brasileira vigente (Brasil, 2019b) segue o procedimento descrito na OCDE 428 (2004). No entanto, na CP 987/20, minuta sobre avaliação de risco ocupacional, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2020) estabelece que estudos de absorção dérmica devem ser realizados *in vitro* com pele humana ou por procedimento triple pack com pele de rato, segundo

protocolo da EFSA (2017).

De acordo com a EFSA (2017), no estudo IVPT, "se o período de amostragem for 24h pode-se concluir com confiança que mais de 75% da permeação ocorreu dentro da metade da duração do período total de amostragem, o cálculo da absorção é relatado como: Absorção = solução receptora + lavagens da câmara receptora + pele (excluindo todas as fitas)". Portanto, seguindo esta afirmação, conforme descrito acima, o percentual de absorção calculado pela pele humana foi de 14,75% e o valor padrão a ser utilizado na ausência de dados experimentais para este tipo de produto é de 70% (EFSA, 2017). Esses dados demonstram a importância da boa condução do IVPT e da utilização da pele humana.

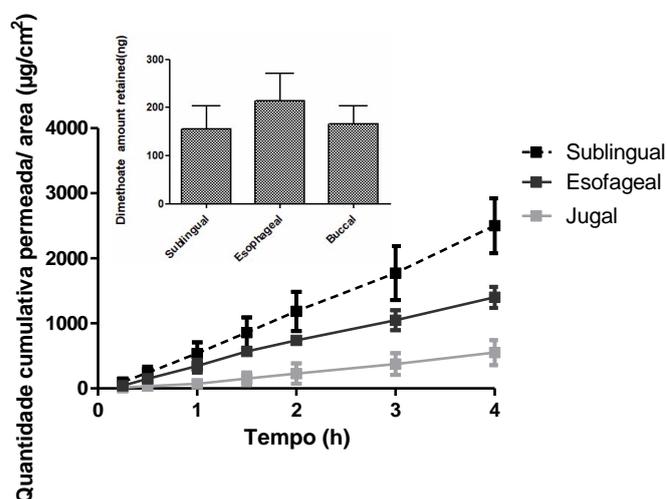
De acordo com Tefera (2022), diferenças nas quantidades de permeação de agrotóxicos foram observadas entre diferentes formulações em altas concentrações, sugerindo que os co-ingredientes podem desempenhar um papel crítico na permeação. Em relação aos medicamentos tópicos, isso já está bem estabelecido e discutido. Por esse motivo, a bioequivalência é uma ferramenta importante na avaliação de produtos farmacêuticos comercializados (Leal *et al.*, 2017; De Araujo *et al.*, 2018).

Neste IVPT, embora não tenha sido objetivo avaliar co-ingredientes, chamamos a atenção para o fato de que devido aos diferentes co-ingredientes utilizados para um produto contendo o mesmo agrotóxico produzido por diferentes indústrias, a utilização de valores padrão em estudos de IVPT podem ser adequados para um produto e inadequados para outro. Portanto, em geral, essa questão é complexa de ser avaliada. Não podemos comparar os efeitos na plantação (MESNAGE, 2018), a permeação da pele (Reifenrath, 2007; Sorgan, Condon & Cox 2010) nem a toxicidade (Kitulagodage, Astheimer & Buttemer 2008; Eddleston, 2012) do mesmo produto agrotóxico contendo diferentes co-ingredientes. Este IVPT foi realizado com Dimexion® da FMO, e o IVPT realizado por De Araújo Cardoso *et al.* (2020) utilizou Dimetoato 500EC produzido pela Nortox. Por esse motivo, os resultados não podem ser correlacionados, mas podem ser considerados complementares.

5.2.2 Estudos de permeação *in vitro* com mucosas

O estudo IVPT usando diferentes mucosas foi realizado em células *side by side*. A figura 13 mostra a quantidade cumulativa de dimetoato permeada através de cada mucosa bucal, esofágica e sublingual e a quantidade de pesticida retida em cada uma delas.

Figura 13. Perfil cumulativo de dimetoato permeado (ng/cm^2) no experimento de 4h com aplicação de Dimexion® ($50 \text{ mL}/\text{cm}^2$, diluição como em uso real, $32 \pm 1^\circ\text{C}$), diretamente em diferentes mucosas de porco ($n=6$).



Neste estudo, a permeação cumulativa de dimetoato foi 2,5 vezes maior através da mucosa esofágica em comparação com a mucosa bucal. No entanto, a espessura da mucosa bucal foi cerca de 3 vezes maior que a esofágica ($356,0 \pm 48,79$ e $962,0 \pm 80,44\text{mm}$), justificando, em parte, esse resultado. A mucosa sublingual foi utilizada neste estudo apenas para comparação, considerando que quando uma substância está presente na boca e solubilizada na saliva, ela pode estar disponível para ser deglutida e/ou permear por todos os tecidos da cavidade bucal.

Quando se trata do uso de membranas como mucosas, a mucosa bucal suína é de longe o melhor modelo de permeação *in vitro* em substituição a mucosa bucal humana (Wang, 2021). O modelo de tecido bucal apresenta grandes desvantagens, entre outras, a área superficial limitada, o processo de excisão demorado e o sério problema dos danos causados pela

mastigação. No entanto, o esôfago é cortado longitudinalmente e sua mucosa é facilmente separada da camada muscular cortando as fibras conectivas soltas com um bisturi. Portanto, a mucosa esofágica suína tem sido utilizada para minimizar esses problemas da mucosa bucal, mantendo praticamente o perfil de permeação bucal e com menor variabilidade (Del Consuelo *et al.*, 2005; Giordani *et al.*, 2020). Nossos estudos demonstram que a mucosa esofágica suína é um bom modelo a ser usado em estudos futuros para avaliar a absorção oral *in vitro* de agrotóxicos.

5.3 Estudo *in vivo*

A Tabela 2 descreve as roupas utilizadas por cada participante do estudo *in vivo*. Entre as roupas mais utilizadas (57%) pelos trabalhadores para a aplicação do agroquímico estão camisas de proteção, contra raios solares ultravioletas, de manga comprida e calça comprida de tecido jeans. O aplicador geralmente é o responsável pela aquisição e uso do vestuário de proteção individual, cabendo a ele julgar se ele é adequado para o manuseio e aplicação do agrotóxico.

Tabela 1. Vestuário dos participantes da pesquisa

Participantes	Vestuário do trabalhador e observações do pesquisador
Residente	Blusa de algodão, calça jeans e tênis
Pesquisadora	Vestuário normal de trabalho (casacos de manga comprida e calças de algodão e tênis).
Trabalhador 1	Camisa de manga comprida com proteção solar, chapéu mexicano, jeans rasgados e galochas.
Trabalhador 2	Camisa manga longa com proteção solar, tênis e calça jeans.
Trabalhador 3	Camisa de manga comprida com proteção solar, bermuda, chinelos. Obs: conversou durante toda a aplicação do agrotóxico sem máscara.
Trabalhador 4	Galochas, macacão de manga comprida, gorro e avental impermeável.
Trabalhador 5	Galochas, macacão de manga comprida, gorro e avental impermeável.
Trabalhador 6	Shorts, chinelos e regata.
Trabalhador 7	Shorts, chinelos e regata. Obs: o trabalhador parou de fumar e retornou às atividades após aproximadamente 5 minutos.

A Tabela 3 mostra as quantidades de dimetoato extraídas dos patches de algodão (ng/cm²). Vale ressaltar que os trabalhadores 1 e 2 foram submetidos a uma temperatura de 34°C e velocidade do vento de 14,6 km/h, enquanto os trabalhadores 3 a 7 trabalharam em ambiente com temperatura em torno de 39°C e velocidade do vento de 14,9 km/h. Neste último ambiente, também foi avaliada a exposição ao dimetoato de um morador da fazenda, que estava limpando uma plantação adjacente, a cerca de 0,5 km do local onde estava sendo realizada a aplicação do dimetoato.

Tabela 3. Quantidade de dimetoato (ng/cm²) analisada na mancha de algodão avaliada em diferentes regiões do corpo em sete trabalhadores, um residente e um pesquisador, após 4 horas de rotina de trabalho.

Região do corpo	Dimetoato na secção de algodão (ng/cm ²)								
	Pesquisadora	Residente	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Centro do peito	203	6	85	6	31	210	53	2,480	4,208
Antebraço direito	334	15	119	17,740	15	820	48	8,737	15,735
Antebraço esquerdo	1,057	0	105	0,38	1,116	317	268	2,069	11,351
Coxa direita	1,547	20	772	20,280	42	4,683	2,407	145	36,161
Coxa esquerda	326	30	246	27,905	424	2,425	6,114	156,716	43,147
Pé direito	186	22	4,158	26	3,136	63,463	22,599	318,155	114,500
Pé esquerdo	46	2	4,183	23	11,382	13,291	19,206	241,334	5,401
Parte posterior do pescoço	49	2	20	29	310	25,654	2,264	49,822	3,045

Uma quantidade do agrotóxico derramou acidentalmente sobre o trabalhador 6 (tronco e pernas), mesmo assim o agricultor continuou seu trabalho, apesar da pesquisadora informá-lo dos riscos decorrentes e pedir-lhe para interromper o trabalho. Isso justifica os maiores valores de exposição e FP.

As Tabelas 4, 5 e 6 apresentam as quantidades de dimetoato extraídas das fitas EC (ng/cm²), o valor de exposição calculado, a porcentagem de dose tóxica por hora e o fator de penetração EC calculado (FP), respectivamente, para os 9 participantes do estudo.

Tabela 4. Quantidade de dimetoato (ng/cm²) no estrato córneo (EC) avaliada em diferentes regiões do corpo em todos os participantes após 4 horas de trabalho.

Região do corpo	Dimetoato no EC (ng/cm ²)								
	Pesquisador	Residente	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Antebraço direito	*<LIQ	0,02	26,83	8,85	9,02	23,02	8,53	1,217.53	5,85
Antebraço esquerdo	*<LIQ	*<LIQ	13,59	15,01	9,25	10,36	5,44	1,145.51	7,40
Parte posterior do pescoço	*<LIQ	0,01	2,39	5,04	17,72	824,23	1,19	2,866.38	149,92

*<LIQ= Menor que o limite de quantificação para o método Dimetoato LC-MS/MS

Tabela 5. Exposição e porcentagem de dose tóxica por hora dos trabalhadores ao dimetoato durante a pulverização de limão.

Participantes do estudo	Dermal (mg/h)	Respiratória (mg/h)	Total (percentual tóxico dose/ hora) *
Pesquisador	24,67	NE	0,01982
Residente	0,065	NE	0,00005
Trabalhador 1	3,847	NE	0,00309
Trabalhador 2	51,405	NE	0,04130
Trabalhador 3	5,577	NE	0,00448
Trabalhador 4	33,160	NE	0,02664
Trabalhador 5	22,032	NE	0,01770
Trabalhador 6	339,875	NE	0,27308
Trabalhador 7	142,940	NE	0,11485

* Calculado para 70 kg de corpo com base na DL50 dérmica para rato (OMS, 1982) e usando DL50 apresentada na bula do Dimexion®

NAE – Não avaliado neste estudo.

Tabela 6. Fator de penetração do dimetoato (FP%) no estrato córneo (EC) analisado para todos os participantes.

Área amostrada	Fator de penetração do dimetoato em EC (%)								
	Pesquisador	Residente	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Antebraços	0,00	0,13	15,29	0,13	1,59	2,85	4,23	53,96	0,05
Parte posterior do pescoço	0,00	0,50	10,67	14,81	5,41	3,11	0,05	5,44	4,69

A Tabela 7 mostra as quantidades de Dimetoato extraídas da saliva (ng/mL) de cada participante do estudo. Os maiores valores analisados, para os trabalhadores 3 e 6, corroboram as observações (Tabela 2) descritas pela pesquisadora. No estudo *in vitro*, a porcentagem de dimetoato permeado foi em torno de 1, 2 e 8% da quantidade aplicada, da mucosa bucal, esofágica e sublingual respectivamente. No entanto, não se pode fazer correlação direta com a quantidade de dimetoato encontrada na saliva dos participantes, uma vez que a saliva não permanece estática no indivíduo durante as 4 horas, podendo ser resultado da captação oral do aerossol de dimetoato ou excreção por distribuição de dimetoato via corrente sanguínea como observado para permetrina (BUCHHOLZ *et al*, 2021).

Tabela 7. Quantidade de Dimetoato (ng/mL) na saliva.

Quantidade de Dimetoato (ng/mL) na saliva								
Pesquisador	Residente	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
0,00	0,39	13,62	6,92	383,76	114,92	51,58	1,198,27	19,75

Este estudo *in vivo*, em parte observacional, foi realizado com o intuito de demonstrar fragilidade/vulnerabilidade na rotina da agricultura familiar. Realizar um experimento controlado em uma plantação em uma área real, com aplicadores reais em condições reais de trabalho é muito difícil. Neste estudo, a área e o tipo de plantio, o produto e seu preparo, bem como o tempo de pulverização, foram padronizados utilizando bombas costais de mesmo volume. O uso dos patches utilizados neste estudo pressupõe que a distribuição dos agrotóxicos ocorre de maneira uniforme na superfície do corpo, o que é uma desvantagem do método, que vem sendo utilizado por diversos pesquisadores por ser custo-efetivo (Soutar *et al*, 2000; Pouzou *et al*, 2018).

Com exceção da pesquisadora, nenhum dos trabalhadores participantes do estudo usava vestuário adequado conforme descrito na EFSA (2022). Por um lado, este estudo mostrou a preocupação dos trabalhadores com a exposição à luz solar e pelo uso de roupas convencionais, de menor custo, conforto e conveniência, como o uso de jeans e camisas de tecidos leves e fluidos. De acordo com Licina *et al*. (2019), “os têxteis comuns oferecem alguma proteção, mas permanecem inferiores aos equipamentos de proteção individual corretos, resultando em toxicidades agudas e crônicas após a penetração percutânea de agrotóxicos provenientes da roupa”. influenciada pela forma como os agrotóxicos se distribuem dentro do próprio tecido. Tal afirmação é particularmente importante, pois de acordo com Garrigou, *et al* (2020), se essas vestimentas forem usadas tanto para manusear agrotóxicos quanto como roupas comuns, elas poderiam trazer ainda mais riscos, devido a contaminação cruzada.

Ao mesmo tempo, condições ambientais como calor, umidade e transpiração do trabalhador também podem afetar a transferência de agrotóxicos da roupa para a pele (Wester et al, 2000). Essas condições ambientais somadas ao uso de equipamentos de proteção inadequados são responsáveis pelos altos valores de exposição dérmica mostrados na Tabela 4. Um estudo publicado por Al-Jaghir, Salhab e Hamarsheh (1992), realizado em estufas durante a pulverização de tomates com tempo de exposição de 4 horas, mostraram que a média de exposição cutânea ao dimetoato foi de 914 ± 69 mg/dia. Se comparado ao estudo, este foi considerado maior e com menor variação do que nossos resultados calculados a partir de sete trabalhadores que trabalharam na aplicação de agrotóxicos em plantação de limão ($342,19 \pm 487,14$ mg/dia) porque há menor dispersão do agrotóxico em ambiente fechado. Outro estudo (Aprea *et al*, 2004), realizado durante o tratamento de oliveiras, mostrou que a exposição ao dimetoato estava na faixa de 52,41 a 733,60,7 mg/dia. Nossos resultados (15,38 a 1359,5mg/dia) mostram uma variação maior, provavelmente por diferenças no procedimento metodológico ou pelo menor uso de equipamentos de proteção individual. Ao mesmo tempo, corroborando De Araújo Cardoso *et al*, (2020), a avaliação do dimetoato em manchas demonstrou grande variabilidade da concentração de agrotóxicos dentro e entre regiões do corpo, após pulverização de maçãs com tempo de exposição de 4 horas.

De acordo com Thredgold *et al*, (2019), em ambientes agrícolas, apesar da aplicação de pulverização ser comum, relata-se que apenas 10% da exposição total a agrotóxicos ocorre por via respiratória. Os 90% restantes são atribuídos à absorção ou exposição dérmica. Neste estudo a exposição respiratória não foi avaliada. Por esse motivo, para calcular o percentual de dose tóxica, esse dado foi desconsiderado. A porcentagem de dimetoato de dose tóxica por hora obtida neste estudo (Tabela 4) foi superior ao clortion, malation, gution e paration (Durham & Wolfe 1962) e superior ao dimetoato em um estudo realizado por De Araújo Cardoso *et al*, 2020. No entanto, vale ressaltar que este estudo foi realizado com o Dimexion® da FMO, que tem como co-ingrediente uma combinação de dimetoato e ciclohexanona. De acordo com Eddleston *et al* (2012), a combinação de dimetoato com ciclohexanona reproduziu intoxicação grave, no entanto, uma formulação sem ciclohexanona apresentou menor toxicidade em mamíferos.

Os fatores de penetração do dimetoato, encontrados por De Araújo Cardoso *et al*, 2020, para nuca e braços para dois participantes do estudo foram 4,8%; 54,03% e 0,48; 28,93%, respectivamente. Protano, Guidotti, Vitali 2009, obtiveram valores de 0,2% para a nuca e 2,9% para os braços. Nossos dados apresentaram uma variação entre 0,5-14,81% e 0,05-53,96% para nuca e braço, respectivamente.

Em todos os casos, os trabalhadores foram avaliados com vestimentas e equipamentos de proteção individual que não atendiam a todos os requisitos de segurança, destacando o risco a que estão expostos.

A saliva é um fluido simples e de fácil obtenção e pode ser usado para avaliar uma ampla gama de biomarcadores, drogas e contaminantes ambientais, incluindo drogas de abuso, hormônios, quimioterápicos, metais pesados e pesticidas (Kapka-Skrzypcza, *et al* 2011). Um estudo realizado por Buchholz, 2021, com permetrina, mostrou que uma das formas eficazes de biomonitorar a permetrina para avaliar a exposição dérmica foi através da análise da saliva (a excreção máxima de saliva ocorreu 6 h após a dosagem).

Neste estudo, a análise do dimetoato coletado da saliva e do muco nasal foi uma avaliação direta a qualquer ligação com a exposição, que foi realizado com o objetivo de mostrar aos agricultores que a falta de máscara, falar durante o trabalho e fazer uma pausa para fumar podem aumentar a possibilidade de intoxicação adicional, como pode-se observar nos resultados apresentados na tabela 8.

Tabela 8. Resultados das coletas de lágrima e muco nasal (ng/ mL)

Amostra	Concentração de dimetoato (ng/mL)								
	Pesquisador	Residente	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Olhos (lágrima)	0,00	<LIQ*	0,00	<LIQ*	23,77	0,00	0,00	28,78	0,00
Nariz (muco nasal)	0,00	<LIQ*	0,00	0,00	<LIQ*	0,00	0,00	0,00	0,00

<LIQ* (Limite inferior de quantificação 0,1>9,99 ng/ mL)

Como mostrado na tabela 8, o dimetoato foi detectado no residente e nos trabalhadores 2, 3 e 6, no entanto nos olhos e nariz do residente, as concentrações de dimetoato ficaram abaixo do limite de quantificação do método de análise, assim como na amostra de lágrima do trabalhador 2 (T2) e muco nasal do trabalhador 3 (T3), entretanto na análise de lágrima houve detecção, que além do trabalhador 3, foram detectadas concentrações no trabalhador 6. É válido salientar que, para ambos os casos, os trabalhadores não estavam com vestimentas adequadas, nem com uso de equipamentos de proteção individual, além disso, durante a aplicação do agrotóxico, o manuseio da bomba, e posterior uso das mãos sem lavagem, podem ter influenciado na contaminação ocular. No entanto, não podemos descartar que a contaminação pode levar a resultados perigosos, e a longo prazo até trazer prejuízos a saúde desses trabalhadores, uma vez que os agrotóxicos são conhecidos por causar anormalidades nos olhos associadas a visão turva, lacrimejamento, dor nos olhos, vermelhidão, inchaço e irritação dos

olhos, após a exposição, e geralmente esses prejuízos são maiores entre os trabalhadores de pulverização (Sanyal, 2017).

Apesar de não ter sido analisada, a exposição respiratória é particularmente perigosa porque as gotículas das soluções de agrotóxicos podem ser rapidamente absorvidas pelos pulmões para a corrente sanguínea, sendo assim, os agrotóxicos podem causar sérios danos ao nariz, garganta e tecido pulmonar se inalado em quantidades suficientes (Risk, 2001).

6 CONCLUSÃO

Este estudo *in vivo*, em parte observacional, foi realizado com o intuito de demonstrar fragilidade/vulnerabilidade na rotina da agricultura familiar. Os resultados da exposição demonstraram estreita concordância com outros estudos contendo dimetoato e outros agrotóxicos.

O dimetoato encontrado na saliva, lágrima e muco nasal, são dados difíceis de avaliar, uma vez que pode ser o resultado de vários fatores associados, mesmo assim, acreditamos ser importante mostrá-los, uma vez que ele foi detectado e tal exposição pode sim culminar em prejuízos a saúde.

O estudo *in vivo*, conseguiu verificar a exposição dérmica e avaliação da absorção dérmica de agrotóxicos e que apresentam uma concordância com os resultados obtidos nos estudos de permeação *in vitro* em pele humana, de rato e suína.

No estudo *in vitro* complementar, a absorção de dimetoato através da pele humana foi de 14,75% e o valor padrão na ausência de dados experimentais para este produto é de 70%.

A mucosa esofágica suína demonstrou ser um bom modelo para futuros estudos de avaliação da absorção oral *in vitro* de agrotóxicos.

Na agroindústria, com nível de segurança e fiscalização do uso de agrotóxicos, a exposição não é ainda controlada na forma preconizada como idealmente mais segura. Os problemas e o potencial de absorção desses produtos são, em geral, bastante minimizados. No entanto, em relação à agricultura familiar, se o perigo (o agrotóxico) for o mesmo, mas a exposição for maior devido à ausência ou deficiência de vestimenta correta durante a aplicação desse produto como atividade rotineira, incluindo trabalhadores que não fazem parte diretamente dessa atividade, o risco tende a aumentar.

Portanto, um maior esforço na área da educação deve ser feito na tentativa de eliminar ou mitigar essa situação.

REFERÊNCIAS

Abd, E., Yousef, S. A., Pastore, M. N., Telaprolu, K., Mohammed, Y. H., Namjoshi, S., ... & Roberts, M. S. Skin models for the testing of transdermal drugs. **Clinical pharmacology: advances and applications**, v. 8, p. 163, 2016.

ABRAMOVAY, Ricardo. **Paradigmas do capitalismo agrário em questão**. Edusp, 2012.

AL-JAGHBIR, Madi T.; SALHAB, Abdulazin S.; HAMARSHEH, Farhan A. Dermal and inhalation exposure to dimethoate. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 22, n. 4, p. 358-361, 1992.

ALTAFIN, Iara. Reflexões sobre o conceito de agricultura familiar. 2007. **Acesso em**, v. 12, 2016.

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

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia técnico para avaliação de risco ocupacional. 2020.

AN, Xuehua et al. Risk assessment of applicators to chlorpyrifos through dermal contact and inhalation at different maize plant heights in China. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 29, p. 7072-7077, 2014.

APREA, C. et al. Evaluation of skin and respiratory doses and urinary excretion of alkylphosphates in workers exposed to dimethoate during treatment of olive trees. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 48, n. 1, p. 127-134, 2004.

ARAÚJO, Isabelle Maria Mendes de; OLIVEIRA, Ângelo Giuseppe Roncalli da Costa. Agronegócio e agrotóxicos: impactos à saúde dos trabalhadores agrícolas no nordeste brasileiro. **Trabalho, Educação e Saúde**, v. 15, p. 117-129, 2016.

BARBERO, Ana M.; FRASCH, H. Frederick. Pig and guinea pig skin as surrogates for human in vitro penetration studies: a quantitative review. **Toxicology in vitro**, v. 23, n. 1, p. 1-13, 2009.

BEARD, John D. et al. Pesticide exposure and depression among male private pesticide applicators in the agricultural health study. **Environmental health perspectives**, v. 122, n. 9, p. 984-991, 2014.

BEDOR, C. et al. Avaliação e reflexos da comercialização e utilização de agrotóxicos na região do submédio do Vale do São Francisco. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 31, n. 1, p. 68-68, 2007.

BOUDRY, I. et al. Percutaneous penetration and absorption of parathion using human and pig skin models in vitro and human skin grafted onto nude mouse skin model in vivo. **Journal of Applied Toxicology**, v. 28, n. 5, p. 645-657, 2008.

BRASIL, Lei. 11.326, de 24 de julho de 2006. Estabelece as diretrizes para formulação da política nacional da agricultura familiar e empreendimento familiares rurais, Diário Oficial da

União-Seção, p. 1-25, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 294, de 29 de julho de 2019.

Comentado [1]:

Tem duas referências 2019 vê quem é 2019a ou 2019b

BRASIL. Decreto nº 24.114, de 12 de abril de 1934. Aprova o Regulamento de Defesa Sanitária Vegetal. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, v. 2, p. 555. Seção 1 - 4/5/1934

BRASIL. LEI Nº 4.785, DE 6 DE OUTUBRO DE 1965. Dispõe sobre a fiscalização do comércio e uso de produtos fitossanitários e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, p.10345. Seção 1. 11 out 1965.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador, 2018. Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos, 1st ed. Brasília.

BORTOLOTTI, Caroline Cardozo et al. Exposição a agrotóxicos: estudo de base populacional em zona rural do sul do Brasil. **Revista brasileira de epidemiologia**, v. 23, 2020.

BUCHHOLZ, Bruce A. et al. Pharmacokinetics, metabolite measurement, and biomarker identification of dermal exposure to permethrin using accelerator mass spectrometry. **Toxicological Sciences**, v. 183, n. 1, p. 49-59, 2021.

CAO, Lidong et al. Assessment of potential dermal and inhalation exposure of workers to the insecticide imidacloprid using whole-body dosimetry in China. **Journal of Environmental Sciences**, v. 27, p. 139-146, 2015.

CAPT, A. et al. Comparison of the human skin grafted onto nude mouse model with in vivo and in vitro models in the prediction of percutaneous penetration of three lipophilic pesticides. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 47, n. 3, p. 274-287, 2007.

CARDOSO, Thalita Pedon de Araujo. **Estratégias e implementação de técnicas in vitro, ex vivo e in vivo para avaliação da passagem dérmica e ocular de resíduos de pesticidas**. 2016-2020. Tese (Doutorado em ciências farmacêuticas) Universidade Federal de Pernambuco. 2023

CARMAN, Glenn E. et al. Pesticide applicator exposure to insecticides during treatment of citrus trees with oscillating boom and airblast units. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 11, n. 6, p. 651-659, 1982.

CLARKE, James F. et al. Dermal absorption of pesticide residues. **Chemical Research in Toxicology**, v. 31, n. 12, p. 1356-1363, 2018.

CORBO, Diane C.; LIU, Jue-Chen; CHIEN, Yie W. Characterization of the barrier properties of mucosal membranes. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 79, n. 3, p. 202-206, 1990.

CORCINO, Cícero Oliveira et al. Avaliação do efeito do uso de agrotóxicos sobre a saúde de trabalhadores rurais da fruticultura irrigada. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 24, p. 3117-3128, 2019.

DAMALAS, Christos A.; ABDOLLAHZADEH, Gholamhossein. Farmers' use of personal protective equipment during handling of plant protection products: determinants of implementation. **Science of the Total Environment**, v. 571, p. 730-736, 2016.

DAMALAS, Christos A.; ELEFTEROHORINOS, 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.

DE ARAUJO CARDOSO, Thalita Pedon et al. Pesticide dermal absorption: Case study x in vitro study. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 75, p. 103313, 2020.

DE ARAUJO, Thalita Pedon et al. Topical bio (in) equivalence of metronidazole formulations in vivo. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 541, n. 1-2, p. 167-172, 2018.

DEL CONSUELO, Isabel Diaz et al. Evaluation of pig esophageal mucosa as a permeability barrier model for buccal tissue. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 94, n. 12, p. 2777-2788, 2005.

DIÁRIO ECONÔMICO ETENE- Ano III - Nº 15 - 14.02.2020 ISSN 2594-7338 Produção Agrícola do Nordeste em 2020.

DIAZ-DEL CONSUELO, Isabel et al. Comparison of the lipid composition of porcine buccal and esophageal permeability barriers. **Archives of oral biology**, v. 50, n. 12, p. 981-987, 2005.

DIONISIO, Miguel A. et al. Laboratory and Field Trials to Identify Sustainable Chemical Control Strategies for *Trioza erytreae* in European Citrus Orchards. **Agronomy**, v. 11, n. 10, p. 1982, 2021.

DURHAM, William F.; WOLFE, Homer R. Measurement of the exposure of workers to pesticides. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 26, n. 1, p. 75, 1962.

EDDLESTON, Michael et al. A role for solvents in the toxicity of agricultural organophosphorus pesticides. **Toxicology**, v. 294, n. 2-3, p. 94-103, 2012.

EDDLESTON, Michael. **Poisoning by pesticides**. *Medicine*, v. 48, n. 3, p. 214-217, 2020.

EKEN, Ayşe. An overview on dimethoate toxicity and human health. *The Turkish Journal Of Occupational/Environmental Medicine and Safety*, v. 2, n. 1 (4), p. 32-32. 2017.

EKEN, Ayşe. Dimethoate organophosphate insecticide toxicity and the role of oxidative stress. In: **Toxicology**. Academic Press, 2021. p. 59-68.

ESECHIE, Jovita O.; IBITAYO, Olurominiyi O. Pesticide use and related health problems among greenhouse workers in Batinah Coastal Region of Oman. **Journal of forensic and legal medicine**, v. 18, n. 5, p. 198-203, 2011.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) et al. Guidance on dermal absorption. **EFSA Journal**, v. 15, n. 6, p. e04873, 2017.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) et al. Guidance on the assessment of exposure of operators, workers, residents and bystanders in risk assessment of plant protection products. **EFSA Journal**, v. 20, n. 1, p. e07032, 2022.

FAO/WHO (1997) Pesticide residues in food — 1996 evaluations. Part II — Toxicological. Geneva, World Health Organization, Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (WHO/PCS/97.1).

FENSKE, Richard A.; DAY JR, Edgar W. Assessment of exposure for pesticide handlers in agricultural, residential and institutional environments. **Occupational and residential exposure assessment for pesticides**, p. 11-43, 2005.

FMC Química do Brasil Ltda, n.d. DIMEXION®

FRANCO, CAROLINE DA ROCHA; PELAEZ, Victor. A (des) construção da agenda política de controle dos agrotóxicos no Brasil. **Ambiente & Sociedade**, v. 19, p. 213-230, 2016.

FRANZ, Thomas J. Percutaneous absorption. On the relevance of in vitro data. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 64, n. 3, p. 190-195, 1975.

FRANZ-MONTAN, Michelle et al. Evaluation of different pig oral mucosa sites as permeability barrier models for drug permeation studies. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 81, p. 52-59, 2016.

FRIEND, David R. In vitro skin permeation techniques. **Journal of Controlled Release**, v. 18, n. 3, p. 235-248, 1992

FONTENELE, L. A., DINIZ, M. A. N., SOUSA, M. D. D. A., FONSECA, M. C. S. D., SILVA e SOUSA, P. C., FARIAS, P. C. D., ... & MARZALL, L. F. Revolução verde: história e impactos no desenvolvimento agrícola. **Agricultura e agroindústria no contexto do desenvolvimento rural sustentável**, v. 1, n. 1, p. 370-377, 2021.

GARCIA, E. G. Aspectos de prevenção e controle de acidentes no trabalho com agrotóxicos. São Paulo: Fundacentro, 2005

GARRIGOU, Alain et al. Critical review of the role of PPE in the prevention of risks related to agricultural pesticide use. **Safety science**, v. 123, p. 104527, 2020.

GIORDANI, Barbara et al. Ondansetron buccal administration for paediatric use: A comparison between films and wafers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 580, p. 119228, 2020.

GRISÓLIA, K. C. Estudos da mutagênicidade dos agrotóxicos. In: GRISOLIA, K. C. (Org.). **Agrotóxicos: mutações, reprodução e câncer**. Brasília, DF: Ed. UnB, 2005. cap. 1.).

GRAY, G. M.; YARDLEY, H. J. Lipid compositions of cells isolated from pig, human, and rat epidermis. **Journal of lipid research**, v. 16, n. 6, p. 434-440, 1975.

GODIN, Biana; TOUITOU, Elka. Transdermal skin delivery: predictions for humans from in vivo, ex vivo and animal models. **Advanced drug delivery reviews**, v. 59, n. 11, p. 1152-1161, 2007.

HARRIS, C. A.; GASTON, C. P. Effects of refining predicted chronic dietary intakes of pesticide residues: a case study using glyphosate Part A **Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment**. 2004.

HEYLINGS, Jon R.; DAVIES, Diane J.; BURTON, Rebeca. Absorção dérmica de testosterona na pele humana e suína in vitro. **Toxicologia in Vitro**, v. 48, p. 71-77, 2018.

HOPF, N. B. et al. Reflections on the OECD guidelines for in vitro skin absorption studies. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 117, p. 104752, 2020.

HUGHES, Michael F.; EDWARDS, Brenda C. In vitro dermal absorption of pyrethroid pesticides in human and rat skin. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 246, n. 1-2, p. 29-37, 2010.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA Censo Agropecuário 2017. Rio de Janeiro: IBGE, 2017. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv59908.pdf>

IBGE, Censo. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE. 2021.

Índice monográfico. D18. Dimetoato. ANVISA. 2020.

JUNG, Eui Chang; MAIBACH, Howard I. Animal models for percutaneous absorption. **Topical drug bioavailability, bioequivalence, and penetration**, p. 21-40, 2014.

KAPKA-SKRZYPCZAK, Lucyna et al. Biomonitoring and biomarkers of organophosphate pesticides exposure-state of the art. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 18, n. 2, 2011.

KARUNARATHNE, Ayanthi et al. How many premature deaths from pesticide suicide have occurred since the agricultural Green Revolution?. **Clinical toxicology**, v. 58, n. 4, p. 227-232, 2020.

KEIFER, Matthew C.; MAHURIN, Roderick K. Chronic neurologic effects of pesticide overexposure. **Occupational medicine (Philadelphia, Pa.)**, v. 12, n. 2, p. 291-304, 1997.

KITULAGODAGE, M.; ASTHEIMER, L. B.; BUTTEMER, W. A. Diacetone alcohol, a dispersant solvent, contributes to acute toxicity of a fipronil-based insecticide in a passerine bird. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, n. 2, p. 597-600, 2008.

KULKARNI, Upendra et al. Porcine buccal mucosa as in vitro model: effect of biological and experimental variables. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 99, n. 3, p. 1265-1277, 2010.

KUMAR, Vinod; KUMAR, Piyush. Pesticides in agriculture and environment: Impacts on human health. **Contaminants in agriculture and environment: health risks and remediation**, v. 1, p. 76-95, 2019.

KUZNETS, Simon. Modern Economic Growth: Rate. **Structure and Spread**, v. 6, p. 57-58, 1966.

LAMARCHE, Hughs. A Agricultura Familiar; tradução por Ângela Maria Naoko Tijiwa. 1993.

LEAL, Leila Bastos et al. Bioequivalence methodologies for topical drug products: in vitro and ex vivo studies with a corticosteroid and an anti-fungal drug. **Pharmaceutical research**, v. 34, n. 4, p. 730-737, 2017.

LEE, Chao-Pin; DE VRUEH, Remco LA; SMITH, Philip L. Selection of development candidates based on in vitro permeability measurements. **Advanced drug delivery reviews**, v. 23, n. 1-3, p. 47-62, 1997.

LEVIEN, Sérgio Luiz Aguiar; FIGUEIRÊDO, Vladimir Batista; DE ARRUDA, Luiz Eduardo Vieira. Panorama da atual área de agricultura irrigada no Brasil. 2021
LICINA, Dusan et al. Clothing-mediated exposures to chemicals and

particles. **Environmental science & technology**, v. 53, n. 10, p. 5559-5575, 2019.

MACFARLANE, Ewan et al. Dermal exposure associated with occupational end use of pesticides and the role of protective measures. **Safety and health at work**, v. 4, n. 3, p. 136-141, 2013.

MAGALHÃES, Maria Auxiliadora de Sá et al. **Exposição a agrotóxicos na atividade agrícola: um estudo de percepção de riscos à saúde dos trabalhadores rurais no distrito de pau de ferro-Salgueiro-Pe**. 2010. Tese de Doutorado. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães.

MAHBOOB, Muhammad Bilal Hassan et al. Oral films: A comprehensive review. **International Current Pharmaceutical Journal**, v. 5, n. 12, p. 111-117, 2016.

MELO, Wyara Ferreira et al. A utilização de agrotóxicos e os riscos a saúde do trabalhador rural. **Rev Bras Educ Saúde**, v. 6, n. 2, p. 26-30, 2016.

MESNAGE, Robin; ANTONIOU, Michael N. Ignoring adjuvant toxicity falsifies the safety profile of commercial pesticides. **Frontiers in public health**, v. 5, p. 361, 2018.

Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2020. Consulta Pública No 987, DE 15 DE DEZEMBRO DE 2020. Dispõe sobre diretrizes para a Avaliação do Risco da Exposição de Operadores, Trabalhadores, Residentes e Transeuntes aos Agrotóxicos.

MONIZ, Tânia; COSTA LIMA, Sofia A.; REIS, Salette. Human skin models: From healthy to disease-mimetic systems; characteristics and applications. **British Journal of Pharmacology**, v. 177, n. 19, p. 4314-4329, 2020.

MOODY, R. P.; NADEAU, B. In vitro dermal absorption of pesticides: IV. In vivo and in vitro comparison with the organophosphorus insecticide diazinon in rat, guinea pig, pig, human and tissue-cultured skin. **Toxicology in vitro**, v. 8, n. 6, p. 1213-1218, 1994.

MUTTRAY, Axel et al. External and internal exposure of winegrowers spraying methyl parathion. **Toxicology letters**, v. 162, n. 2-3, p. 219-224, 2006.

OECD. Guideline for the testing of chemical, nº 428. Skin Absorption: in vitro Method, Paris, France, 2004

OLSON, K.R. et al. Manual de Toxicologia Clínica. 6ªed. São Paulo: AMGH, Editora Ltda, 2014.

OECD. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 1997. Guidance Document for the Conduct of Studies of Occupational Exposure to Pesticides During Agricultural Application. Paris.

OECD. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2004. Skin Absorption: in vitro Method, in: GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS. (Nº 428) Paris.

OECD. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2019. Guidance Notes on Dermal Absorption (Nº 156) Paris, France.

PAIVA FILHO, Antônio Carlos Rebelo; DE SOUSA CARDOSO, Sandra Regina; REGO, Juciane Vaz. AGRICULTURA FAMILIAR E AGROTÓXICO: DIALOGANDO COM A REALIDADE EM COMUNIDADES CAMPESINAS DE MIGUEL ALVES (PI). **Cadernos**

Cajuína, v. 5, n. 3, p. 145-161, 2020.

PESSOA, G., et al. Uso de agrotóxicos e saúde de trabalhadores rurais em municípios de Pernambuco. **Saúde em Debate**, v. 46, p. 102-121, 2022.

PEREIRA, R.B., de Moura, A.P., Pinheiro, J.B., 2015. Circular. Técnica 144: Tecnologia de Aplicação de Agrotóxicos em Cultivo Protegido de Tomate e Pimentão. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Empraba., Brasília - DF.

PERES, Frederico; MOREIRA, Josino Costa. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Editora Fiocruz, 2003.

PETRUSON, Björn; HANSSON, Hans-Arne; KARLSSON, Göran. Structural and functional aspects of cells in the nasal mucociliary system. **Archives of Otolaryngology**, v. 110, n. 9, p. 576-581, 1984.

PINGALI, Prabhu L. Green revolution: impacts, limits, and the path ahead. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 31, p. 12302-12308, 2012.

POUZOU, Jane G. et al. Comparative probabilistic assessment of occupational pesticide exposures based on regulatory assessments. **Risk Analysis**, v. 38, n. 6, p. 1223-1238, 2018.

PROTANO, Carmela; GUIDOTTI, Maurizio; VITALI, Matteo. Performance of different work clothing types for reducing skin exposure to pesticides during open field treatment. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 83, n. 1, p. 115-119, 2009.

REIFENRATH, W. G. Enhanced skin absorption and fly toxicity of permethrin in emulsion formulation. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 78, n. 5, p. 299-303, 2007.

RIGOTTO, Raquel Maria; VASCONCELOS, Dayse Paixão; ROCHA, Mayara Melo. Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, p. 1360-1362, 2014.

RISK, Manage Your. Signs and Symptoms of Pesticide Poisoning.2001.

SCHARMACH, Cristiane; DA SILVA, Juliana Cavalheiro; CAMPOS, Renata. Toxicidade do agrotóxico na função respiratória de agricultores. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 33740-33756, 2020.

SAHIN, MUSA AZLIGAN, E., BOZDOGAN, N. Y., ATASOY, A., & DAGLIOGLU, N.. Determination of dermal exposure levels by patch methods in pesticide operators. **Feb-fresenius environmental bulletin**, p. 12635, 2021.

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.

SAMPAIO, Yoni de Sá Barreto; VITAL, Tales Wanderley. Agricultura familiar em Pernambuco: o que diz o censo agropecuário de 2017. **Revista Econômica do Nordeste**, v. 51, p. 155-171, 2020.

SANTANA, E. L., MACHINSKI JUNIOR, M. O uso de praguicidas por trabalhadores do setor agrícola atendidos ambulatoriamente em Maringá no período de 2002 a 2003. *Acta*

- Scientiarum. Health Sciences Maringá, v. 26, n. 2, p. 325–329, 2004.
- SANYAL, Shalini; LAW, Atrato; LAW, Sujata. Chronic pesticide exposure and consequential keratectasia & corneal neovascularisation. **Experimental eye research**, v. 164, p. 1-7, 2017.
- SCHMIDT, M. Christiane et al. In vitro cell models to study nasal mucosal permeability and metabolism. **Advanced drug delivery reviews**, v. 29, n. 1-2, p. 51-79, 1998.
- SEIZI, O., CAMARGO, M.M. A., BATISTUZZO. Fundamentos de Toxicologia - 4ª Ed., Atheneu Sp 2014
- SELZER, D. A. et al. Strategy for in-silico prediction of skin absorption in man. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. Alemanha, v. 11931, 2015.
- SESTO CABRAL, Maria Eugenia et al. Equipment and method for in vitro release measurements on topical dosage forms. **Pharmaceutical development and technology**, v. 20, n. 5, p. 619-625, 2015.
- SILVA, Jandira Maciel da et al. Agrotóxico e trabalho: uma combinação perigosa para a saúde do trabalhador rural. **Ciência & saúde coletiva**, v. 10, p. 891-903, 2005.
- SILVA, João Francisco Santos da et al. Correlação entre produção agrícola, variáveis clínicas-demográficas e câncer de próstata: um estudo ecológico. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 20, p. 2805-2812, 2015.
- SIQUEIRA, Soraia Lemos de; KRUSE, Maria Henriqueta Luce. Agrotóxicos e saúde humana: contribuição dos profissionais do campo da saúde. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 42, p. 584-590, 2008.
- SO, Jaehwan et al. Comparison of international guidelines of dermal absorption tests used in pesticides exposure assessment for operators. **Toxicological research**, v. 30, n. 4, p. 251-260, 2014
- SOUTAR, A. et al. Use of patches and whole body sampling for the assessment of dermal exposure. **Annals of Occupational Hygiene**, v. 44, n. 7, p. 511-518, 2000.
- SQUIER, Christopher A.; KREMER, Mary J. Biology of oral mucosa and esophagus. **JNCI Monographs**, v. 2001, n. 29, p. 7-15, 2001.
- SULLIVAN, Tory P. et al. The pig as a model for human wound healing. **Wound repair and regeneration**, v. 9, n. 2, p. 66-76, 2001.
- SURGAN, Michael; CONDON, Madison; COX, Caroline. Pesticide risk indicators: unidentified inert ingredients compromise their integrity and utility. **Environmental Management**, v. 45, n. 4, p. 834-841, 2010.
- TAKEUCHI, Hiroyuki et al. Usefulness of rat skin as a substitute for human skin in the in vitro skin permeation study. **Experimental Animals**, v. 60, n. 4, p. 373-384, 2011.
- TEFERA, Yonatal M. et al. The role of formulation co-ingredients in skin and glove barrier protection against organophosphate insecticides. **Pest Management Science**, v. 78, n. 1, p. 177-183, 2022.

TEIXEIRA, Mylene Nogueira. O sertão semiárido. Uma relação de sociedade e natureza numa dinâmica de organização social do espaço. **Sociedade e Estado**, v. 31, p. 769-797, 2016.

THE TOXIN AND TOXIN TARGET DATABASE, 2019. The Toxin and Toxin Target Database. Acessado em 16/01/2020 disponível em www.t3db.ca/toxins/T3D0229.

THREDGOLD, Leigh et al. Exposure of agriculture workers to pesticides: the effect of heat on protective glove performance and skin exposure to dichlorvos. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 23, p. 4798, 2019.

THUNDIYIL, Josef G. et al. Acute pesticide poisoning: a proposed classification tool. *Bulletin of the World Health Organization*, v. 86, p. 205-209, 2008.

TODO, Hiroaki. Transdermal permeation of drugs in various animal species. **Pharmaceutics**, v. 9, n. 3, p. 33, 2017.

VAN RAVENZWAAY, B.; LEIBOLD, E. A comparison between in vitro rat and human and in vivo rat skin absorption studies. **Human & experimental toxicology**, v. 23, n. 9, p. 421-430, 2004.

TORTORA, Gerard J.; DERRICKSON, Bryan. **Corpo Humano-: Fundamentos de Anatomia e Fisiologia**. Artmed Editora, 2016.

TRBOJEVICH, Raul A. et al. Comparative study of silver nanoparticle permeation using Side-Bi-Side and Franz diffusion cells. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 18, n. 3, p. 1-12, 2016.

VALLET, V. CRUZ, C., JOSSE, D., BAZIRE, A., LALLEMENT, G., & BOUDRY, et al. Penetração percutânea in vitro de compostos organofosforados usando pele de porco de espessura total e parcial e pele humana. **Toxicologia in vitro**, v. 21, n. 6, p. 1182-1190, 2007

VEIGA, Marcelo Motta et al. A contaminação por agrotóxicos e os Equipamentos de Proteção Individual (EPIs). **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 32, p. 57-68, 2007.

WADELL, Cecilia; BJÖRK, Erik; CAMBER, Ola. Nasal drug delivery—evaluation of an in vitro model using porcine nasal mucosa. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 7, n. 3, p. 197-206, 1999.

WADELL, Cecilia; BJÖRK, Erik; CAMBER, Ola. Permeability of porcine nasal mucosa correlated with human nasal absorption. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 18, n. 1, p. 47-53, 2003.

WANDERLEY, Maria de Nazareth Baudel. Raízes históricas do campesinato brasileiro. **Agricultura familiar: realidades e perspectivas**, v. 3, p. 21-55, 1999.

WERNER, Ute; KISSEL, Thomas. In-vitro cell culture models of the nasal epithelium: a comparative histochemical investigation of their suitability for drug transport studies. **Pharmaceutical research**, v. 13, n. 7, p. 978-988, 1996.

WESTER, Rebecca M. et al. Predicted chemical warfare agent VX toxicity to uniformed

soldier using parathion in vitro human skin exposure and absorption. **Toxicology and applied Pharmacology**, v. 168, n. 2, p. 149-152, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Dimethoate. World Health Organization, 1989.

World Health Organization.,1982. Field Surveys of Exposure to Pesticides. Standard Protocol VBC/82.1.

YASTRUB, Tatyana O.; OMELCHUK, Sergii T.; YASTRUB, Andrii M. Dermal absorption of diquat and potential occupational risk. **Wiad Lek**, v. 73, n. 7, p. 1459-1464, 2020.

ZSIKÓ, Stella et al. Methods to evaluate skin penetration in vitro. **Scientia Pharmaceutica**, v. 87, n. 3, p. 19, 2019.

APÊNDICE A -PRODUÇÃO CIÊNTIFICA

XII Congresso Brasileiro de Toxicologia

Resumo

Dimethoate exposition: *in vitro* x *in vivo* study

Andrade, Ana Rosa Brissant; Carvalho, Deoclécio Lustosa; Souza, Asley Thalia Medeiros; Kishishita, Juliana; Pimenta, Camila de Almeida Perez; Santana, Davi Pereira; Leal, Leila Bastos

Universidade Federal de Pernambuco (NUDFAC-UFPE), Recife, PE, Brazil.

Introduction: In developing countries, such as Brazil, family farming is responsible for the income of more than 70% of Brazilians employed in rural areas. This type of agriculture is transferred between generations and is seen by workers as safe and harmless, so that often, in addition to failing to comply with health and safety standards (indiscriminate use of pesticides, without adequate protection measures), the extensive contact of workers with different classes of pesticides exposes them to greater risk. This fact is evidenced by the records in the Notifiable Diseases Information System (Sinan), where 84,206 cases of pesticide poisoning were reported in Brazil between 2007 and 2015. **Objective:** In view of these aspects, the objective of this study was to evaluate dermal absorption of dimethoate, using *in vitro* and *in vivo* approaches, considering the environmental conditions of work in family agriculture. **Methods:** In order to evaluate dermal absorption under typical working conditions, dimethoate on clothing and stratum corneum (SC) was measured in seven rural workers during application, 1 resident and 1 researcher who monitored all applications. The evaluation was made by using eight cotton patches fixed in specific places on workers' clothing, and SC was collected in three different areas by tape stripping. The *in vivo* dermal exposure and SC penetration factor (PF) of dimethoate were calculated according to the OECD guideline No.9 (1997) modified. To correlate the results, the *in vitro* permeation test (IVPT) was performed by using rat, pig and human skin in Franz vertical diffusion cells with receptor medium of 6.0 mL, stirring at $32 \pm 1^\circ\text{C}$ and 1.77 cm^2 of permeation area. 36 μL of the Dimexion® (600 $\mu\text{g/mL}$) was applied and at 2, 4, 6, 8, 10, 12, and 24 hours, 1 mL of the receptor fluid was collected and replaced. After 6 hours, the surfaces of the skins were cleaned without stopping the test. The retention was analysed in SC and in the rest of skin. The *in vivo* study and use of human skin for IVPT was approved by CEP/ UFPE 5.007.282 as well as the use of rat skin (CEUA/ UFPE: 007/2021). The dimethoate was analysed by validated LC-MS/MS method. **Results:** In this IVPT study, excluding all tapes,

the calculated absorption data were 6.49 ± 0.04 ; 3.49 ± 0.29 and $1.79 \pm 0.19 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ from rat, pig, and human skin respectively for diluted product. The calculated absorption through the human skin was 14,75%. However, according to EFSA (2017), the default value to be used in the absence of experimental data for this commercial product is 70%. The mass balance was between 95 and 105%, demonstrating the reproducibility of the methodology. The dimethoate extracted from cotton patches in different regions of body was between 0.38 and 318,155.14 ng/cm². The calculated dermal exposure was between 0.27 and 1,353.04mg/body region and the PF (%) was between 0.06 and 25.24 in the forearms and between 0.44 and 14.44 in the back of the neck. Discussion/Conclusion: Except for the researcher, none of the workers in the study wore the appropriate clothing as described in the product package insert. These data reveal great concern about the family farm workers who have been routinely working without the proper use and care of safety equipment specifically for “pesticide applicators”. Further studies performed with other pesticides with different characteristics will contribute to the understanding of their transport through the skin. Acknowledged: CNPq and FACEPE.

APÊNDICE A- PRODUÇÃO CIÊNTIFICA

XII Congresso Brasileiro de Toxicologia

Resumo

Nasal and buccal absorption of dimethoate: *in vitro* x *in vivo* study

Andrade, Ana Rosa Brissant; Carvalho, Deoclécio Lustosa; Souza, Asley Thalia Medeiros; Kishishita, Juliana; Silva, José Wellithom Vitorino; Bedor, Danilo César Galindo; Santana, Davi Pereira; Leal, Leila Bastos
Universidade Federal de Pernambuco (NUDFAC-UFPE), Recife, PE, Brazil.

Introduction: The impact of pesticides on human health has been related by many different researchers. In developing countries, such as Brazil, the use of agrochemicals has increased considerably over the years, and thus damage to human health resulting from exposure has become greater, mainly due to a lack of and/or incomplete use of appropriate clothing as described in the product package insert, but also to a lack of good practice in the use of pesticides, especially in family farming. **Objective:** Considering the above, the objective of this work was to evaluate *in vitro* and *in vivo* dimethoate absorption through oral and nasal mucous membranes. **Methods:** The *in vitro* permeation test (IVPT) was performed in *side-by-side* diffusion cells, 3.4 mL receptor solution, stirring at 37 ± 1 °C, permeation area of 0,65cm² by using oral (cheek, sublingual, esophageal) and nasal mucosa. 7 collections at 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3 and 4h from receptor solution were made. Dimethoate retention was analysed in all mucosa. The *in vivo* study was performed by collected saliva (spit in a test tube) and collection of nasal fluid by using swabs, 30 minutes before and four hours after dimethoate application on a lemon plantation, in seven rural workers, 1 resident and 1 researcher who monitored all applications. The CEP/UFPE approval was n° 5.007.282. All dimethoate analyses were performed by validated LC-MS/MS. **Results:** The cumulative dimethoate permeation was 2.5 times greater through the esophageal compared to the buccal mucosa. However, the thickness of the buccal mucosa was about 3 times greater than that of the esophagus (356.0 ± 48.79 and 962.0 ± 80.44 mm), justifying this result. The percentage of dimethoate permeated was around 1, 2 and 8% of the amount applied, from the buccal, esophageal and sublingual mucosa respectively. The dimethoate permeated through the nasal mucosa was 3,683.28 ng/cm² after the 4-hour experiment, which means $11,08 \pm 2,04$ % of the amount applied. For the *in vivo* study, at the end of 4 hours of application, the highest amount of dimethoate in saliva was found in two workers, 3 and 6 (383.76 and 1,198.27 ng/mL) corroborating the observations by the researcher (talking

during the application and stopping the application to smoke). Dimethoate was found in the nasal fluid of three workers at concentrations of 6.17, 3.16 and 4.36 ng/ mL.

Discussion/Conclusion: According to Thredgold (2019), in agricultural settings it is reported that 90% of total pesticide exposure occurs in ways attributed to dermal absorption or ingestion, while 10% is attributed to respiratory absorption. Even so, these less important routes are also responsible for exposure of workers. The pesticide solubilized in saliva and found in nasal mucosa can be directly absorbed through the tissue. At the same time, nasal mucosa has a large contact surface and high vascularization. It is worth mentioning that a direct correlation cannot be made between the amount of dimethoate found in the participant's saliva and nasal mucosa with the IVPT results, since these fluids do not remain static in the individual during the 4 hours of work. However, these data are worrying, given that the application of pesticides is a routine activity and can have a serious impact on workers' health. A great effort in the area of education must be made in an attempt to reverse this situation. Acknowledged: CNPq and FACEPE

APÊNDICE A- PRODUÇÃO CIÊNTIFICA

Congresso Brasileiro de Ciências Farmacêuticas 2022

Foz do Iguaçu- PR

AÇÕES DE PROMOÇÃO À SAÚDE VOLTADAS PARA POPULAÇÃO EXPOSTA A AGROTÓXICOS NO MUNICÍPIO DE BELÉM DO SÃO FRANCISCO-PE

ANA ROSA BRISSANT DE ANDRADE, CAMILA DE SOUSA GOMES, DEOCLÉCIO DE CARVALHO, GABRIELA NATIELLY FONSÊCA SANTOS, ISADORA AYNNE TORRES DOS SANTOS, JOSÉ WELLITHOM VITURINO DA SILVA, LEILA BASTOS LEAL, RAQUEL FREIRE ALVES
FACULDADE DE CIÊNCIAS HUMANAS E EXATAS DO SERTÃO DO SÃO FRANCISCO,
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Introdução e Objetivos: Sabe-se que os agrotóxicos são agentes prejudiciais à saúde pública, necessitando de grande atenção e técnica durante seu manuseio. Para tal, como forma de qualificar as respostas às demandas e favorecer a execução, a fiscalização e o controle, foram implementadas ações de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos (VSPEA)/Plano Nacional de Saúde (2020-23). O objetivo é estabelecer diretrizes e orientar de forma prática, a implementação e operacionalização da Vigilância em Saúde.

Métodos: Foi feito um levantamento dos municípios prioritários do estado de Pernambuco, sendo o município de Belém do São Francisco elencado como um dos prioritários. Após a implantação da VSPEA, foi realizada a estruturação do Grupo de Trabalho envolvendo os diversos setores do município, com o intuito de elaborar plano de ação, com base nas reais necessidades, então, foi aplicado questionário com o intuito de conhecer o perfil da população exposta, como também a avaliação das áreas de risco.

Resultados e Discussão: Como resultados, é possível identificar os fatores de risco para o meio ambiente e para a saúde da população sob o uso dos agrotóxicos no município de Belém do São Francisco, onde as ações da VSPEA possibilitam a reestruturação ou estruturação dos serviços de saúde para desempenhar as atividades e medidas de vigilância e atenção integral aos indivíduos expostos a esses compostos químicos.

Conclusão: As ações da VSPEA proporcionam o monitoramento dos potenciais riscos e agravos ao ambiente e a saúde da população oriundos do uso de agrotóxicos, no município supracitado. Além disso, viabiliza identificar o perfil dos indivíduos expostos, com o intuito de qualificar a assistência à saúde, aprimorando e personalizando, conforme as necessidades identificadas.

Palavras-chave: Agrotóxicos; Saúde Pública; Vigilância em saúde

APÊNDICE A- PRODUÇÃO CIÊNTIFICA

Congresso Brasileiro de Métodos Alternativos

Rio de Janeiro- PR

AVALIAÇÃO DE AGROTÓXICO ATRAVÉS DE PERMEAÇÃO *IN VITRO* EM MUCOSAS SUÍNAS: SUBLINGUAL, ESOFÁGICA E BUCAL

Ana Rosa Brissant de Andrade LUSTOSA¹, Deoclécio Lustosa de CARVALHO², Juliana KISHISHITA¹, Asley Thalia Medeiros SOUZA¹, Yohana Souza SILVA¹, Leila Bastos LEAL¹, Davi Pereira de SANTANA¹

¹Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético (NUDFAC). Universidade Federal de Pernambuco;

²Faculdade de Ciências Humanas e Exatas do Sertão do São Francisco;

Introdução: Os agrotóxicos são utilizados para proteger as plantas de pragas. No entanto, apesar do progresso sobre implementação de tecnologias e uso de agentes químicos para controle de pragas e doenças, ainda faltam programas de requalificação e leis que protejam adequadamente o trabalhador rural. O contato físico dos trabalhadores rurais com os agrotóxicos ocorre primariamente através da pele, via inalatória e mucosa ocular, podendo provocar ardência, irritação dérmica e parestesia, além de alterações cardiovasculares, respiratórias, hematológicas e reações alérgicas.

Objetivos: Avaliar a permeação *in vitro* de Dimetoato (Dimexion®) através de mucosas esofágica, sublingual e bucal de porco, utilizando células de difusão horizontal.

Material e Métodos: Língua, bochecha e esôfago de porcos foram obtidos de um matadouro local e tratadas em laboratório. Os ensaios de permeação *in vitro* (IVPT) de mucosas da via oral (bucal e sublingual) e mucosa esofágica foram realizados através de células de difusão horizontal (PermeGear®), com compartimentos doador e receptor, mantidos sob agitação e temperatura constantes. Foram aplicados 36µL de Dimexion® (600 µg/mL) e o tempo total de ensaio foi de 4 horas. Ao final do estudo, as mucosas foram limpas com swab de álcool isopropílico, cortadas e submetidas a extração com solução de água:metanol (80:20), agitadas e sonicadas por 15 minutos, filtradas 0,45 µm e analisadas. **Resultados:** Foi possível determinar a quantidade cumulativa de dimetoato permeada e retida

em todas as mucosas após os experimentos de IVPT, onde a permeação cumulativa de dimetoato foi 2,5 vezes maior na mucosa esofágica em comparação com a mucosa bucal. Além disso, a espessura da mucosa bucal foi cerca de 3 vezes maior que a esofágica (356,0 ± 48,79 e 962,0 ± 80,44 mm), justificando, em parte, esse resultado.

Conclusão: Desta forma, os estudos de permeação *in vitro* realizados com mucosas orais, embora avalie uma exposição pouco frequente, são de extrema importância para mensurar as quantidades de agrotóxicos passíveis de absorção por estas vias, uma vez que a exposição ocupacional pela via oral ocorre quando os trabalhadores rurais manipulam o agrotóxico.

Palavras-chave: Agrotóxicos; Alternativas *in vitro*; Mucosas suínas.

Órgãos de fomento ou financiadores: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Instituto Nacional de Ciência Tecnologia – Rede Norte Nordeste de Fitoprodutos (Projeto 465536/2014-0).

APÊNDICE A- PRODUÇÃO CIÊNCIA

Congresso Brasileiro de Métodos Alternativos

Rio de Janeiro- RJ

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ABSORÇÃO CUTÂNEA DE PRODUTO AGROTÓXICO A PARTIR DE MEMBRANAS ANIMAIS E HUMANAS

Ana Rosa Brissant de Andrade LUSTOSA¹, Deoclécio Lustosa de CARVALHO², Juliana KISHISHITA¹, Asley Thalia Medeiros SOUZA¹, Yohana Souza SILVA¹, Leila Bastos LEAL¹, Davi Pereira de SANTANA¹

¹Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético (NUDFAC). Universidade Federal de Pernambuco;

²Faculdade de Ciências Humanas e Exatas do Sertão do São Francisco.

Introdução: Os agrotóxicos são substâncias empregadas na agricultura para proteger as plantas contra pragas e promover alto rendimento das culturas e seus derivados. No entanto, o contato dos trabalhadores rurais com estes produtos, primariamente através da pele, via inalatória e mucosa ocular, pode expô-los a inúmeros riscos à saúde.

Objetivos: O estudo teve como objetivo realizar permeações *in vitro* (IVPT) de Dimetoato (Dimexion ®) através de peles humana, de porco e de rato, visando simular uma possível exposição dérmica de trabalhadores agrícolas. **Material e**

Métodos: O IVPT foi realizado aplicando uma dose de 36 µL de Dimexion ® (600µg/mL) nas peles, as células foram preenchidas com 6mL de líquido receptor (LR), que ficaram sob agitação à 32±1°C. Em tempos pré-determinados, 1mL do LR foi coletado e substituído com mesmo volume.

Após 6h, as superfícies das peles foram limpas com algodão embebido em álcool isopropílico 70%, sem interromper o teste. Ao fim de 24h, as peles foram retiradas e limpas, o estrato córneo (EC) foi retirado e a quantificação do dimetoato foi feita por cromatografia líquida acoplada a espectrofotômetro de massas. **Resultados:**

Ao final dos experimentos, foi possível calcular o balanço de massas para os três tipos de pele, com recuperação entre 95% e 105%, demonstrando reprodutibilidade na metodologia. O fluxo de permeação de dimetoato (ng/cm²/h) foi maior até 6h (tempo de contato), comparado ao restante do tempo do experimento. Neste estudo, os dados de absorção cutânea calculados foram 6,49±0,04; 3,49±0,29 e 1,79±0,19 ng/cm²

para pele de rato, porco e humana, respectivamente, e o percentual de absorção calculado através da pele humana foi de 14,75% da formulação aplicada. **Conclusão:** Embora os modelos de pele de porco sejam bastante utilizados na avaliação de medicamentos, a legislação brasileira em vigor para agrotóxicos estabelece que os estudos de absorção dérmica sejam realizados *in vitro* com pele humana ou através de procedimento *triple pack*. Os resultados obtidos neste estudo reforçam este direcionamento.

Palavras-chave: Agricultura familiar. Agrotóxicos. Alternativas *in vitro*. Células de Franz.

Órgãos de fomento ou financiadores: Instituto Nacional de Ciência Tecnologia – Rede Norte Nordeste de Fitoprodutos (Projeto 465536/2014-0).

ARTIGO CIENTÍFICO

Environmental Toxicology and Pharmacology 95 (2022) 103961



Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Toxicology and Pharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/etap



Dimethoate absorption: A complementary in vitro and in vivo assessment

Ana Rosa Brissant de Andrade, Deoclécio Lustosa de Carvalho, Juliana Kishishita, Camila de Almeida Perez Pimenta, Asley Thalia Medeiros Souza, Davi Pereira de Santana, Leila Bastos Leal*

Universidade Federal de Pernambuco, Departamento Ciências Farmacéuticas, CEP: 50740-520 Recife, PE, Brazil

ARTICLE INFO

Edited by Dr. Ayse Inank Engin

Key words:

Pesticides
Cutaneous absorption
Family farmers
Human skin
IVPT
IVRT
Tape stripping

ABSTRACT

This work attempts to evaluate dermal exposure (DE) of farm workers to dimethoate after 4 h of routine application to a lemon plantation. Dimethoate was measured on the workers' clothes as well as in stratum corneum (SC) and in saliva. *In vitro* permeation tests (IVPT) were performed through rat, pig and human skin and pig buccal, esophageal and sublingual mucosae. The mean of dimethoate DE was 342.19 ± 487.14 mg/d, the percentage of toxic dose per hour was higher than the other pesticides, and the SC penetration factors ranged between 0.5 and 14.81 and 0.05–53.96 % for back of neck and arms respectively. In the supporting IVPT study, dimethoate absorption through human skin was 14.75 % and the default value in the absence of experimental data for this product is 70%. These results show that in family farming the deficiency of correct clothing during the application of pesticides leaves workers more vulnerable.

1. Introduction

Agrochemicals are a group of products used to protect crops and desirable or useful plants. Although developed to pose a minimal risk to health and the environment, it is estimated that more than 3 million people worldwide are exposed to pesticides resulting in over 300,000 deaths every year (Bertolote et al., 2006; Damalas and Eleftherohorinos, 2011).

Pesticides are widely used in agriculture to protect plants from harmful and unwanted pests, weeds and fungi, and to promote a high yield of crops and their products (Sahin, 2021). Exposure to organophosphate-type pesticides is estimated to cause more than 100,000 deaths and 2 million hospital admissions every year, almost all in low- and middle-income countries (Eddleston, 2020).

In developing countries, agriculture is mainly family-based. In Brazil, this modality is responsible for the income of 40 % of the economically active population and for more than 70 % of Brazilians employed in the countryside (Brasil, 2019). This type of agriculture is transferred from generation to generation, and seen by workers as safe and harmless. Therefore, often, in addition to non-compliance with health and safety standards (indiscriminate use of pesticides, without adequate protection measures), the extensive contact of rural workers with different classes of pesticides exposes them to a greater risk (Beschie and Ibitayo, 2011;

Damalas and Abdollahzadeh, 2016). This can be easily evidenced through the registration of 84,206 notifications of cases of pesticide poisoning in Brazil between 2007 and 2015, through the Information System of Notifiable Diseases (Sinan) (Brasil, 2018). However, according to the Brazilian Ministry of Health, for each notified case, it is estimated that there are 50 unnotified, increasing these values/numbers to about 480,000 cases (Peres and Moreira, 2003). Given the above, especially in developing countries, carrying out studies that assess the working conditions of this population is urgent and necessary (Muttaray et al., 2006; An et al., 2014; Cao et al., 2015; Damalas and Abdollahzadeh, 2016).

An *in vivo* study carried out by our research group in the São Francisco Valley region, Brazil, De Araujo Cardoso et al. (2020), despite comprising only three workers, showed that the evaluations of exposure and dermal absorption of pesticides demonstrated close agreement with an *in vitro* pig skin procedure.

Consequently, this *in vivo* study aimed to extend previous research using the same pesticide (dimethoate) but expanding the scope of the study to include a greater number of family farm workers and evaluation of dermal exposure associated with evaluation of dimethoate in saliva after four hours of routine pesticide application. In the *in vitro* permeation study (IVPT), dimethoate permeation through human, rat and pig skins was compared. In addition, permeation through the buccal,

* Correspondence to: Departamento Ciências Farmacéuticas, Universidade Federal de Pernambuco, CEP: 50740-520 Recife, PE, Brazil.
E-mail address: leila.leal@ufpe.br (L.B. Leal).

<https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.103961>

Received 13 April 2022; Received in revised form 23 July 2022; Accepted 17 August 2022

Available online 19 August 2022

1382-6689/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

APÊNDICE B

*Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético*

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa **PERMEACÃO TRANSMUCOSA E CUTÂNEA DE PESTICIDAS: AVALIAÇÃO *IN VIVO* x *IN VITRO* E SEUS IMPACTOS NA SAÚDE**, que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) **ANA ROSA BRISSANT DE ANDRADE**, Rua Professor Antônio Coelho, 931, apto 201, CEP: 50740-020, Telefone: 081- 99604-1733, e-mail: ana_brissant@hotmail.com.

Também participam desta pesquisa os pesquisadores: Deoclécio Lustosa de Carvalho Telefones para contato: 81-99732-7561 e está sob a orientação de Leila Bastos Leal Telefone: 81- 99451-6044, e-mail leila.leal@nudfac.com

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

O (a) senhor (a) estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Descrição da pesquisa e esclarecimento da participação: Alguns defensores agrícolas do tipo organofosforado, possuem um de amplo espectro de atuação, sendo capazes de penetrar no corpo através da ingestão, inalação e contato com a pele e mucosas, tendo então um alto potencial de intoxicação. Diante dos estudos, deverá ser possível entender como alguns inseticidas atuam e como podem prejudicar o nosso organismo, pelas mais diversas vias de acesso, além disso, é possível verificar que muitos trabalhadores da agricultura familiar não usam EPI adequados, o que o torna mais propício a intoxicação a longo prazo, devido a exposição. Um dos objetivos é verificar a passagem transmucosa e cutânea de defensores agrícolas utilizado em agricultura familiar, através de estudos de permeação *in vitro* e *in vivo*, sendo assim, para fazer essas pesquisas, **PRECISAMOS DE PELES HUMANAS**, que serão descartadas após o procedimento de abdominoplastia e mamoplastia redutora pois, pele de animais como o porco ou rato, apresentam diferenças em relação a pele humana.

➤ Esclarecimento do período de participação do voluntário na pesquisa, início, término e número de visitas para a pesquisa.

Cabe a você decidir se deve ou não participar deste estudo. Se você concordar em participar, o procedimento será da seguinte maneira:

- 1- Você receberá uma cópia desta folha de informações para ler e guardar;
- 2- Após a leitura, caso você concorde em participar da pesquisa, será necessário assinar este termo;
- 3- No dia da cirurgia, conforme agendamento realizado pelo setor de cirurgia plástica da UFPE, os restos de pele após procedimento de abdominoplastia e mamoplastia redutora serão separados pelo enfermeiro e colocados em um isopor que será coletado por um participante de nossa equipe de pesquisa e levado ao nosso laboratório (NUDFAC), no Depto de Ciências Farmacêuticas da UFPE.
- 4- Suas peles cedidas serão anônimas e identificadas com um código: Sujeito 1 / AB 1 ou MR1, Sujeito 2 / AB 2 ou MR2, e assim por diante. O pesquisador registrará a data da doação, seu nome, idade e sexo. Toda essa informação será mantida separadamente das peles, para que não seja possível identificar o doador de cada amostra. O pesquisador manterá essas informações com segurança.
- 5- O procedimento de doação de pele não causará nenhum prejuízo, como o aumento no tempo da cirurgia. Assim que a pele seja coletada, sua participação será considerada finalizada.
- 6- Sua pele será utilizada logo após a chegada da mesma no NUDFAC e, se necessário, armazenada em Freezer -70C° por um período de até 7 dias. Uma vez finalizado o estudo, ela será colocada em local específico para **descarte de produtos biológicos**.

➤ RISCOS diretos

Para a realização da coleta da pele humana, dentre os riscos potenciais envolvidos, não é esperado que a doação cause mais dor ou desconforto, além daquele oriundo do procedimento cirúrgico ao qual será submetido, outros riscos podem que podem estar associados ao doador seria um sentimento de angústia ou não aceitação, por exemplo do uso de parte de sua pele para avaliação de agrotóxicos. No entanto, será claramente explicitado para o participante da pesquisa sobre a não obrigatoriedade de sua participação.

➤ **BENEFÍCIOS diretos e indiretos**

Não há benefício direto para você como resultado de sua participação. Este é um estudo que nos ajudará a avaliar a passagem cutânea e transcutânea de agrotóxicos. Desta forma, existe um benefício potencial para o público em geral no futuro, especialmente para aqueles que expostos a agrotóxicos. A longo prazo, a diminuição da exposição aos defensores, evitará o surgimento de doenças em potencial.

Esclarecemos que os participantes dessa pesquisa têm plena liberdade de se recusar a participar do estudo e que esta decisão não acarretará penalização por parte dos pesquisadores. Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (amostras biológicas quantificadas por cromatografia líquida de ultra eficiência), ficarão armazenados em pasta de arquivo de computador pessoal, CD e pen drive sob a responsabilidade do pesquisador, no endereço Rua Professor Antônio Coelho, 931, 201. Várzea, Recife- PE pelo período de mínimo 5 anos

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação).

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, o (a) senhor (a) poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: **(Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cephumanos.ufpe@ufpe.br).**

(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo PERMEAÇÃO TRANSMUCOSA E CUTÂNEA DE PESTICIDAS: AVALIAÇÃO *IN VIVO* x *IN VITRO* E SEUS IMPACTOS NA SAÚDE, que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) ANA ROSA BRISSANT DE ANDRADE como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento).

Local e data _____

Assinatura do participante: _____

Impressão digital
(opcional)



Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

APÊNDICE C

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS)**

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa PERMEACÃO TRANSMUCOSA E CUTÂNEA DE PESTICIDAS: AVALIAÇÃO *IN VIVO* x *IN VITRO* E SEUS IMPACTOS NA SAÚDE, que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) ANA ROSA BRISSANT DE ANDR

ADE, Rua Professor Antônio Coelho, 931, apto 201, CEP: 50740-020, Telefone: 081- 99604-1733, e-mail: ana_brissant@hotmail.com.

Também participam desta pesquisa os pesquisadores: Deoclécio Lustosa de Carvalho Telefones para contato: 81-99732-7561 e está sob a orientação de: Leila Bastos Leal Telefone: 81- 99451-6044, e-mail leila.leal@nudfac.com

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

O (a) senhor (a) estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

- **Descrição da pesquisa e esclarecimento da participação:** Alguns defensores agrícolas do tipo organofosforado, possuem um de amplo espectro de atuação, sendo capazes de penetrar no corpo através da ingestão, inalação e contato com a pele e mucosas, tendo então um alto potencial de intoxicação. Diante dos estudos, deverá ser possível entender como alguns inseticidas atuam e como podem prejudicar o nosso organismo, pelas mais diversas vias de acesso, além disso, é possível verificar que muitos trabalhadores da agricultura familiar não usam EPI adequados, o que o torna mais propício a intoxicação a longo prazo, devido a exposição. **OBJETIVO** Verificar a passagem transmucosa de defensores agrícolas utilizado em agricultura familiar, através de estudos de permeação *in vitro* e *in vivo*. Para esta pesquisa, o voluntário permitirá que os pesquisadores colem amostras da saliva, extrato córneo (tape-stripping), lágrima e mucosa nasal através de contato com swab, além disso, serão adicionadas seções de algodão às roupas dos trabalhadores, para mimetizar o tecido, e assim verificar a absorção de produto aplicado. Para verificar a impregnação do agrotóxico (dimetoato) durante o processo de aplicação, a coletado estrato córneo será feita através da técnica de tape-stripping, que consiste na retirada das camadas de estrato córneo, através de fitas adesivas, essa retirada será feita nas superfícies das mãos, nos antebraços, no ombro e na nuca. Para as coletas de lágrima e muco nasal, serão utilizados swabs estéreis, fazendo fricção leve e superficial com as mucosas, e para a coleta da saliva, o trabalhador deverá cuspir em tubo graduado de propileno, estéril e resistente a solvente. As coletas deverão ser realizadas após a aplicação do agrotóxico, sendo esta aplicação uma rotina normal de trabalho, onde o pesquisador não interfere. Ocorrendo então de forma presencial, um voluntário por vez, em local arejado e na sede das propriedades de pesquisa. O tempo para realização das coletas será de quinze minutos, por voluntário. Para ter um resultado condizente com a realidade, os pesquisadores solicitam aos voluntários que mantenham os hábitos das suas rotinas de trabalho, no momento que antecede a coleta.

Riscos: As coletas dos materiais serão realizadas de forma presencial, entretanto, serão adotadas pelos pesquisadores todas as medidas cabíveis para minimizar possíveis riscos, como o uso obrigatório de máscaras, Face Shield, batas descartáveis e uso de álcool 70% sempre que necessário. Para a realização das coletas muco nasal e lágrima, podem haver leve desconforto, entretanto, para a coleta da saliva, os voluntários podem se sentir constrangidos, para minimizar este constrangimento, eles farão o procedimento (cuspir em tudo de PVC graduado, Falcon) de forma isolada.

Benefícios: Caso seja detectada a presença de resíduos de agrotóxicos nos voluntários, haverá o contato com o mesmo afim de orientá-los para minimizar ou extinguir a exposição aos defensores agrícolas, principalmente sobre o uso correto dos equipamentos de proteção individual. A longo prazo, a diminuição da exposição aos defensores, evitará o surgimento de doenças em potencial.

Esclarecemos que os participantes dessa pesquisa têm plena liberdade de se recusar a participar do estudo e que esta decisão não acarretará penalização por parte dos pesquisadores. Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (amostras biológicas quantificadas por cromatografia líquida de ultra eficiência), ficarão armazenados em pasta de arquivo de computador pessoal, CD e pen drive sob a responsabilidade do pesquisador, no endereço Rua Professor Antônio Coelho, 931, 201. Várzea, Recife- PE pelo período de mínimo 5 anos

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação).

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, o (a) senhor (a) poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (**Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cephumanos.ufpe@ufpe.br**).

(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo PERMEAÇÃO TRANSMUCOSA E CUTÂNEA DE PESTICIDAS: AVALIAÇÃO *IN VIVO* x *IN VITRO* E SEUS IMPACTOS NA SAÚDE, que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) ANA ROSA BRISSANT DE ANDRADE como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento).

Local e data _____

Assinatura do participante: _____

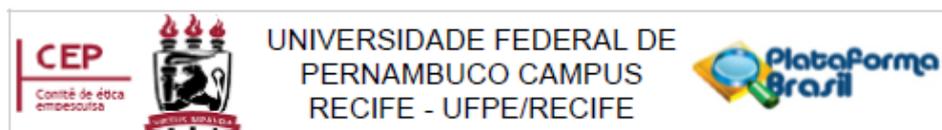
Impressão digital
(opcional)



Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

ANEXO I



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: PERMEÇÃO TRANSMUCOSA E CUTÂNEA DE PESTICIDAS: AVALIAÇÃO IN VIVO x IN VITRO E SEUS IMPACTOS NA SAÚDE

Pesquisador: ANA ROSA BRISSANT DE ANDRADE LUSTOSA

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 44801721.5.0000.5208

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.170.336

Apresentação do Projeto:

O projeto intitula-se "Permeação transmucosa e cutânea de pesticidas: avaliação in vivo x in vitro e seus impactos na saúde. Tem como pesquisadora responsável Ana Rosa Brissant de Andrade Lustosa doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, Centro de Ciências da Saúde. A orientação será da Professora Leila Bastos Leal do Departamento de Farmácia da UFPE.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Verificar a passagem transmucosa e cutânea de defensores agrícolas utilizado em agricultura familiar, através de estudos de permeação in vitro e in vivo.

Objetivo Secundário:

-Avaliar a permeação in vitro dos defensores agrícolas (Dimetoato) em estudo, através de mucosas de porco esofágica, bucal (sublingual e bochecha) e nasal dos defensores, utilizando células de difusão vertical de Franz e células de Franz com adaptador Perme Gear;- Avaliar a permeação in vitro dos defensores agrícolas em estudo, através da pele da orelha do porco pele de rato e pele humana,utilizando células de difusão vertical de Franz;- Avaliar concentração in vivo dos defensores agrícolas em estrato córneo através da técnica de tapestripping;-Avaliar concentração



ANEXO II

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n

50670-420 / Recife – PE – Brasil
Fones: 2126 8842 ceua@ufpe.br

Recife, 08 de setembro de 2021 Ofício nº61/21

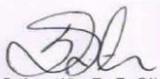
Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Prof. Leila Bastos Leal
Departamento de Farmácia Centro de Ciências da Saúde
processo nº007/2021

Certificamos que a proposta intitulada “Aspectos críticos relacionados à absorção dérmica de pesticidas: avaliação de risco”, registrado com o nº007/2021 sob a responsabilidade da Prof. Leila Bastos Leal envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 31/08/2021

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	31/08/2021 a 30/01/2022
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogenico
Nº de animais	03
Peso/Idade	200-300 g
Sexo	Macho (03)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Depto de Antibióticos/ CB/ UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Depto de Antibióticos/ CB/ UFPE

Atenciosamente


Prof. Sebastião R. F. Silva
Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691

