



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

THELMA HELENA INAZAKI

**AVALIAÇÃO DO RISCO DIETÉTICO E OCUPACIONAL
PARA A POPULAÇÃO EXPOSTA AO AGROTÓXICO
ORGANOCLODRADO DICOFOL NO BRASIL**

Londrina
2013

THELMA HELENA INAZAKI

**AVALIAÇÃO DO RISCO DIETÉTICO E OCUPACIONAL
PARA A POPULAÇÃO EXPOSTA AO AGROTÓXICO
ORGANOCLOorado DICOFOL NO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Curso de
Toxicologia Aplicada à Vigilância Sanitária da
Universidade Estadual de Londrina.

Orientadora: Profa. Dra. Estefânia Gastaldello
Moreira

Londrina
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

I35a Inazaki, Thelma Helena.
Avaliação do risco dietético e ocupacional para a população exposta ao agrotóxico organoclorado dicofol no Brasil / Thelma Helena Inazaki. – Londrina, 2013.
141 f. : il.

Orientador: Estefânia Gastaldello Moreira.
Dissertação (Mestrado Profissional em Toxicologia Aplicada à Vigilância Sanitária) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Toxicologia Aplicada à Vigilância Sanitária, 2013.
Inclui bibliografia.

1. Produtos químicos agrícolas – Toxicologia – Teses. 2. Pesticidas – Avaliação de riscos de saúde – Teses. 3. Pesticidas – Resíduos em alimentos – Teses. 4. Saúde e Trabalho – Teses. 5. Desreguladores endócrinos – Teses. I. Moreira, Estefânia Gastaldello. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Toxicologia Aplicada à Vigilância Sanitária. III. Título.

CDU 615.9: 632.95

THELMA HELENA INAZAKI

**AVALIAÇÃO DO RISCO DIETÉTICO E OCUPACIONAL PARA A
POPULAÇÃO EXPOSTA AO AGROTÓXICO ORGANOCLODRADO
DICOFOL NO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Curso de
Toxicologia Aplicada à Vigilância Sanitária da
Universidade Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Estefânia Gastaldello
Moreira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Monica Maria Bastos Paoliello
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Eloísa Dutra Caldas
Universidade de Brasília – UnB

Londrina, 19 de fevereiro de 2013.

AGRADECIMENTOS

À Gerência Geral de Toxicologia da Agência Nacional de Vigilância Sanitária e à Universidade Estadual de Londrina, pela idealização e concretização do Curso de Mestrado Profissionalizante em Toxicologia Aplicada à Vigilância Sanitária.

À Professora Dra. Estefânia Gastaldello Moreira, pela competência e compreensão durante a orientação na dissertação.

À Professora Dra. Monica Maria Bastos Paoliello, pela dedicação na coordenação do Curso e pelas contribuições na dissertação.

À Professora Dra. Eloísa Dutra Caldas, pela oportunidade de realizar o estágio fora de sede no Laboratório de Toxicologia da Universidade de Brasília e pelas contribuições na dissertação.

Ao colega Marcus Venicius Pires, pelo auxílio na extração dos dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares do IBGE.

Aos demais colegas do curso, pela companhia durante o cumprimento das disciplinas.

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

INAZAKI, Thelma Helena. **Avaliação do risco dietético e ocupacional para a população exposta ao agrotóxico organoclorado dicofol no Brasil.** 2013. 141f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia Aplicada à Vigilância Sanitária) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

RESUMO

O ingrediente ativo dicofol (nome químico: 2,2,2-trichloro-1,1-bis(4-chlorophenyl) ethanol) é um agrotóxico que pertence ao grupo químico dos organoclorados e à classe de uso dos acaricidas. O dicofol é estruturalmente similar ao DDT e por isso tem sido considerado um potencial composto desregulador endócrino. O dicofol foi banido no Japão e na União Européia devido aos riscos à saúde e ao ambiente, e nos Estados Unidos foi cancelado voluntariamente pelos registrantes. O dicofol foi avaliado no âmbito da Convenção de Estocolmo se ele poderia ser uma alternativa de uso ao endosulfan, e verificou-se que ele reunia os critérios para classificá-lo como Poluente Orgânico Persistente (POP). Os objetivos gerais deste estudo foram avaliar o risco dietético e ocupacional do dicofol, por meio da identificação do perigo, caracterização do perigo, avaliação da exposição e caracterização dos riscos. O resultado da identificação e caracterização do perigo do dicofol, juntamente com a aplicação do esquema em etapas para avaliação de compostos desreguladores endócrinos proposto conjuntamente pela Alemanha e Reino Unido, indicou que o dicofol pode ser considerado um composto desregulador endócrino. A caracterização do risco à saúde da população pelo consumo crônico de alimentos com resíduos de dicofol foi feita calculando o seu impacto na ingesta diária aceitável (IDA). Os resultados indicaram riscos aceitáveis, considerando os dados de consumo alimentar da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF 2008 - 2009) e os dados de monitoramento do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA 2009 - 2011). A caracterização do risco ocupacional pelo uso de produtos formulados contendo dicofol nas culturas de algodão, citros e maçã foi feita por meio da abordagem da Margem de Exposição (MOE). Os resultados indicaram que os principais cenários de exposição brasileiros, ou seja, aplicação com equipamento costal e com trator de cabine aberta oferecem riscos inaceitáveis à saúde, mesmo com o uso de medidas de minimização da exposição, ou seja, uso de vestimenta de proteção e luvas.

Palavras-chave: Dicofol. Avaliação do risco ocupacional. Avaliação do risco dietético. Desregulador endócrino.

INAZAKI, Thelma Helena. **Dietary and occupational human health risk assessment of organochlorine dicofol in Brazil**. 2013. 141p. Dissertation (Master's Degree in Toxicology Applied to Health Surveillance) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brazil.

ABSTRACT

The active ingredient dicofol (chemical name: 2,2,2-Trichloro-1,1-bis (4-chlorophenyl) ethanol) is an acaricide belonging to the organochlorine chemical group. Dicofol is structurally similar to DDT and therefore it has been suggested as a potential endocrine disrupter compound. Dicofol was banned in Japan and in the European Union because of the risks to human health and to the environment, and in the United States it was voluntarily canceled by the registrants. Dicofol was evaluated under the Stockholm Convention as an alternative to endosulfan, and it met the criteria to be classified as a Persistent Organic Pollutant (POP). The aims of this study were to evaluate the dietary and occupational risks of dicofol, through the human health risk assessment steps: hazard identification, hazard characterization, exposure assessment and risk characterization. The result of the hazard identification and hazard characterization of dicofol, along with the implementation of the tiered evaluation scheme to evaluate endocrine disrupter compounds proposed by Germany and UK indicated that dicofol can be considered an endocrine disrupter compound. The dietary risk characterization to public health by chronic food consumption with residues of dicofol was made by calculating the impact on the acceptable daily intake (ADI) and the results indicated acceptable risks, considering the consumption data from the Household Budget Survey (POF 2008 - 2009) and monitoring data from Brazilian Program on Pesticide Residue Analysis in Food (PARA 2009 - 2011). Occupational risk characterization through the use of formulated products containing dicofol in cotton, citrus and apple was made by using the Margin of Exposure (MOE) approach and the results indicated that the main Brazilian exposure scenarios, i.e., pesticide application with backpack equipment and open cab tractor offer unacceptable risks to operators, even with measures to minimize the exposure, i.e., use of personal protective clothing and gloves.

Key-words: Dicofol. Occupational risk assessment. Dietary risk assessment. Endocrine disrupter.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estruturas químicas do o,p'-dicofol e p,p'-dicofol	32
Figura 2 – Estruturas químicas dos organoclorados do p,p'-DDT e do dicofol.....	32
Figura 3 – Metabolismo do dicofol em ratos.....	35
Figura 4 – Esquema de avaliação em etapas para identificação de compostos desreguladores endócrinos	84
Figura 5 – Toxicologia endócrina no eixo hipotálamo – pituitária – córtex da adrenal	90
Figura 6 – Proposta da via de degradação do dicofol	114

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Paradigma da avaliação do risco.....	23
Quadro 2 – Critérios para o cálculo dos resíduos médios nas amostras do PARA.....	28
Quadro 3 – Doses limiares STOT-RE para estudos sub-agudos e outros estudos de curto prazo	93
Quadro 4 – Doses limiares STOT-RE para estudos subcrônicos e outros estudos de médio prazo	93
Quadro 5 – Doses limiares STOT-RE para estudos crônicos.....	93
Quadro 6 – Produtos formulados à base de dicofol registrados no Brasil e recomendações de uso	101
Quadro 7 – Valores de área máxima tratada por dia.....	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Toxicidade aguda do produto técnico dicofol.....	42
Tabela 2 – Resumo dos principais efeitos adversos observados nos animais tratados com dicofol, que podem ter relação com a desregulação do sistema endócrino.....	85
Tabela 3 – Resumo dos estudos mecanísticos	87
Tabela 4 – Resumo dos estudos de genotoxicidade/mutagenicidade, subcrônicos, crônicos, de toxicidade reprodutiva, de toxicidade sobre o desenvolvimento e de neurotoxicidade.....	95
Tabela 5 – Resultados dos dados de monitoramento de resíduos de dicofol em alguns dos alimentos monitorados no PARA no período de 2009* a 2011**	99
Tabela 6 – Cálculo da ingestão diária de dicofol considerando o LMR e seu impacto na IDA (em porcentagem).....	106
Tabela 7 – Cálculo da ingestão diária de dicofol considerando os resíduos médios do PARA 2009-2011 e seu impacto na IDA (em porcentagem).....	109
Tabela 8 – Valores da Margem de Exposição (MOE) nos diferentes cenários de exposição ocupacional para a cultura do algodão	116
Tabela 9 – Valores da Margem de Exposição (MOE) nos diferentes cenários de exposição ocupacional para a cultura de citros	119
Tabela 10 – Valores da Margem de Exposição (MOE) nos diferentes cenários de exposição ocupacional para a cultura de maçã.....	122

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	- hormônio adrenocorticotrófico (<i>adrenocorticotrophic hormone</i>)
aER	- receptor de estrogênio de crocodilos (<i>alligator estrogen receptor</i>)
AGROFIT	- Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários
AhR	- receptor de hidrocarbonetos de arila (<i>aryl hydrocarbon receptor</i>)
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ARfD	- Dose de Referência Aguda (<i>Acute Reference Dose</i>)
ASD	- doenças do tipo autismo (<i>autism spectrum disorders</i>)
AVP	- arginina vasopressina ou hormônio antidiurético
BPA	- Boas Práticas Agrícolas
CL ₅₀	- Concentração Letal 50%
CE ₅₀	- Concentração Efetiva 50%
SNC	- sistema nervoso central
CRH	- hormônio liberador de corticotrofina (<i>Corticotropin-releasing hormone</i>)
CXL	- limite máximo de resíduos do Codex (<i>Codex maximum residue limit</i>)
DBA	- ácido 4,4'-diclorobenzílico (<i>4,4'-dichlorobenzilic acid</i>)
DCBP	- diclorobenzofenona (<i>dichlorobenzophenone</i>)
DDD	- dicloro-difenil-dicloroetano
DDE	- dicloro-difenil-dicloroetileno
DDT	- dicloro-difenil-tricloroetano
DL ₅₀	- Dose Letal 50%
E2	- 17-beta-estradiol
ECETOC	- Centro Europeu para Ecotoxicologia e Toxicologia de Compostos Químicos (<i>European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals</i>)
EDD	- Exposição Diária Dérmica
EDI	- Exposição Diária Inalatória
EDSP	- Programa de Avaliação de Desreguladores Endócrinos (<i>Endocrine Disruptor Screening Program</i>)
EFSA	- Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (<i>European Food Safety Authority</i>)
EPA	- Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (<i>United States Environmental Protection Agency</i>)

F	- Fêmeas
FAO	- Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>)
FI	- Fator de incerteza
FW152	- 1-(2-chlorophenyl)-1-(4'-chlorophenyl)-2,2-dichloroethanol
GGTOX	- Gerência Geral de Toxicologia da ANVISA
hER	- receptor de estrogênio em humanos (<i>human estrogen receptor</i>)
hAR	- receptor de androgênio em humanos (<i>human androgen receptor</i>)
hPXR	- receptor pregnano X em humanos (<i>human pregnane X receptor</i>)
HPA	- eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (<i>hypothalamic–pituitary–adrenal axis</i>)
HPT	- eixo hipotálamo-pituitária-tireóide (<i>hypothalamic–pituitary–thyroid axis</i>)
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC ₅₀	- Concentração inibitória 50% (<i>Inhibitory Concentration 50%</i>)
IDA	- Ingestão Diária Aceitável
IDMT	- Ingestão Diária Máxima Teórica
IPCS	Programa Internacional de Segurança Química (<i>International Programme on Chemical Safety</i>)
ISO	- Organização Internacional para Padronização (<i>International Standards Organization</i>)
IUPAC	- União Internacional de Química Pura e Aplicada (<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
kg i.a./ha	- kg de ingrediente ativo/hectare
lb i.a./A	- libra de ingrediente ativo/acre
LBD	- domínio de ligação ao ligante (<i>ligand binding domain</i>)
LMR	- limite máximo de resíduos
LOD	- limite de detecção (<i>limit of detection</i>)
LOQ	- limite de quantificação (<i>limit of quantification</i>)
LOEL	- menor dose com efeitos (<i>lower observed effect level</i>)
LOAEL	- menor dose com efeitos adversos (<i>lower observed adverse effect level</i>)
M	- Machos
MAPA	- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MCH	- hemoglobina corpuscular média (<i>mean corpuscular hemoglobin</i>)
MCV	- volume corpuscular médio (<i>mean corpuscular volume</i>)
MFO	- oxidases de função mista (<i>mixed function oxidase</i>)
mg/kg p.c./dia	- miligramas de dicofol/kilo de peso corpóreo/dia
MOE	- margem de exposição (<i>margin of exposure</i>)

MOE _T	- margem de exposição agregada (<i>total margin of exposure</i>)
mPXR	- receptor pregnano X em camundongos (<i>mouse pregnane X receptor</i>)
NCI	- Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos (<i>U.S. National Cancer Institute</i>)
NOEL	- maior dose sem efeitos (<i>no observed effect level</i>)
NOAEL	- maior dose sem efeitos adversos (<i>no observed adverse effect level</i>)
OR	- razão de chances (<i>odds ratio</i>)
PAN	- Rede de Ação de Agrotóxicos (<i>Pesticide Action Network</i>)
PARA	- Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
PHED	- Base de Dados sobre Exposição dos Manipuladores de Agrotóxicos (<i>Pesticide Handlers Exposure Database</i>)
POF	- Pesquisa de Orçamentos Familiares
POP	- poluente orgânico persistente
PPAR	- receptor ativado por proliferadores de peroxissomos (<i>peroxisome proliferator-activated receptors</i>)
PXR	- receptor pregnano X (<i>pregnane X receptor</i>)
RDC	- Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA
REC ₂₀	- concentração do dicofol que apresentou 20% da atividade agonista do controle positivo
RLA	- atividade relativa de luciferase (<i>relative luciferase activity</i>)
STOT-RE Cat 1 ou Cat2	- toxicidade de órgão-alvo específico – exposição repetida - Categoria 1 ou 2 (<i>Specific Target Organ Toxicity Category 1 ou 2</i>)
T3	- Triiodotironina
T4	- Tiroxina
TBG	- globulinas ligantes de tiroxina
TR	- receptor de hormônio da tireóide (<i>thyroid receptor</i>)
TTR	- Transtirretinas
UNEP	- Programa para o Meio Ambiente das Nações Unidas (<i>United Nations Environment Programme</i>)
WHO	- Organização Mundial da Saúde (<i>World Health Organization</i>)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	JUSTIFICATIVA	20
3	OBJETIVOS	22
4	METODOLOGIA	23
4.1	IDENTIFICAÇÃO DO PERIGO	24
4.2	CARACTERIZAÇÃO DO PERIGO	25
4.3	AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO	25
4.3.1	Avaliação da Exposição Dietética	26
4.3.1.1	Estimativa do consumo dos alimentos e do peso corpóreo	26
4.3.1.2	Estimativa dos resíduos de dicofol nos alimentos	27
4.3.2	Avaliação da Exposição Ocupacional	28
4.3.2.1	Unidades de exposição	29
4.3.2.2	Dose máxima de aplicação	29
4.3.2.3	Área máxima tratada por dia	30
4.3.2.4	Absorção dérmica e inalatória	30
4.3.2.5	Peso corpóreo	30
4.4	CARACTERIZAÇÃO DO RISCO	31
5	RESULTADOS	32
5.1	IDENTIFICAÇÃO DO PERIGO	32
5.1.1	Identidade Química	32
5.1.2	Estudos de Toxicocinética	33
5.1.3	Estudos para Avaliação da Atividade Enzimática	36
5.1.3.1	Estudo 1 - Ensaio de atividade das oxidases de função mista (MFO)	36
5.1.3.2	Estudo 2 - Ensaio de atividade das MFO	36
5.1.3.3	Estudo 3 – Indução das CYP1A1; 2B; 2E1 e 3A	38
5.1.4	Estudos de Genotoxicidade in vitro	39
5.1.4.1	Estudo 1 – Teste de Ames – mutação gênica	39
5.1.4.2	Estudo 2 - Teste de Ames – mutação gênica	40
5.1.4.3	Estudo 3 - Teste com E. coli – mutação gênica	40
5.1.4.4	Estudo 4 – Teste HGPRT/CHO – mutação gênica	40
5.1.4.5	Estudo 5 – Teste de aberração cromossômica (clastogenicidade)	40
5.1.4.6	Estudo 6 – Síntese de DNA não programada	41
5.1.5	Estudos de Genotoxicidade in vivo	41

5.1.5.1	Estudo 1 – Teste in vivo de clastogenicidade em células de medula óssea.....	41
5.1.6	Toxicidade Aguda.....	42
5.1.7	Toxicidade Sub-crônica.....	43
5.1.7.1	Estudo 1 - Estudo de toxicidade subcrônica (4 semanas) via dérmica com ratos.....	43
5.1.7.2	Estudo 2 - Estudo de toxicidade subcrônica (4 semanas) via dérmica com coelhos.....	44
5.1.7.3	Estudo 3 - Estudo de toxicidade subcrônica (3 meses) via dieta com ratos.....	45
5.1.7.4	Estudo 4 - Estudo de toxicidade subcrônica (3 meses) via dieta com camundongos.....	47
5.1.7.5	Estudo 5 – Estudo de toxicidade subcrônica (3 meses) via dieta com cães.....	48
5.1.7.6	Estudo 6 - Estudo de toxicidade subcrônica (3 meses) via dérmica com cães.....	50
5.1.8	Toxicidade Crônica.....	52
5.1.8.1	Estudo 1 – Estudo de toxicidade crônica (1 ano) via dieta com cães.....	52
5.1.8.2	Estudo 2 - Estudo de toxicidade crônica (78 semanas) via dieta com ratos.....	53
5.1.8.3	Estudo 3 - Estudo de toxicidade crônica/oncogenicidade (24 meses) via dieta com ratos.....	54
5.1.8.4	Estudo 4 - Estudo de toxicidade crônica/oncogenicidade (45 semanas) via dieta com camundongos.....	55
5.1.9	Toxicidade Reprodutiva.....	57
5.1.9.1	Estudo 1 - Toxicidade reprodutiva com ratos - duas gerações.....	57
5.1.9.2	Estudo 2 - Toxicidade reprodutiva com ratos - uma geração.....	59
5.1.9.3	Estudo 3 - Verificação de efeitos em baixas doses em misturas.....	60
5.1.10	Toxicidade sobre o Desenvolvimento.....	62
5.1.10.1	Estudo 1 – Estudo de toxicidade sobre o desenvolvimento com ratas.....	62
5.1.10.2	Estudo 2 – Toxicidade sobre o desenvolvimento neurocomportamental.....	63
5.1.10.3	Estudo 3 - Estudo de toxicidade sobre o desenvolvimento com coelhas.....	64
5.1.11	Neurotoxicidade.....	66
5.1.11.1	Estudo 1 - Estudo neurotoxicidade aguda.....	66
5.1.11.2	Estudo 2 - Estudo de neurotoxicidade subcrônica.....	67

5.1.12 Estudos Mecanísticos sobre o Potencial de Desregulação Endócrina	67
5.1.12.1 Estudos relacionados a potenciais efeitos sobre a tireóide	67
5.1.12.1.1 Estudo 1 - Ensaio in vitro para avaliar a competição de ligação entre o dicofol e o T4 com a proteína transportadora transtirretina humana (TTR)	67
5.1.12.1.2 Estudo 2 – Ensaio in vitro para avaliar a competição de ligação entre o dicofol e o T3 com a proteína TTR	68
5.1.12.1.3 Estudo 3 – Ensaio in vitro para avaliação do efeito sobre a captação de T3 nos eritrócitos de girinos e efeito sobre a resposta celular ao T3	68
5.1.12.1.4 Estudo 4 – Ensaio in vitro e in vivo para avaliação da ativação dependente de T3 do gene TR-beta em células ou girinos de Xenopus laevis	69
5.1.12.2 Estudos relacionados à potencial atividade estrogênica	70
5.1.12.2.1 Estudo 1 – Ensaio in vitro para avaliação da ativação do receptor de estrogênio de humanos (hER) e ensaio para avaliação da proliferação celular	70
5.1.12.2.2 Estudo 2 – Ensaio in vitro para avaliação da ligação ao hER e ensaio para avaliação da proliferação celular	70
5.1.12.2.3 Estudo 3 – Ensaio in vitro para avaliação da ativação do hER	71
5.1.12.2.4 Estudo 4 – Ensaio in vitro para avaliação da ativação do hER	72
5.1.12.2.5 Estudo 5 – Ensaio in vitro para avaliação da ativação do hER – implicações da isomeria	72
5.1.12.2.6 Estudo 6 – Ensaio in vitro para avaliação da ligação e ativação do receptor de estrogênio alfa de crocodilos (αER-alfa) e de humanos (hER-alfa) e ensaio in vivo com ratas ovariectomizadas	72
5.1.12.3 Estudos relacionados à potencial atividade androgênica	74
5.1.12.3.1 Estudo 1 – Ensaio in vitro para avaliação da inibição da atividade da aromatase	74
5.1.12.4 Estudos relacionados à potencial atividade anti-androgênica	74
5.1.12.4.1 Estudo 1 – Ensaio in vitro para avaliação da ligação ao receptor de androgênios de humanos (hAR)	74

5.1.12.4.2	Estudo 2 – Ensaio in vitro para avaliação da ativação dos hAR.....	74
5.1.12.4.3	Estudo 3 – Ensaio in vitro para avaliação da ativação dos hAR.....	75
5.1.12.5	Estudos relacionados à potencial atividade em outros tipos de receptores (hidrocarbonetos de arila, pregnano X e proliferadores de peroxissomos).....	76
5.1.12.5.1	Estudo 1 – Ensaio in vitro para avaliação da ativação de vários receptores	76
5.1.12.5.2	Estudo 2 – Ensaio in vitro com gene repórter para comparar a ativação do receptor de pregnano X de humanos (hPXR) e de camundongos (mPXR)	76
5.1.13	Sinais Clínicos em Seres Humanos.....	78
5.1.14	Biomonitoramento em Seres Humanos.....	79
5.1.15	Estudos Epidemiológicos.....	80
5.2	CARACTERIZAÇÃO DO PERIGO	82
5.2.1	Aplicação do Esquema de Avaliação em Etapas para Identificação de Compostos Desreguladores Endócrinos	85
5.2.2	Identificação do NOAEL para o estabelecimento da IDA e para o Cálculo da MOE	94
5.2.2.1	Seleção de NOAEL para estabelecimento da IDA	97
5.2.2.2	Seleção de NOAEL para o cálculo da MOE.....	98
5.3	AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO	99
5.3.1	Avaliação da Exposição Dietética.....	99
5.3.2	Avaliação da Exposição Ocupacional	100
5.3.2.1	Cenários de exposição ocupacional.....	103
5.3.2.2	Unidades de exposição.....	103
5.3.2.3	Dose máxima de aplicação dos produtos formulados.....	104
5.3.2.4	Área máxima tratada por dia	104
5.3.2.5	Absorção dérmica	105
5.4	CARACTERIZAÇÃO DO RISCO	106
5.4.1	Caracterização do Risco Dietético.....	106
5.4.2	Caracterização do Risco Ocupacional	115
6	DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	125
	REFERÊNCIAS.....	130

1 INTRODUÇÃO

O ingrediente ativo dicofol (nome químico: 2,2,2-trichloro-1,1-bis(4-chlorophenyl)ethanol) é um agrotóxico que pertence ao grupo químico dos organoclorados e à classe de uso dos acaricidas (ANVISA, 2011b).

Em 1980 ocorreu um sério derramamento de agrotóxicos no Lago Apopka, na Flórida, Estados Unidos, caracterizado principalmente por dicofol, mas também por Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT) e seus metabólitos. Como consequência desse derramamento, várias anormalidades relacionadas à desregulação endócrina foram relatadas, como por exemplo, os crocodilos machos e fêmeas apresentaram aumento da proporção de estradiol/testosterona; os machos apresentaram redução no tamanho do pênis, anormalidades testiculares e decréscimo dos níveis de testosterona; e as fêmeas apresentaram anormalidades ovarianas. Uma hipótese para esses efeitos adversos nos crocodilos seria a exposição precoce aos contaminantes estrogênicos (GUILLETTE *et al.*, 1994).

O dicofol é estruturalmente similar ao DDT e por isso tem sido considerado um potencial composto desregulador endócrino (GUILLETTE *et al.*, 1994; OKUBO, 2004; MNIF *et al.*, 2011).

Segundo Mnif *et al.* (2011), em um trabalho de revisão bibliográfica sobre agrotóxicos desreguladores endócrinos e seus potenciais efeitos à saúde humana, o dicofol foi descrito como inibidor da síntese de androgênios; indutor da síntese de estrogênios e ligante do receptor de estrogênios.

Em 2005, o Japão banuiu o uso do dicofol em seu território devido aos riscos à saúde humana (UNEP/FAO, 2011).

Em 2008, a União Européia concluiu que o dicofol não poderia ser mantido na sua lista positiva de ingredientes ativos autorizados, pois identificaram preocupações quanto à exposição do trabalhador e do consumidor, além de potencial para bioacumulação em espécies aquáticas e de risco a longo prazo para aves e mamíferos (COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. 2008/764/EC, 2008).

Nos Estados Unidos, a Agência de Proteção Ambiental (EPA) identificou risco preocupante em cenários potenciais de exposição ocupacional (EPA, 1998, 2006). A EPA também incluiu o dicofol na primeira lista de substâncias do Programa de Avaliação de Desreguladores Endócrinos (EDSP) (EPA, 2009) devido ao seu

potencial relativamente alto de exposição humana (EPA, 2005). Após a inclusão do dicofol na lista, a EPA solicitou que os registrantes enviassem uma bateria de estudos para identificar o potencial de interação do dicofol com as vias hormonais, mas os registrantes solicitaram dispensa da apresentação da maior parte dos estudos, argumentando que aqueles disponíveis já forneciam as informações necessárias (PLUNKETT E SINGH, 2010). A EPA considerou que a argumentação dos registrantes foi deficiente (EPA, 2010). Os registrantes decidiram voluntariamente cancelar os registros dos produtos à base de dicofol e a EPA aceitou (EPA, 2011), dessa forma, os registrantes não precisaram conduzir os estudos adicionais.

Portanto, como a EPA não avaliou o dicofol quanto ao seu potencial de desregulação endócrina no âmbito do EDSP, a Agência não pôde concluir se há efeitos de desregulação endócrina associados ao uso do dicofol.

Em 2011, a Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) avaliou o risco dietético do dicofol para os consumidores europeus, os quais poderiam estar expostos aos resíduos de dicofol por meio de produtos importados. Como o dicofol não estava mais registrado na União Europeia desde 2008, os Limites Máximos de Resíduos do *Codex* (CXLs) foram considerados nos cálculos. Para o cálculo do risco dietético, foram utilizadas a Ingestão Diária Aceitável (IDA) de 0,0022 mg/kg p.c./dia e a Dose de Referência Aguda (ARfD) de 0,15 mg/kg p.c./dia propostas pelo Estado Membro Relator, a Espanha. Nesse contexto, a EFSA identificou potenciais riscos à saúde para a população europeia, por meio da ingestão de alimentos com CXLs. Por exemplo, o cenário mais crítico foi identificado para as crianças holandesas, com impacto na IDA de 1379%. Diante dos resultados, a EFSA concluiu que os CXLs oferecem preocupação aos consumidores europeus, e que o Limite Máximo de Resíduos (LMR) de dicofol nos alimentos que forneceria proteção satisfatória seria o valor por convenção de 0,01 mg/kg definido pela norma europeia *Regulation (EC) No 396/2005* (EFSA, 2011).

Em 2012, o dicofol foi avaliado no âmbito da Convenção de Estocolmo se ele poderia ser uma alternativa de uso ao endossulfan, um agrotóxico classificado pela Convenção como poluente orgânico persistente (POP). O comitê técnico da referida Convenção verificou que o dicofol reunia os critérios para classificá-lo como POP (COMITÊ DE REVISÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS PERSISTENTES, 2012). Os POPs têm propriedades tóxicas, são resistentes à degradação,

bioacumulam-se, são transportados pelo ar, pela água e pelas espécies migratórias através das fronteiras internacionais e depositados distantes do local de sua liberação, onde se acumulam em ecossistemas terrestres e aquáticos (BRASIL, 2005).

Atualmente, no Brasil, o dicofol é autorizado para uso agrícola por meio da aplicação foliar nas culturas de algodão, citros e maçã (ANVISA, 2011b).

Segundo Caldas e Souza (2000), no Brasil a Ingestão Diária Máxima Teórica (IDMT) do dicofol foi maior que a IDA de 0,001 mg/kg p.c./dia (menor IDA entre as fontes pesquisadas), apresentando um impacto de 420% na IDA. Os autores calcularam a IDMT por meio do somatório dos LMRs no país e multiplicando pelas estimativas de consumo dos alimentos extraídas da Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF 1995-1996. Os autores também fizeram o cálculo do impacto na IDA considerando o consumo do alimento por regiões metropolitanas do Brasil e verificaram resultados na faixa de 310% a 610% da IDA.

Em 2004, Caldas e Souza publicaram um artigo para atualização dos dados acima citados. Nesse artigo, os autores recalcularam o impacto da ingestão do dicofol na IDA, agora considerando o valor de IDA de 0,002 mg/kg p.c./dia que havia sido estabelecida pela ANVISA. Os autores verificaram que o impacto na IDA foi de 210% (faixa de 150% a 360%, dependendo da região metropolitana), considerando os valores de LMR e a estimativa de consumo médio de alimento da POF 1995-1996 para o cálculo da IDMT. Os autores também refinaram o cálculo do impacto na IDA, considerando os dados referentes ao período de 2001 a 2003 do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), coordenado pela ANVISA. Nesse refinamento, a IDMT foi calculada substituindo o valor do LMR pelos resíduos medianos encontrados nas amostras de alimentos analisadas no PARA. Com o refinamento do cálculo, o impacto da ingestão de dicofol na IDA foi significativamente menor, entre 2% a 4%.

Segundo os dados do PARA, no período de 2001 a 2010, o dicofol foi detectado em amostras de laranja e maçã em níveis abaixo do LMR, mas foi detectado como uso não autorizado em amostras de alface, pimentão, mamão, morango e tomate (ANVISA, 2008, 2009, 2010, 2011a).

No Brasil, o dicofol passou por reavaliação toxicológica pela ANVISA em 2002, a qual foi estabelecida pela Resolução – RDC nº 135 de 17/05/02 (ANVISA, 2002). Nessa ocasião, segundo a Memória de reunião da reavaliação toxicológica do

dicofol (ANVISA, 2002), foram recomendadas algumas medidas para minimizar a exposição da população ao dicofol, como por exemplo, recomendação da proibição de aplicação aérea e recomendação da proibição de aplicação do produto por equipamentos costais ou manuais. Com relação a essa última recomendação, consta na memória de reunião que ela seria implantada por ocasião da adequação dos rótulos e bulas após as reavaliações agrônômica e ecotoxicológica do produto, as quais ainda não ocorreram.

Essas recomendações para minimização da exposição da população ao dicofol foram baseadas nos dados toxicológicos do produto, e não em um processo de avaliação dos riscos à saúde humana.

2 JUSTIFICATIVA

No Brasil, o registro de agrotóxicos é concedido de forma permanente, ou seja, não há um processo de renovação do mesmo. Dessa forma, as informações utilizadas para embasar o registro de agrotóxicos devem ser reavaliadas, sempre que alertas internacionais e novos dados indicarem riscos à saúde, conforme previsto na Lei nº 7802, de 11 de julho de 1989 (BRASIL, 1989) e no Decreto no 4074, de 4 de janeiro de 2002 (BRASIL, 2002).

O Parágrafo 4º do Artigo 3º da Lei nº 7802/89 (BRASIL, 1989) e o inciso VI do Artigo 2º do Decreto no 4074 preconizam que quando organizações internacionais responsáveis pela saúde, alimentação ou meio ambiente, das quais o Brasil seja membro integrante ou signatário de acordos e convênios, alertarem para riscos ou desaconselharem o uso de agrotóxicos, seus componentes e afins, caberá à autoridade competente tomar imediatas providências, sob pena de responsabilidade.

Em 2002, a ANVISA realizou uma reavaliação toxicológica do dicofol com base na identificação do perigo e não em um processo de avaliação do risco. Naquela época, considerando o perfil toxicológico do produto, recomendações foram feitas para minimizar a exposição humana ao dicofol no Brasil.

Após aproximadamente uma década da reavaliação toxicológica, novos conhecimentos sobre a toxicologia do dicofol foram publicados pela comunidade científica; o produto foi banido no Japão e na União Européia em função dos riscos à saúde humana e ao meio ambiente; o dicofol reuniu os critérios para classificá-lo como POP no âmbito da Convenção de Estocolmo e novas discussões no campo da avaliação dos produtos com atividade hormonal estão ocorrendo.

No Brasil, o trabalhador rural ainda pode estar vivenciando cenários ocupacionais que potencialmente apresentam grande exposição aos agrotóxicos, como é o caso da pulverização com equipamento costal. Esse e outros cenários ocupacionais necessitam ser avaliados quanto ao potencial risco à saúde.

Quanto aos riscos à saúde pelo consumo de alimentos contendo resíduos de dicofol, dados sobre o perfil de consumo alimentar da população brasileira foram publicados na POF 2008-2009 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e dados de monitoramento de resíduos de agrotóxicos nos alimentos analisados no PARA estão disponíveis para a realização das estimativas de exposição dietética, permitindo estimar os riscos de forma mais realista.

Dessa forma, esperamos que os resultados da identificação do perigo, principalmente no que se refere à avaliação da atividade de desregulação endócrina do dicofol, bem como os resultados da caracterização do risco dietético para a população e da caracterização do risco ocupacional do dicofol, possam fornecer subsídios para futuras medidas mitigatórias da exposição humana.

3 OBJETIVOS

Objetivos gerais:

- a) avaliar o risco à saúde da população brasileira pela exposição crônica aos resíduos de dicofol pelo consumo de alimentos;
- b) avaliar o risco à saúde dos trabalhadores brasileiros que manuseiam os produtos formulados contendo dicofol.

Objetivos específicos:

- a) identificar o perigo (toxicidade) do dicofol;
- b) caracterizar o perigo, através da avaliação da relação dose-resposta nos estudos toxicológicos conduzidos com o dicofol e da aplicação do esquema de avaliação em etapas para identificação de compostos desreguladores endócrinos proposto pela Alemanha e Reino Unido para nortear a caracterização toxicológica;
- c) estimar a ingestão de resíduos de dicofol através do consumo de alimentos pela população no Brasil;
- d) estimar a potencial exposição ocupacional dos trabalhadores rurais que manipulam os produtos formulados contendo dicofol durante as atividades de preparar a calda de aplicação, abastecer os equipamentos e aplicar os produtos nas culturas para as quais o dicofol é autorizado;
- e) caracterizar os riscos dietéticos, por meio da comparação das estimativas de exposição dietética com a IDA;
- f) caracterizar os riscos ocupacionais, por meio do cálculo da Margem de Exposição (MOE).

4 METODOLOGIA

A análise do risco é um processo que incorpora três componentes: a avaliação do risco, o gerenciamento do risco e a comunicação do risco (IPCS, 2010).

A avaliação do risco à saúde humana pode ser definida como a caracterização científica e sistemática dos potenciais efeitos adversos resultantes da exposição humana a substâncias ou situações (FAUSTMAN; OMENN, 2007).

Enquanto a avaliação do risco é um processo de base científica, o gerenciamento do risco envolve tomada de decisões pelas agências reguladoras em conjunto com todas as partes interessadas, que levam em consideração a avaliação do risco, além de fatores políticos, sociais e econômicos para a proteção da saúde e, se necessário, selecionando opções de prevenção e controle (IPCS, 2004; JARDIM e CALDAS, 2009).

A troca de informações e opiniões sobre o risco entre avaliadores, gerenciadores, mídia, grupos de interesse e público em geral se dá no âmbito da comunicação do risco (IPCS, 2004; JARDIM e CALDAS, 2009).

O foco deste trabalho é o primeiro componente da análise do risco: a avaliação do risco à saúde humana.

O processo de avaliação do risco começa com a formulação da pergunta sobre o risco e inclui quatro etapas adicionais: (i) identificação do perigo; (ii) caracterização do perigo (incluindo avaliação dose-resposta); (iii) avaliação da exposição e (iv) caracterização do risco (IPCS, 2009, 2010). Um resumo de cada uma das etapas está descrito no Quadro 1.

Quadro 1 - Paradigma da avaliação do risco

Etapas	Descrição	Conteúdo
Formulação da pergunta sobre o risco	Estabelece o escopo e o objetivo da avaliação	<ul style="list-style-type: none"> - Definição da pergunta - Conhecimento prévio - Resultados esperados
Identificação do perigo	Identifica o tipo e a natureza dos efeitos adversos que uma substância pode causar a um organismo, sistema, ou sub(população)	<ul style="list-style-type: none"> - Estudos em humanos - Estudos toxicológicos em animais - Estudos toxicológicos <i>in vitro</i> - Estudos de estrutura-atividade
Caracterização do perigo (incluindo avaliação dose-resposta)	Descrição qualitativa e/ou quantitativa das propriedades inerentes de uma substância com potencial de causar efeitos adversos à saúde	<ul style="list-style-type: none"> - Seleção dos dados críticos - Modos/mecanismos de ação - Variabilidade cinética/dinâmica - Dose-resposta para o efeito crítico

Continua na próxima página...

Conclusão do Quadro 1

Etapa	Descrição	Conteúdo
Avaliação da exposição	Avaliação da concentração ou quantidade de uma substância que atinge um determinado organismo, sistema ou (sub)população	<ul style="list-style-type: none"> - Magnitude - Frequência - Duração - Via
Caracterização do risco	Determinação qualitativa e/ou quantitativa, incluindo as incertezas, a probabilidade de ocorrência de efeitos adversos de uma substância a um determinado organismo, sistema ou (sub)população, sob condições definidas de exposição	<ul style="list-style-type: none"> - Probabilidade de ocorrência de efeitos adversos - Gravidade do risco - Em determinada população - Incertezas no processo de avaliação do risco

Fonte: Adaptado de IPCS (2009, 2010).

4.1 IDENTIFICAÇÃO DO PERIGO

Para a etapa de identificação do perigo do dicofol, foram consultados resumos dos estudos toxicológicos disponíveis nos documentos da Organização Mundial da Saúde (WHO) juntamente com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) (CLEVENGER, 1992; WHO/FAO, 1992, 1996); da EPA (EPA, 1998, 1999) e da Comissão Europeia (COMISSÃO EUROPÉIA, 2000).

Também foram pesquisadas as informações toxicológicas sobre o dicofol publicadas pela comunidade científica na base de dados eletrônica PubMed, sem restrição temporal. Foram utilizados os descritores: “dicofol”; “dicofol and human” e “dicofol and toxicity”. Os estudos foram pré-selecionados de acordo com o título e a leitura dos respectivos resumos e, quando relacionados ao assunto de interesse, buscou-se o texto na íntegra. Foram excluídos artigos sobre estudos ecotoxicológicos, sobre análises químicas e sobre tratamento de efluentes. Também foram excluídos artigos que mencionavam o uso de produtos formulados para a condução do estudo, pois o objetivo da pesquisa é identificar a toxicidade do ingrediente ativo dicofol. Durante a leitura dos artigos pré-selecionados, também foram identificados outros artigos de interesse que foram incluídos no trabalho. Os artigos utilizados neste trabalho se restringiram aos idiomas português e inglês.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO PERIGO

A caracterização do perigo consiste em uma descrição qualitativa e/ou quantitativa das propriedades inerentes de uma substância com potencial de causar efeitos adversos à saúde (IPCS, 2010).

Descrições quantitativas frequentemente consistem em uma avaliação dose-resposta para estabelecer valores de referência para a saúde, como por exemplo, a IDA. O estabelecimento dos valores de referência à saúde requer a avaliação dos efeitos toxicológicos de uma substância em relação à exposição, frequentemente derivada de testes padronizados em animais de laboratório e a identificação, por exemplo, da dose que não provoca nenhum efeito adverso (NOAEL). Os resultados dos estudos em animais são então, extrapolados para os seres humanos, utilizando-se os fatores de incerteza (IPCS, 2010).

Neste trabalho, para o estabelecimento da IDA e para o cálculo da Margem de Exposição (MOE), foi identificado o valor de NOAEL na espécie mais sensível nos estudos em animais e foram aplicados os fatores de incerteza para considerar a variabilidade interespecie e intraespecie.

4.3 AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO

A avaliação da exposição é usada para determinar se as pessoas estão em contato com uma substância potencialmente perigosa e, em caso afirmativo, avaliar o quanto elas estão expostas, por meio de quais vias e por quanto tempo (IPCS, 2010).

Neste trabalho, a exposição dietética para a população e a exposição ocupacional para os trabalhadores que manuseiam os produtos formulados à base de dicofol foram avaliadas.

A informação sobre a exposição, quando comparada com o valor de referência à saúde, é utilizada para caracterizar os riscos à saúde (IPCS, 2010).

4.3.1 Avaliação da Exposição Dietética

Para estimar a exposição dietética, os dados de consumo dos alimentos foram combinados com os dados de concentração do dicofol nos alimentos, utilizando-se a seguinte equação retirada do IPCS (2009):

$$\text{Exposição dietética} = \frac{\sum (\text{Consumo do alimento} \times \text{Concentração de dicofol no alimento})}{\text{Peso corpóreo}}$$

Para padronizar a terminologia, o termo “consumo” foi usado para se referir à quantidade de alimento consumido e “exposição dietética” à quantidade do dicofol ingerida por meio dos alimentos.

4.3.1.1 Estimativa do consumo dos alimentos e do peso corpóreo

As estimativas do consumo dos alimentos e do peso corpóreo foram feitas por meio da extração dos dados brutos do arquivo POF7 da Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF 2008-2009 conduzida pelo IBGE (IBGE, 2011), e utilizando-se o fator de expansão da amostra da pesquisa para a população total.

A POF é uma pesquisa realizada por amostragem em domicílios particulares situados nas áreas urbanas e rurais em todas as Unidades da Federação do Brasil. A POF visa principalmente mensurar as estruturas de consumo, dos gastos, dos rendimentos e parte da variação patrimonial das famílias. Possibilita traçar, portanto, um perfil das condições de vida da população brasileira a partir da análise de seus orçamentos domésticos (IBGE, 2011).

A POF7 se refere a uma subamostra da POF 2008-2009, por meio da qual foram registrados os tipos de alimentos consumidos, as quantidades consumidas, a forma de preparação e a fonte do alimento (dentro ou fora do domicílio) ao longo de 24 h. Para obter essas informações, foi aplicado um questionário para todos os moradores do domicílio com 10 anos ou mais de idade, durante dois dias não consecutivos e complementado mediante uma entrevista pelo Agente de Pesquisa do IBGE (IBGE, 2011).

Segundo o IPCS (2009), as estimativas de consumo alimentar provenientes de pesquisas com registros individuais geralmente fornecem as estimativas mais precisas de consumo.

Na POF7, pesquisamos o relato do consumo de algodão, citros e maçã, que são alimentos para os quais o uso do dicofol está autorizado. Descrições de alimentos que continham a cultura foram agrupadas para estimar o seu consumo, por exemplo, para estimar o consumo de citros agrupamos 177 descrições de itens alimentícios e para estimar o consumo de maçã agrupamos 29 descrições de itens alimentícios. Como nos dados do PARA foram relatados resíduos de dicofol em pepino e pimentão, também estimamos o consumo desses alimentos na POF7. Quanto ao algodão, não foi relatado consumo de óleo de algodão na POF7.

Cada domicílio pertencente à subamostra da POF representa um determinado número de domicílios particulares permanentes da população (universo) de onde a amostra original foi selecionada. Com isso, a cada domicílio da subamostra está associado um fator de expansão que, atribuído às características investigadas pela POF, permite a obtenção de estimativas das quantidades de interesse para o universo da pesquisa (IBGE, 2011).

Assim, a cada registro de consumo individual foi aplicado o fator de expansão, que permitiu a obtenção das estimativas das quantidades médias *per capita* de alimentos consumidos e do peso corpóreo médio para cada Unidade Federativa (UF) do país. Os cálculos para expansão da amostra foram efetuados com auxílio do programa “IBM SPSS Statistics” versão 19.

4.3.1.2 Estimativa dos resíduos de dicofol nos alimentos

Para uma estimativa preliminar da exposição dietética, consideramos os LMRs de dicofol permitidos para as culturas de citros e maçã constantes na monografia D-14 da ANVISA (ANVISA, 2011b). Não realizamos os cálculos de ingestão de resíduos de dicofol para algodão, pois o consumo de óleo de algodão não foi relatado na POF7. O LMR de dicofol refere-se à soma dos isômeros *o,p'* e *p,p'*-dicofol (ANVISA, 2011b).

Posteriormente, a estimativa da exposição dietética foi refinada utilizando-se os resíduos médios de dicofol detectados nas amostras analisadas no PARA no período de 2009 a 2011 (ANVISA, 2010, 2011a, 2012¹).

Quando as amostras do PARA resultaram em valores de resíduos abaixo do LOD (limite de detecção) ou do LOQ (limite de quantificação), foram adotados os seguintes critérios para o cálculo dos resíduos médios (Quadro 2):

Quadro 2 - Critérios para o cálculo dos resíduos médios nas amostras do PARA

	Resíduo de dicofol na amostra analisada no PARA (X)	Resíduo de dicofol adotado para o cálculo do valor de resíduo médio
Cultura com uso não autorizado de dicofol	$X < \text{LOD}$	Zero
Cultura com uso autorizado de dicofol	$X < \text{LOD}$	LOD
Cultura com uso autorizado ou não de dicofol	$\text{LOD} \leq X \leq \text{LOQ}$	LOQ
Cultura com uso autorizado ou não de dicofol	$X \geq \text{LOQ}$	X

Legenda: LOD: Limite de detecção; LOQ: Limite de quantificação

4.3.2 Avaliação da Exposição Ocupacional

Para o levantamento dos potenciais cenários de exposição ocupacional, foi feita uma pesquisa no Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2012) para a identificação dos produtos formulados à base de dicofol registrados no Brasil. Assim, foram obtidas as informações sobre os tipos de formulação registrados, concentração de ingrediente ativo nos produtos, bem como as informações de Boas Práticas Agrícolas (BPA), tais como a dose máxima de aplicação do ingrediente ativo por hectare, os equipamentos de aplicação, a modalidade e a época de aplicação.

Para estimar a exposição ocupacional, a dose diária pelas vias dérmica e inalatória foram calculadas utilizando-se as equações abaixo, constantes na Base de Dados sobre Exposição dos Manipuladores de Agrotóxicos (PHED) (PHED, 1998).

¹Os dados do PARA referentes à amostragem de alimentos em 2011 ainda não estão disponíveis no site da ANVISA.

$$\text{Exposição diária dérmica (EDD)} = \frac{(\text{Unidade de exposição}) \times (\text{Dose máx. aplicação}) \times (\text{Área máx. tratada/dia}) \times (\% \text{ absorç. dérmica}^*)}{\text{Peso corpóreo (kg)}}$$

* não aplicar o fator de absorção dérmica quando a dose para o cálculo da Margem de exposição (MOE) for derivada de um estudo toxicológico no qual o animal foi exposto pela via dérmica

$$\text{Exposição diária inalatória (EDI)} = \frac{(\text{Unidade de exposição}) \times (\text{Dose máx. aplicação}) \times (\text{Área máx. tratada/dia}) \times (\% \text{ abs. inalatória})}{\text{Peso corpóreo (kg)}}$$

O PHED é um banco de dados de exposição genérico desenvolvido conjuntamente pela EPA, *Health Canada* e *CropLife América*, que contém um grande número de mensurações de exposições dérmica e inalatória para os trabalhadores que manuseiam agrotóxicos, como por exemplo, misturadores, abastecedores e aplicadores. O uso de dados genéricos substitutos se baseia na premissa de que os parâmetros físicos do processo de manusear e aplicar, como por exemplo, o tipo de formulação usado, o método de aplicação e o tipo de vestimenta usado, e não as propriedades químicas do agrotóxico, é que determinam a extensão da exposição dérmica e inalatória (EPA, 1998).

4.3.2.1 Unidades de exposição

As unidades de exposição dérmica e inalatória foram retiradas do PHED (1998).

4.3.2.2 Dose máxima de aplicação

A dose máxima de aplicação foi retirada das informações constantes na bula dos produtos formulados à base de dicofol registrados no Brasil (MAPA, 2012).

4.3.2.3 Área máxima tratada por dia

Como não encontramos um banco de dados validado com os valores nacionais de área máxima tratada por dia, esses dados foram extrapolados dos Estados Unidos, utilizando-se os valores constantes no documento “Valores padrão para acres tratados diariamente na agricultura” - *Standard Values for Daily Acres Treated in Agriculture, Policy Number: 9.1 (SCIENCE ADVISORY COUNCIL FOR EXPOSURE, 2001)*. Esse documento apresenta valores padrões dos Estados Unidos para o número de acres tratados em um único dia por vários tipos de equipamentos agrícolas. Para o cenário de pulverização costal, que não estava disponível nesse documento, o valor de 5 Acres/dia (ou aproximadamente 2 hectares/dia) foi retirado do documento da EPA (1998).

4.3.2.4 Absorção dérmica e inalatória

O fator de absorção dérmica não foi usado, pois a dose para o cálculo da Margem de Exposição Dérmica foi proveniente de um estudo dérmico. Caso a dose tivesse sido proveniente de um estudo oral, a porcentagem de absorção dérmica seria assumida como 25%, valor por convenção para produtos ou diluições de uso contendo $\leq 5\%$ do ingrediente ativo, conforme o guia da EFSA (2012).

O fator de absorção inalatória foi assumido como 100% devido à inexistência de estudos quanto a esse parâmetro.

4.3.2.5 Peso corpóreo

O peso corpóreo foi assumido como 70 kg (PHED, 1998), que seria uma estimativa do peso médio de um homem.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DO RISCO

É a última etapa da avaliação do risco de uma substância e é tipicamente uma comparação quantitativa sobre a exposição estimada em relação ao valor de referência à saúde mais apropriado (IPCS, 2010).

Neste trabalho, a caracterização do risco dietético foi feita comparando-se a IDMT com a IDA, conforme a equação abaixo:

$$\% \text{ IDA} = \frac{\text{IDTM (mg/kg p.c./dia)} \times 100}{\text{IDA (mg/kg p.c./dia)}}$$

Resultado menor que 100% indica que é improvável que a exposição dietética resulte em efeito adverso e resultado maior que 100% indica que a exposição pode resultar em efeito adverso.

Para a caracterização do risco ocupacional foi calculada a Margem de Exposição (MOE) (EPA, 2001) por meio da divisão do valor de NOAEL de escolha pelo valor estimado de exposição, conforme a equação abaixo.

$$\text{MOE} = \frac{\text{NOAEL (mg/kg p.c./dia)}}{\text{Exposição ocupacional (mg/kg p.c./dia)}}$$

Considerando-se que a exposição ocupacional é uma exposição agregada, pois se refere a exposições combinadas a um único agente químico através de múltiplas vias (dérmica e inalatória), e considerando-se que o efeito toxicológico de preocupação foi o mesmo para as duas vias de exposição, foi utilizada a equação da MOE agregada (MOE_T)(EPA, 2001):

$$\text{Equação } \text{MOE}_T \text{ (dérmico + inalatório)} = 1 / (1/\text{MOE dérmica} + 1/\text{MOE inalatória})$$

Para se considerar a MOE aceitável, ela deve ser no mínimo igual ou maior que o valor considerado na adoção dos fatores de incerteza. Geralmente considera-se o valor mínimo de 100 ($\text{MOE} \geq 100$), para se levar em conta a variabilidade interespecie e intraespecie, podendo ser adicionados outros fatores de incerteza dependendo dos dados toxicológicos.

5 RESULTADOS

5.1. IDENTIFICAÇÃO DO PERIGO

5.1.1 Identidade Química

Dicofol é o nome comum ISO para 2,2,2-trichloro-1,1-bis(4-chlorophenyl)ethanol (IUPAC)(EFSA, 2011), pertence ao grupo químico dos organoclorados e tem o número CAS 115-32-2 (EPA, 1998). Dicofol, conforme definido pela ISO, refere-se somente ao p,p'-dicofol, enquanto que o produto técnico normalmente é uma mistura de p,p'-dicofol e o,p'-dicofol (na faixa de proporção de 75-84:16-25) (EFSA, 2011), conforme se observa na Figura 1.

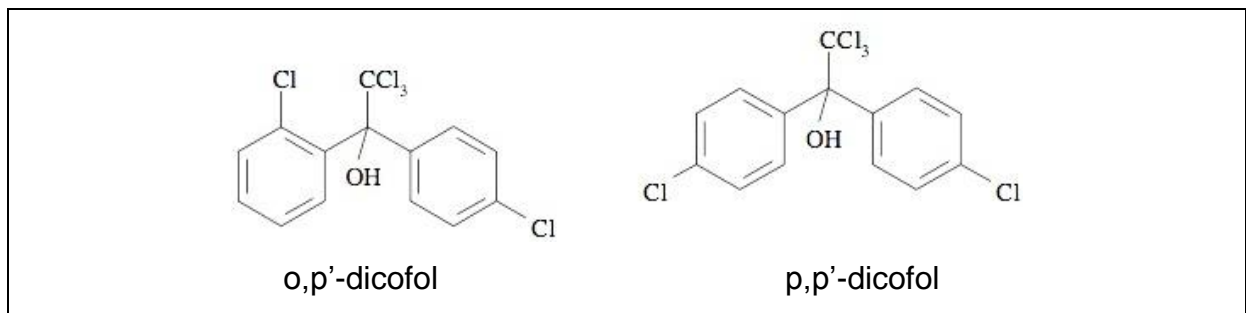


Figura 1 - Estruturas químicas do o,p'-dicofol e p,p'-dicofol.

O dicofol também é estruturalmente similar ao DDT (HOEKSTRA *et al.*, 2006), conforme se observa na Figura 2.

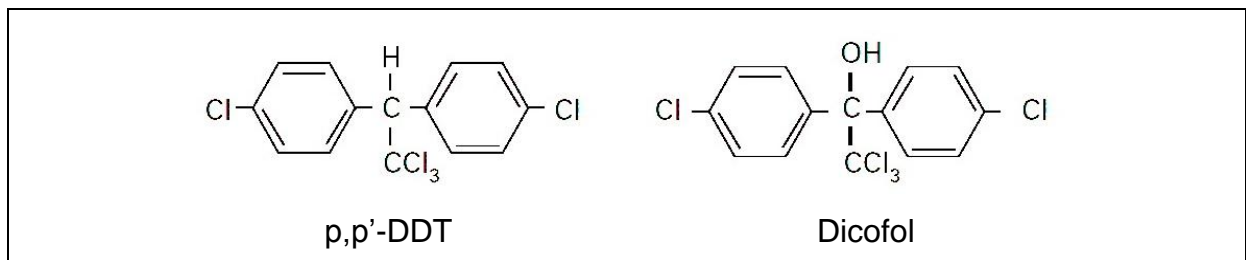


Figura 2 - Estruturas químicas dos organoclorados do p,p'-DDT e do dicofol.

O dicofol técnico geralmente é produzido a partir do DDT. Durante a reação de síntese, o DDT é clorado, formando o composto intermediário Cl-DDT, e este é hidrolisado, formando o dicofol. Por isso, após a reação de síntese, o DDT e

impurezas relacionadas ao DDT podem permanecer no produto técnico (QIU *et al.*, 2005).

A FAO (1995) limitou a quantidade de DDT e impurezas relacionadas ao DDT em no máximo 1 g/kg do conteúdo de isômeros no produto técnico. A ANVISA estabeleceu esse mesmo limite para essas impurezas nos produtos técnicos registrados no Brasil (ANVISA, 2011b).

Quanto às principais características físico-químicas, o produto técnico foi descrito como um líquido escuro e viscoso (FAO, 1995); com massa molecular de 370,5 (WHO/FAO, 1996); praticamente insolúvel em água (0,83 mg/L para o isômero p,p'-dicofol)(COMISSÃO EUROPÉIA, 2000); relativamente instável em soluções aquosas a 25° sob condições neutras e básicas (WHO/FAO, 1992) e lipossolúvel (log kow = 4,28 para o isômero p,p'-dicofol e 4,48 para o isômero o,p'-dicofol)(WHO/FAO, 1992; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000).

5.1.2 Estudos de Toxicocinética

Em um estudo em que ratos Sprague-Dawley machos e fêmeas receberam dose oral única de 50 mg/kg de C¹⁴-DDT ou C¹⁴-p,p'-dicofol, o DDT foi mais persistente do que o dicofol. As concentrações mais altas de ambos os compostos foram observadas no tecido adiposo e nas adrenais. As fêmeas geralmente apresentaram maiores níveis de C¹⁴ nos tecidos do que os machos, e o tecido que apresentou as maiores concentrações de C¹⁴ foi o tecido adiposo. A excreção fecal foi a principal via de excreção de ambos os compostos. A meia vida de eliminação estimada para o dicofol foi de 30 h e para o DDT foi de 55-95 h (STEIGERWALT *et al.*, 1984 *apud* CLEVENGER, 1992).

Em um estudo comparativo com ratas Sprague-Dawley que receberam doses múltiplas de 0,5 mg/kg de C¹⁴-p,p'-dicofol ou C¹⁴-DDT pela via oral por 16 dias consecutivos, o DDT também foi mais persistente do que o dicofol. As concentrações de radioatividade no tecido adiposo, fígado e glândulas adrenais não foram significativamente diferentes entre os ratos que receberam dicofol ou DDT em doses múltiplas, mas o dicofol foi eliminado mais rapidamente. A meia vida de eliminação estimada para o dicofol foi de 6-14 dias e para o DDT foi de 7-24 dias (STEIGERWALT *et al.*, 1984 *apud* CLEVENGER, 1992).

Um estudo de toxicocinética comparando o,p'-dicofol e p,p'-dicofol foi conduzido em ratas CDBR, com a administração de uma única dose (50 mg/kg p.c./dia) por gavagem. As ratas tratadas com o,p'-dicofol eliminaram a radioatividade mais rapidamente (100% da dose foi eliminada após 10 dias) do que as ratas tratadas com p,p'-dicofol (80% da dose foi eliminada após 10 dias). Após 10 dias da dosagem, mais radioatividade foi retida no corpo das ratas tratadas com o p,p'-dicofol (~22%) do que aquelas tratadas com o o,p'-dicofol (1%). A maior parte da radioatividade foi detectada no tecido adiposo (DIDONATO *et al.*, 1987 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998).

Após administração oral de uma dose de 50 mg/kg p.c. de C¹⁴-p,p'-dicofol a ratos Sprague-Dawley machos e fêmeas, o p,p'-dicofol foi rapidamente absorvido, sendo a concentração máxima nos tecidos alcançada em 48 h. Após 48 e 168 h da dosagem, o C¹⁴ foi distribuído aos ratos machos no fígado (2,83 e 0,28% do C¹⁴ na dose), no tecido adiposo (34,2% e 3,62%), no sangue (0,77 e 0,11%) e nos rins (0,023% em 168 h), sendo esse tecidos os únicos avaliados neste estudo. A distribuição do C¹⁴ no sangue e nos tecidos das fêmeas foi comparável à dos machos, exceto para o tecido adiposo, que nas fêmeas correspondeu a 83,3 e 22,6% da dose após 48 e 168 h, respectivamente. A principal via de excreção foi a fecal, seguida pela urinária. O isômero p,p'-dicofol; diclorobenzil (DCBH); diclorobenzofenona (DCBP); 1-(2-chlorophenyl)-1-(4'-chlorophenyl)-2,2-dichloroethanol (FW152); OH-DCBP; OH-DCBH; ácido diclorobenzóico (DCBA) e DCBA-glicina, bem como ácido p-cloro-hipúrico (CHA) e ácido p-clorobenzóico (CBA) estavam presentes nos excretas e tecidos. A principal descoberta desse estudo foi a detecção de FW152 em grande quantidade nas amostras de fezes e tecidos e a ausência de quantidades apreciáveis de dicloro-difenil-dicloroetileno (DDE) nas amostras de excretas e tecidos. Apesar da similaridade estrutural com o DDT, o dicofol é metabolizado em ratos por uma via distinta do metabolismo do DDT. Enquanto DDE é o principal metabólito do DDT em ratos, o dicofol é convertido a vários metabólitos que são excretados através das fezes e urina (COMISSÃO EUROPÉIA, 2000).

A proposta da via metabólica do dicofol em ratos está representada na Figura 3. Nas fezes, a maior parte da radiomarcagem extraída estava presente nos machos como FW-152 e DCBH (50-70% combinados) e nas fêmeas como FW-152 e OH-DCBP (50-60% combinados). As fezes continham quantidades menores de

dicofol e OH-DCBH/DCBA-glicina. Na urina, a radiomarcação estava presente principalmente como DCBH-glicina e OH-DCBP/DCBH (25-40% combinados) em ambos os sexos. A urina continha quantidades menores de CBA-glicina, DCBA, OH-DCBH/CBA. Aproximadamente 20% da radiomarcação nas fezes e 30-40% na urina não foi identificada. No tecido adiposo, a maior parte da radiomarcação foi extraída como o composto parental (80-90%), com quantidades menores de DCBP e FW-152 em ambos os sexos. No fígado, a maior parte da radiomarcação foi extraída como FW-152 (70-80%) em ambos os sexos, com quantidades menores de DCBP, dicofol e DCBH. Em algumas amostras foi encontrada pequena quantidade de DDE (TILLMAN E MAZZA, 1986 *apud* CLEVINGER, 1992).

A pequena quantidade de DDE nos tecidos pode ter sido proveniente de impurezas (DDE; DDT e alfa-cloro-DDT)(BROWN E CASIDA, 1987 *apud* CLEVINGER, 1992).

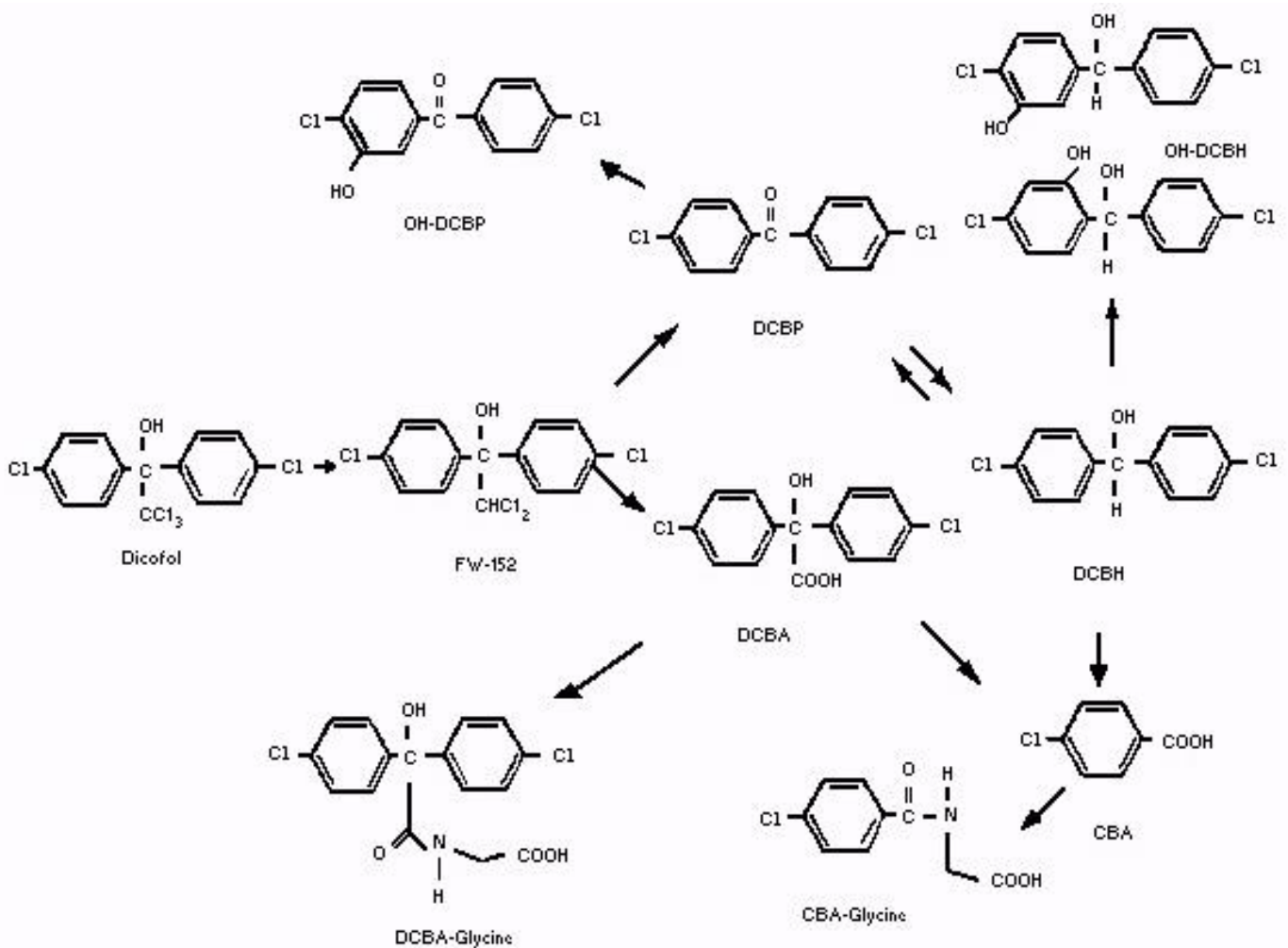


Figura 3 - Metabolismo do dicofol em ratos. Fonte: Clevenger (1992).

5.1.3 Estudos para Avaliação da Atividade Enzimática

5.1.3.1 Estudo 1 - Ensaio de atividade das oxidases de função mista (MFO)

- a) autor: Steigerwalt *et al.* (1984) *apud* Clevenger (1992); Comissão Europeia (2000);
- b) espécie: camundongos machos e fêmeas CD-1;
- c) número de animais/dose: 4 machos e 4 fêmeas;
- d) pureza da substância: 87,6%;
- e) via de administração/duração: gavagem (uma vez ao dia, por 3 dias);
- f) doses: 0; 1,4; 4,4; 14,9; 42,8 e 151 mg/kg p.c.;
- g) resultado: na dose de 151 mg/kg p.c./dia observou-se aumento significativo do peso do fígado nos machos (em 40%) e nas fêmeas (em 29%). O peso corpóreo não foi afetado pelo tratamento com dicofol. O peso do fígado em relação ao peso corpóreo estava significativamente aumentado nos machos tratados com 42,8 mg/kg p.c. (em 25%), nos machos tratados com 151 mg/kg p.c. (em 58%) e nas fêmeas tratadas com 151 mg/kg p.c. (em 42%). Com relação à atividade das MFO, observou-se aumento significativo (em 22 a 43%) nas fêmeas tratadas com a dose de 14,9 mg/kg p.c. e doses superiores. Os machos não apresentaram alteração da atividade das MFO;
- h) NOEL e LOEL do estudo: o documento de Clevenger (1992) não apresentou os valores. Segundo o documento da Comissão Europeia (2000), o NOEL foi de 4,4 mg/kg p.c. e o LOEL foi de 14,9 mg/kg p.c., baseado no aumento da atividade das MFO nas fêmeas;
- i) NOEL e LOEL do estudo assumido neste trabalho: assumiremos os mesmos valores relatados no documento da Comissão Europeia (2000).

5.1.3.2 Estudo 2 - Ensaio de atividade das MFO

- a) autores: Steingerwalt *et al.* (1984) *apud* Clevenger (1992); Comissão Europeia (2000);
- b) espécie: camundongos machos B6C3F1;
- c) número de animais/dose: 4/grupo;

- d) substâncias: dicofol técnico: 87,5% (contendo 78,5% de p,p'-dicofol); p,p'-dicofol; o,p'-dicofol; e 6 análogos estruturais de p,p'-dicofol que são impurezas no dicofol técnico: (i) 1-chloro-1,1-bis-(4-chlorophenyl)-2,2,2-trichloroethane(p,p'-ER8); (ii) 1-chloro-1(2-chlorophenyl)-1-(4-chlorophenyl)-2,2,2-trichloroethane (o,p'-ER8); (iii) 2,2-bis(4-chlorophenyl)-1,1-dichloroethylene (p,p'-DDE); (iv) 1-(2-chlorophenyl)-1-(chlorophenyl)-2,2-dichloroethylene(o,p'-DDE); (v) p,p'-dichlorobenzophenone (DCBP) e (vi) o,p'-DCBP;
- e) via de administração: dieta (por 2 semanas);
- f) doses: dicofol técnico (0; 8; 25; 80; 250 e 800 ppm); p,p'-dicofol (0; 6; 20; 63; 195 e 625 ppm); o,p'-dicofol (37,5 ppm); p,p'-ER-8 (37,5 ppm); o,p'-ER-8 (37,5 ppm); p,p'-DDE (37,5 ppm); o,p'-DDE (37,5 ppm); p,p'-DCBP (20; 63; 195 ppm); o,p'-DCBP (195 ppm);
- g) resultado da administração do dicofol técnico: os animais tratados com doses \geq 80 ppm apresentaram diminuição (em 10 a 20%) do peso corpóreo. Os animais tratados com doses \geq 250 ppm apresentaram sinais clínicos de depressão do sistema nervoso central. Os animais tratados com 250 e 800 ppm apresentaram aumento do peso do fígado em 17% e 43%, respectivamente; aumento da concentração das proteínas microssomais hepáticas em 44% e 52%, respectivamente; e aumento da atividade das MFO em 1,5 a 3,5 vezes, respectivamente;
- h) NOEL e LOEL do dicofol técnico: o documento de Clevenger (1992) não apresentou os valores. Segundo o documento da Comissão Europeia (2000), o NOEL foi de 25 ppm e o LOEL foi de 80 ppm, baseado nas alterações de peso corpóreo;
- i) resultado da administração de p,p'-dicofol: os animais tratados com 625 ppm apresentaram decréscimo do peso corpóreo (em 13%); aumento do peso absoluto (em 39%) e relativo do fígado (em 60%). A administração de p,p'-dicofol também causou aumento da atividade das MFO (aumento de 29% a 120% dependendo da enzima) em doses \geq 63 ppm;
- j) NOEL e LOEL do p,p'-dicofol: o documento de Clevenger (1992) não apresentou os valores. Segundo o documento da Comissão Europeia (2000), o NOEL foi de 20 ppm e o LOEL foi de 63 ppm, baseado no aumento da atividade das MFO;

- k) resultado da administração do o,p'-dicofol e dos 6 análogos estruturais: não foram observados efeitos sobre o peso corpóreo, peso absoluto e relativo do fígado, concentração das proteínas microssomais hepáticas ou atividade das MFO;
- l) conclusão: uma comparação das curvas dose-resposta indicaram que o p,p'-dicofol foi igual ou um pouco menos potente do que o dicofol técnico em concentrações comparáveis de ingrediente ativo. A administração do o,p'-dicofol e dos 6 análogos estruturais não causou toxicidade ou efeitos sobre a atividade enzimática, indicando que esses constituintes do dicofol técnico não têm um papel importante na indução da atividade enzimática. Os autores concluíram que o p,p'-dicofol foi responsável pela maior parte (mas não totalmente) da indução da atividade das MFO nos camundongos tratados com dicofol técnico;
- m) NOAEL e LOAEL assumidos neste trabalho: assumiremos os mesmos valores relatados no documento da Comissão Europeia (2000).

5.1.3.3 Estudo 3 – Indução das CYP1A1; 2B; 2E1 e 3A

- a) autores: Chan *et al.* (2009);
- b) espécie: ratos machos Wistar;
- c) número de animais/dose: 4 animais;
- d) pureza da substância: 97,9% de dicofol (observação: análises de HPLC indicaram que o dicofol não continha isômeros de DDT, DDD e DDE);
- e) via de administração/duração: intraperitoneal (uma vez ao dia, por 4 dias);
- f) doses: 0; 1; 10 e 25 mg/kg p.c.;
- g) resultado: nas doses de 10 e 25 mg/kg p.c./dia, o dicofol induziu aumento estatisticamente significativo da atividade enzimática de várias isoformas do citocromo P450 presentes nos microssomos de fígado de ratos. O dicofol também induziu aumento da atividade enzimática da glutathione S-transferase e da superóxido dismutase. Na dose de 1 mg/kg p.c./dia observou-se tendência de aumento da atividade das enzimas mencionadas.

Nas doses de 10 e 25 mg/kg p.c./dia, o dicofol aumentou os níveis de CYP1A1; CYP2B; CYP2E1 e CYP3A no fígado; e causou o aumento da expressão de RNAm das CYP1A1; CYP2B e CYP3A, mas não da CYP2E1 no fígado. Estes resultados sugerem que o dicofol induz as CYP1A1; CYP2B e CYP3A por

mecanismos transcricionais, enquanto que a indução da CYP2E1 envolve mecanismos pós-transcricionais;

- h) NOAEL e LOAEL do estudo: os autores não estabeleceram NOAEL ou LOAEL;
- i) NOAEL e LOAEL assumidos neste trabalho: não foi possível estabelecer NOAEL, pois na dose mais baixa testada de 1 mg/kg p.c. (assumido como o LOAEL) observou-se aumento (não estatisticamente significativo, mas tendência de aumento dose-resposta) da atividade enzimática do sistema citocromo P450, da glutatona S-transferase e da superóxido dismutase.

Resumindo, os estudos de toxicocinética e de atividade enzimática indicam que, apesar de sua similaridade estrutural com o DDT, o dicofol apresenta um perfil toxicocinético diferente, sendo excretado mais rapidamente do que o DDT e não gerando o metabólito DDE, que é considerado carcinogênico (EPA, 1998) e um potente anti-androgênico (KELCE *et al.*, 1995, *apud* THIEL *et al.*, 2011). Porém, no estudo de metabolismo em ratos o dicofol também foi metabolizado a DCBP, que é estruturalmente análoga ao DDE (THIEL *et al.*, 2011). Segundo Thiel *et al.* (2011), as DCBP apresentaram potente ação anti-androgênica em estudos *in vitro*.

O p,p'-dicofol administrado aos ratos foi bastante absorvido e rapidamente distribuído no corpo, sendo as maiores concentrações observadas nos tecidos adiposos e adrenais. A principal via de excreção foi a fecal, seguida pela urinária. No tecido adiposo foram encontradas as maiores concentrações de dicofol, e por isso foi considerado um potencial local de acúmulo do dicofol, especialmente nas fêmeas. O p,p'-dicofol foi metabolizado principalmente pelas MFO para metabólitos mais polares. O p,p'-dicofol foi eliminado mais lentamente do organismo do que o o,p'-dicofol.

5.1.4 Estudos de Genotoxicidade *in vitro*

5.1.4.1 Estudo 1 – Teste de Ames – mutação gênica

- a) autor: Higginbotham (1985) *apud* Clevenger (1992); Comissão Européia (2000);
- b) sistema-teste: bactérias *Salmonella typhimurium* linhagens TA1535, TA1537, TA98, TA100;
- c) pureza da substância: 95,6%;

- d) concentrações: 5 a 5000 µg/placa;
- e) ativação metabólica: com e sem S9;
- f) resultado: negativo.

5.1.4.2 Estudo 2 - Teste de Ames – mutação gênica

- a) autores: Shirasu *et al.* (1980) *apud* Clevenger (1992);
- b) sistema-teste: bactérias *Salmonella typhimurium* linhagens TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100;
- c) pureza da substância: 89,9%;
- d) concentrações: 1 a 1000 µg/placa;
- e) ativação metabólica: com e sem S9;
- f) resultado: negativo.

5.1.4.3 Estudo 3 - Teste com *E. coli* – mutação gênica

- a) autores: Shirasu *et al.* (1980) *apud* Clevenger (1992);
- b) sistema-teste: bactérias *E. coli* WP2;
- c) pureza da substância: 89,9%;
- d) concentrações: 1 a 5000 µg/placa;
- e) ativação metabólica: com e sem S9;
- f) resultado: negativo.

5.1.4.4 Estudo 4 – Teste HGPRT/CHO – mutação gênica

- a) autor: Foxall (1986) *apud* Clevenger (1992); Comissão Européia (2000);
- b) sistema-teste: células de ovário de hamster chinês (CHO);
- c) pureza da substância: 95,6%;
- d) concentrações: 3 a 20 µg/mL;
- e) ativação metabólica: com e sem S9;
- f) resultado: negativo.

5.1.4.5 Estudo 5 – Teste de aberração cromossômica (clastogenicidade)

- a) autor: Ivett (1986) *apud* Clevenger (1992); Comissão Européia (2000);

- b) sistema-teste: células CHO;
- c) pureza da substância: 95,6%;
- d) concentrações: 7 a 20 µg/mL;
- e) resultado: negativo.

5.1.4.6 Estudo 6 – Síntese de DNA não programada

- a) autores: Foxall e Byers (1985) *apud* Clevenger (1992); Comissão Europeia (2000);
- b) sistema-teste: hepatócitos de ratos machos adultos CRCD;
- c) pureza da substância: 95,6%;
- d) concentrações: 0,025 a 0,5 µg/mL;
- e) resultado: negativo.

5.1.5 Estudos de Genotoxicidade in vivo

5.1.5.1 – Estudo 1 – Teste in vivo de clastogenicidade em células de medula óssea

- a) autores: Sames e Doolittle (1986) *apud* Clevenger (1992); Comissão Europeia (2000);
- b) espécie: ratos CRL:COBS-CD(SD);
- c) via de administração: gavagem;
- d) pureza da substância: 89,6%;
- e) doses: 47,8 a 478 mg/kg p.c.;
- f) resultado: negativo. Observação: considerando a descrição do estudo pela Comissão Europeia (2000), detectamos desvios de protocolo na condução do estudo, como por exemplo, análise de menor número de células por animal e uso de apenas um gênero. Com relação ao número de células, segundo o protocolo OECD 475 (1997), devem ser analisadas pelo menos 100 células por animal, e no estudo em questão foram analisadas apenas 50 células por animal.

Resumindo, os resultados dos estudos de genotoxicidade/mutagenicidade, embora não tenham sido conduzidos totalmente de acordo com os atuais protocolos internacionais, indicam que o dicofol não é mutagênico.

5.1.6 Toxicidade Aguda

A Tabela 1 resume os resultados dos estudos de toxicidade aguda conduzidos com o produto técnico dicofol e a classe toxicológica de acordo com a Portaria nº 3 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1992).

Tabela 1 - Toxicidade aguda do produto técnico dicofol

Teste	Resultados	Autores	Classe toxicológica (*)
DL ₅₀ oral – ratos (M)	595 mg/kg p.c.	Krzywicki e Bonin (1985) <i>apud</i> Clevenger (1992)	III – Medianamente tóxico
DL ₅₀ oral – ratos (F)	587 mg/kg p.c.		III – Medianamente tóxico
DL ₅₀ oral – camundongos (M)	669 mg/kg p.c.	Onishi (1989) <i>apud</i> Clevenger (1992)	Não se aplica
DL ₅₀ oral – camundongos (F)	675 mg/kg p.c.		Não se aplica
DL ₅₀ oral – coelhos (M)	1810 mg/kg p.c.	Smith <i>et al.</i> (1959) <i>apud</i> Clevenger (1992)	Não se aplica
DL ₅₀ oral – cães (M,F)	>4000 mg/kg p.c.	Smith <i>et al.</i> (1959) <i>apud</i> Clevenger (1992)	Não se aplica
DL ₅₀ dérmica – ratos (M,F)	>5000 mg/kg p.c.	Ferguson <i>et al.</i> (2000) <i>apud</i> EPA (1998)	IV – Pouco tóxico
DL ₅₀ dérmica – coelhos	2000 – 5000 mg/kg p.c.	Krzywicki e Bonin (1985) <i>apud</i> EPA (1998)	Não se aplica
CL ₅₀ inalatória – ratos	>4,2 mg/L	Autor não informado (EPA, 1998)	III – Medianamente tóxico
CL ₅₀ inalatória – ratos	>5 mg/L	Fisher e Hagan (1987) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998)	III – Medianamente tóxico
Irritação ocular – coelhos	Irritação moderada	Bonin (1995) <i>apud</i> EPA (1998)	No resumo do estudo não foram descritos efeitos de reversibilidade, não sendo possível classificar o produto
Irritação dérmica – coelhos	Irritação moderada	Bonin (1995) <i>apud</i> EPA (1998)	III - Medianamente tóxico
Sensibilização dérmica – cobaias	Não sensibilizante	Shapiro (1986) <i>apud</i> EPA (1998)	Não se aplica
Sensibilização dérmica – cobaias	Sensibilizante	Bonin e Hazelton (1987) <i>apud</i> Clevenger (1992)	Não se aplica

Legenda: M: machos; F: fêmeas. (*) de acordo com a Portaria nº 3 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1992).

Conforme pode ser observado na Tabela 1, o produto técnico de dicofol apresentou toxicidade aguda mediana aos roedores, coelhos e cães pelas vias oral, dérmica, inalatória e ocular, e apresentou potencial de sensibilização dérmica em cobaias. Com os dados disponíveis nos resumos dos estudos, o produto técnico

seria classificado como III – Medianamente tóxico, segundo a Portaria nº 3 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1992). Esse resultado é diferente da classe toxicológica do dicofol constante na monografia D-14 da Anvisa (consta como Classe II – Altamente tóxico) provavelmente devido a mais informações disponíveis nos estudos constantes na ANVISA.

5.1.7 Toxicidade Sub-crônica

5.1.7.1 Estudo 1 - Estudo de toxicidade subcrônica (4 semanas) via dérmica com ratos

- a) autores: Lampe e Baldwin (1990) *apud* Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000);
- b) espécie: ratos CD;
- c) número de animais/grupo: 6/sexo/dose;
- d) pureza da substância: 480 g/L de dicofol (a substância teste foi o Kelthane MF, uma formulação concentrado emulsionável);
- e) doses: 0 (água); 0 (branco da formulação); 1,0; 2,5; 4,0 e 40,0 mg/kg p.c./dia. Observação: o branco da formulação foi uma mistura contendo 2 co-formulantes em diferentes porcentagens (metil oleato 77,4% e Sponto 22,6%);
- f) via de administração/duração: dérmica – 28 dias;
- g) resultado: diminuição do peso corpóreo e do ganho de peso corpóreo nos machos tratados com 40 mg/kg p.c./dia e aumento do peso relativo do fígado e da incidência de hipertrofia hepatocelular centrolobular nos machos e fêmeas tratados com 40 mg/kg p.c./dia. Também foi observado aumento da atividade da alanina aminotransferase e aumento da inflamação no fígado dos machos tratados com 40 mg/kg p.c./dia. Os efeitos de irritação dérmica foram observados nos animais que foram administrados com o branco da formulação e nos animais tratados com 40 mg/kg p.c./dia, sendo estes efeitos atribuídos ao veículo e não ao ingrediente ativo;
- h) NOAEL e LOAEL do estudo: segundo o documento de Clevenger (1992); da EPA (1998) e da Comissão Européia (2000), o NOAEL foi 4 mg/kg p.c./dia e o LOAEL foi 40 mg/kg p.c./dia, baseados nos efeitos hepáticos e nas alterações de peso corpóreo;

- i) NOAEL e LOAEL do estudo assumido neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 4 mg/kg p.c./dia e o LOAEL de 40 mg/kg p.c./dia.

5.1.7.2 Estudo 2 - Estudo de toxicidade subcrônica (4 semanas) via dérmica com coelhos

- a) autores: Bonin *et al.* (1986) *apud* Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000);
- b) espécie: coelhos Nova Zelândia;
- c) número de animais/grupo: 6/sexo/dose;
- d) pureza da substância: 480 g/L de dicofol (a substância teste foi o Kelthane MF, uma formulação concentrado emulsionável);
- e) doses: 0 (água); 0 (branco da formulação); 4,1; 10,2 e 61,1 mg/kg p.c./dia. Observação: o branco da formulação foi uma mistura contendo 2 co-formulantes em diferentes porcentagens (metil oleato 77,4% e Sponto 22,6%);
- f) via de administração/duração: dérmica – 28 dias;
- g) resultado: os machos tratados com 10,2 mg/kg p.c./dia e os machos e as fêmeas tratados com 61,1 mg/kg p.c./dia apresentaram diminuição do ganho de peso corpóreo (56-65%) quando comparados com os grupos controles. A substância teste causou irritação dérmica (eritema e edema) e alterações histopatológicas (hiperqueratose, acantose e inflamação) nos animais em todas as doses testadas e também no grupo tratado com o branco da formulação. Portanto, a irritação dérmica foi atribuída ao veículo da formulação e não ao ingrediente ativo;
- h) NOAEL e LOAEL do estudo: segundo o documento de Clevenger (1992); da EPA (1998) e da Comissão Européia (2000), o NOAEL foi 4,1 mg/kg p.c./dia e o LOAEL foi 10,2 mg/kg p.c./dia, baseado na diminuição do ganho de peso corpóreo nos machos;
- i) NOAEL e LOAEL do estudo assumido neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 4,1 mg/kg p.c./dia e o LOAEL de 10,2 mg/kg p.c./dia.

5.1.7.3 Estudo 3 - Estudo de toxicidade subcrônica (3 meses) via dieta com ratos

- a) autores: Goldman *et al.* (1986) *apud* Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000);
- b) espécie: rato Crl-CD (SD);
- c) número de animais/grupo: 10/sexo/dose;
- d) pureza da substância: 95,6%;
- e) via de administração/duração: dieta – 90 dias;
- f) doses: 0; 1; 10; 100; 500 e 1500 ppm, equivalentes a 0; 0,07; 0,64; 6,49; 32,01 e 95,84 mg/kg p.c./dia para os machos; e 0; 0,08; 0,78; 7,84; 36,11 e 105,91 mg/kg p.c./dia para as fêmeas;
- g) resultado: Mortalidade: 5/10 machos e 8/10 fêmeas tratados com a dose de 1500 ppm morreram durante o período de tratamento. Sinais clínicos: as fêmeas tratadas com 500 ppm apresentaram fezes escassas, amolecidas e/ou com muco. Consumo de alimento e peso corpóreo: diminuição de ambos os parâmetros nos animais tratados com 500 e 1500 ppm; e as fêmeas tratadas com 100 ppm também apresentaram diminuição do peso corpóreo. Hematologia: após 3 e 13 semanas, os animais tratados com 500 e/ou 1500 ppm apresentaram diminuição do Volume Corpuscular Médio (MCV), Hemoglobina Corpuscular Média (MCH), Hematócrito (HCT) e aumento da contagem de plaquetas. Parâmetros bioquímicos: após 3 e 13 semanas, os animais tratados com 500 e/ou 1500 ppm apresentaram aumento dos níveis de colesterol; aumento dos níveis de alanina aminotransferase; gama-GT e fosfatase alcalina; diminuição dos níveis de triglicérides e glicose; diminuição dos níveis de albumina e aumento dos níveis de globulina, e conseqüente diminuição na proporção albumina/globulina. Níveis de corticosterona (análise na 11^a semana): decréscimos significativos foram observados nas fêmeas tratadas com 500 ppm e em ambos os sexos tratados com 1500 ppm. Atividade das MFO: aumento significativo foi observado nos animais de ambos os sexos tratados com doses \geq 100 ppm. Observações macroscópicas: fígados aumentados nos animais de ambos os sexos tratados com 1500 ppm; fígados escuros nos machos tratados com 500 ppm e nos animais de ambos os sexos tratados com 1500 ppm; e baços pequenos nas fêmeas tratadas com 1500 ppm. Peso de órgãos: aumento do peso absoluto e/ou relativo do fígado nos animais tratados com doses \geq 100

ppm; aumento do peso relativo dos rins nos animais tratados com doses ≥ 500 ppm; aumento do peso absoluto e/ou relativo das adrenais nos animais tratados com doses ≥ 500 ppm. Observações microscópicas: no fígado observou-se hipertrofia hepatocelular nos animais de ambos os sexos tratados com doses ≥ 100 ppm, necrose hepatocelular nos animais tratados com doses ≥ 500 ppm; corpos eosinofílicos citoplasmáticos nos hepatócitos lobulares periféricos e macrófagos contendo pigmento marrom amarelado nas áreas centrolobulares nos machos tratados com 1500 ppm.

Nas glândulas adrenais, observou-se vacuolização difusa nas células do córtex nos animais de ambos os sexos tratados com doses ≥ 500 ppm e hiperplasia focal no córtex periférico nos machos tratados com 1500 ppm.

No coração observou-se aumento da gravidade de miocardite multifocal e fibrose focal do miocárdio nos machos tratados com 1500 ppm, e 1 macho tratado com 1500 ppm também apresentou dilatação ventricular.

Na tireóide observou-se hipertrofia do epitélio folicular nos machos tratados com doses ≥ 10 ppm e nas fêmeas tratadas com doses ≥ 500 ppm. As alterações na tireóide não foram claramente correlacionadas com o tratamento, segundo a descrição do estudo no documento da Comissão Européia (2000).

- h) NOAEL e LOAEL do estudo: segundo o documento de Clevenger (1992); da EPA (1998) e da Comissão Européia (2000), o NOAEL foi 1 ppm (0,07 mg/kg p.c./dia) e o LOAEL foi 10 ppm (0,64 mg/kg p.c./dia), com base nos efeitos histopatológicos na tireóide observados nos machos;
- i) NOAEL e LOAEL do estudo assumido neste trabalho: como o único efeito observado na dose de 10 ppm (0,64 mg/kg p.c./dia) foram as alterações na tireóide e estas não foram claramente correlacionadas com o tratamento com dicofol, assumiremos o NOAEL de 10 ppm (0,64 mg/kg p.c./dia) e o LOAEL de 100 ppm (6,49 mg/kg p.c./dia), baseado na hipertrofia hepatocelular, aumento da atividade das MFO e aumento do peso do fígado. Outro fato que também pesou para que a dose de 10 ppm fosse considerada o NOAEL, e não o LOAEL, foi que no estudo crônico com ratos (HAZELTON e HARRIS, 1989 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000), um grupo adicional de animais foi tratado por 3 meses com doses entre 0,22 mg/kg p.c./dia e 14 mg/kg p.c./dia e avaliado quanto às concentrações dos hormônios T3, T4 e

TSH e histopatologia na tireóide e não foi observada diferença em relação ao grupo controle.

5.1.7.4 Estudo 4 - Estudo de toxicidade subcrônica (3 meses) via dieta com camundongos

- a) autores: Goldman e Harris (1986) *apud* Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000);
- b) espécie: camundongos Crl:CD-1 (ICR) BR;
- c) número de animais/grupo: 10/sexo/dose;
- d) pureza da substância: 95,6%;
- e) doses: 0; 10; 125; 250; 500 e 1000 ppm, equivalentes a 0; 1,6; 18,2; 38,2; 84,4 e 178,4 mg/kg p.c./dia para os machos e 0; 2,1; 29,3; 56,2; 108,0 e 188,4 mg/kg p.c./dia para as fêmeas;
- f) via de administração/duração: dieta - 90 dias;
- g) resultado: Consumo de alimento: apenas as fêmeas tratadas com 1000 ppm tiveram redução do consumo de alimento até a 13ª semana do estudo. Peso corpóreo: diminuição do peso corpóreo dos animais tratados com doses \geq 125 ppm. Hematologia: as fêmeas tratadas com 1000 ppm apresentaram decréscimo de glóbulos vermelhos, hemoglobina e hematócrito e aumento da contagem de plaquetas; algumas também apresentaram alteração na contagem diferencial da série branca e leve a moderado grau de esferocitose e/ou microcitose. Parâmetros bioquímicos: aumento dos níveis de alanina aminotransferase nos animais de ambos os sexos tratados com doses \geq 250 ppm; aumento de triglicérides nos animais tratados com doses \geq 500 ppm; aumento da proteína total e globulina nos animais de ambos os sexos tratados com 1000 ppm; aumento dos níveis de albumina e cálcio e decréscimo de glicose nos machos tratados com 1000 ppm; e aumento da creatinina nas fêmeas tratados com 1000 ppm. Observações macroscópicas: fígados aumentados e pálidos com arquitetura proeminente dos lóbulos foram observados nos machos e fêmeas tratados com doses \geq 500 ppm. Rins pálidos e/ou dilatados nas fêmeas tratadas com doses \geq 500 ppm. Peso de órgãos: aumento do peso absoluto e relativo do fígado nas fêmeas em doses \geq 125 ppm e nos machos em doses \geq 250 ppm; decréscimo do peso absoluto dos rins nos machos tratados com 1000 ppm.

Atividade das MFO: aumento da atividade das MFO nos machos e fêmeas tratados com doses ≥ 125 ppm. Concentração de proteínas microssomais hepáticas: aumento nos animais tratados com doses ≥ 500 ppm. Observações microscópicas: Fígado: hipertrofia hepatocelular centrolobular foi observada em ambos os sexos em doses ≥ 250 ppm; necrose e vacuolização dos hepatócitos hipertrofiados foram observados em ambos os sexos em doses ≥ 250 ppm. Adrenais: hipertrofia difusa no córtex das adrenais foi observada nos machos em doses ≥ 500 ppm e nas fêmeas tratadas com 1000 ppm. Rins: dilatação e degeneração dos túbulos corticais dos rins foi observada nas fêmeas em doses ≥ 500 ppm. As fêmeas tratadas com 1000 ppm também apresentaram outras lesões nos rins: hiperplasia das células epiteliais das papilas, hiperplasia e necrose do epitélio dos ductos coletores e vacuolização do epitélio tubular na parte externa da medula. Bexiga urinária: hiperplasia também foi observada em 2 fêmeas na dose de 1000 ppm. Análise de corticosterona: não foi realizada;

- h) NOAEL e LOAEL do estudo: segundo o documento de Clevenger (1992); da EPA (1998) e da Comissão Européia (2000), o NOAEL foi 10 ppm (1,6 mg/kg p.c./dia) e o LOAEL foi 125 ppm (18,2 mg/kg p.c./dia), baseado na diminuição do peso corpóreo em ambos os sexos, aumento do peso do fígado em fêmeas e aumento da atividade das MFO em ambos os sexos;
- i) NOAEL e LOAEL do estudo assumido neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 10 ppm (1,6 mg/kg p.c./dia) e o LOAEL de 125 ppm (18,2 mg/kg p.c./dia).

5.1.7.5 Estudo 5 – Estudo de toxicidade subcrônica (3 meses) via dieta com cães

- a) autor: Shellenberger (1986) *apud* Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000);
- b) espécie: cães Beagle;
- c) número de animais/grupo: 6/sexo/dose;
- d) pureza da substância: 93,3% i.a.;
- e) via de administração/duração: dieta - 90 dias;
- f) doses: 0; 10; 100; 300 e 1000 ppm, equivalentes a 0; 0,29; 3,3; 9,9 e 26 mg/kg p.c./dia para os machos e 0; 0,31; 3,4; 9,8 e 27 mg/kg p.c./dia para as fêmeas;

g) resultado: Mortalidade: 5/6 machos e 5/6 fêmeas tratados com 1000 ppm foram encontrados mortos ou foram eutanasiados devido ao estado moribundo. Sinais clínicos: animais de ambos os sexos tratados com 300 e 1000 ppm apresentaram inatividade, salivação excessiva, dificuldade respiratória, diarreia com coloração avermelhada, desidratação e falta de coordenação. Parâmetros bioquímicos: análises foram feitas no pré-teste, na 4ª semana e antes do término do estudo. Os animais de ambos os sexos tratados com 300 e/ou 1000 ppm apresentaram efeitos consistentes com danos no fígado, tais como aumento dos níveis de aspartato transaminase, alanina transaminase, fosfatase alcalina; diminuição dos níveis de albumina e da proporção albumina/globulina. Também observou-se diminuição dos níveis de cálcio e diminuição dos níveis de colesterol. Avaliação dos níveis de cortisol: os níveis de cortisol foram determinados nos animais no período de pré-tratamento, na 4ª e na 12ª semana de tratamento. Antes da injeção de ACTH, os níveis de cortisol entre os grupos tratados e o grupo controle eram similares. Após 30 e 90 minutos da injeção de ACTH, os níveis de cortisol sérico foram consistentemente mais baixos (50-75%) nos animais de ambos os sexos tratados com doses ≥ 100 ppm em relação ao grupo controle, sendo que os decréscimos apresentaram relação dose-resposta e significância estatística na maior parte das avaliações. Avaliação cardíaca: os animais tratados com 300 ppm e 1000 ppm apresentaram alterações na avaliação do eletrocardiograma (prolongamento dos intervalos de QT e PR). Peso de órgãos: aumento do peso absoluto e relativo do fígado em machos tratados com 300 e 1000 ppm e em fêmeas tratadas com 1000 ppm. Exame macroscópico: animais de ambos os sexos tratados com 1000 ppm apresentaram hemorragia e congestão no trato gastrointestinal, bem como icterícia da pele abdominal e muco nas mucosas da esclera, cavidade oral e vagina. Exame microscópico: lesões no fígado (necrose, degeneração hidrópica e infiltração de células mononucleares nos machos e nas fêmeas tratados com 1000 ppm); nos testículos (oligo espermatogênese em 3 machos no grupo de 300 ppm e em 5 machos no grupo de 1000 ppm) e no coração (necrose do miocárdio em 1 macho tratado com 1000 ppm). Enterite hemorrágica gastrointestinal e congestão foram observados nos machos e nas fêmeas tratados com 1000 ppm que foram encontrados mortos ou eutanasiados em estado moribundo, mas estes efeitos não foram observados nos animais

sobreviventes. Hipoplasia da próstata foi observada nos machos tratados com 1000 ppm que foram encontrados mortos ou foram eutanasiados em estado moribundo.

- h) NOAEL e LOAEL do estudo: segundo o documento de Clevenger (1992); da EPA (1998) e da Comissão Européia (2000), o NOAEL foi 10 ppm (0,29 mg/kg p.c./dia) e o LOAEL foi 100 ppm (3,3 mg/kg p.c.), baseado na diminuição dos níveis de cortisol nos animais de ambos os sexos em resposta à administração de ACTH e aumento do peso do fígado;
- i) NOAEL e LOAEL do estudo assumido neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 10 ppm (0,29 mg/kg p.c./dia) e LOAEL de 100 ppm (3,3 mg/kg p.c./dia).

5.1.7.6 Estudo 6 - Estudo de toxicidade subcrônica (3 meses) via dérmica com cães

- a) autores: Ferguson *et al.* (1998) *apud* EPA (1999);
- b) espécie: cães Beagle;
- c) número de animais/grupo: 6 machos/dose;
- d) pureza da substância: Kelthane 50 pó molhável (49,8% i.a.);
- e) via de administração/duração: dérmica – 90 dias (6 h/dia; 5 dias/semana);
- f) doses: 0; 3; 10; 20 e 75 mg/kg p.c./dia;
- g) resultado: os sinais clínicos, mortalidade, consumo de alimento e peso corpóreo não foram afetados nos grupos tratados. Os níveis de cortisol foram mensurados em todos os cães durante o período anterior ao teste e após 1; 2; 4; 9; 11 e 13 semanas de tratamento; as amostras foram coletadas 30 minutos antes e 30 e 90 minutos após receberem uma injeção de ACTH. Antes de injetar o ACTH, os níveis de cortisol nos cães tratados com dicofol foram comparáveis àqueles dos cães do grupo controle. Entretanto, após 30 min da administração de ACTH, foram observados decréscimos dos níveis de cortisol relacionados ao tratamento na 13^a semana nos grupos tratados com 10 e 20 mg/kg e na 9^a, 11^a e 13^a semanas no grupo tratado com 75 mg/kg. Após 90 min da administração de ACTH, os decréscimos dos níveis de cortisol relacionados ao tratamento com dicofol foram ainda mais aparentes. Nos grupos tratados com 10; 20 e 75 mg/kg, os decréscimos dos níveis de cortisol foram observados a partir da 4^a semana até o final do estudo,

entretanto, para o grupo de 10 mg/kg este efeito não foi mais estatisticamente significativo no período entre a 4^a e 9^a semanas, após um ajuste com os níveis basais de cortisol, enquanto que para os outros grupos o decréscimo continuou sendo estatisticamente significativo. No grupo tratado com 3 mg/kg, não foi observado decréscimo estatisticamente significativo dos níveis de cortisol após as injeções de ACTH, embora tenha sido observada uma tendência dose-resposta entre a 4^a e a 13^a semanas.

Os decréscimos dos níveis de cortisol apresentaram uma relação dose-resposta e também temporal, pois quanto maior foi a dose de dicofol, menor foi o intervalo de tempo para se observar decréscimos estatisticamente significativos dos níveis de cortisol sérico. Isto pode indicar que, com a dosagem continuada, um lento acúmulo de dicofol poderia estar ocorrendo no corpo e assim, a dose efetiva seria alcançada mais rapidamente nas doses mais altas. Isto está embasado pelo fato de que o dicofol tem uma meia vida de eliminação estimada em aproximadamente 30 h;

- h) NOAEL e LOAEL do estudo: segundo a EPA (1999), considerando o estudo como um todo, o NOAEL seria de 3 mg/kg p.c./dia e o LOAEL seria de 10 mg/kg p.c./dia. Entretanto, dependendo da duração do cenário de exposição ocupacional (curto, intermediário ou longo prazo), a EPA estabeleceu diferentes valores de NOAEL, considerando o tempo em que os efeitos sobre o cortisol foram observados no estudo. Por exemplo, para o cenário de exposição dérmica de curto prazo (1 a 7 dias), a EPA estabeleceu um NOAEL de 75 mg/kg p.c./dia, pois o efeito sobre as adrenais só foi observado após a 4^a semana de tratamento com dicofol. Para o cenário de exposição dérmica intermediária (7 dias a vários meses), a EPA estabeleceu um NOAEL de 3 mg/kg p.c./dia;
- i) NOAEL e LOAEL do estudo assumido neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 3 mg/kg p.c./dia e o LOAEL de 10 mg/kg p.c./dia, com base na diminuição da secreção de cortisol, considerando o estudo como um todo.

Resumindo, os resultados dos estudos subcrônicos indicam que o fígado e as adrenais foram os principais órgãos-alvo em todas as espécies testadas.

Nos estudos com exposição pela via dérmica por um período de 28 dias, o NOAEL foi 4 mg/kg p.c./dia tanto para ratos (LAMPE e BALDWIN, 1990 *apud*

CLEVINGER, 1992; EPA (1998); COMISSÃO EUROPÉIA, 2000) como para coelhos (BONIN *et al.*, 1986 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA (1998); COMISSÃO EUROPÉIA, 2000). Também foi conduzido um estudo com cães tratados pela via dérmica por 90 dias, sendo o NOAEL de 3 mg/kg p.c./dia e o LOAEL de 10 mg/kg p.c./dia, com base na diminuição dos níveis de cortisol após desafio com ACTH (FERGUSON *et al.*, 1998 *apud* EPA, 1999).

Nos estudos com exposição pela via oral por um período de 90 dias, foram disponíveis três estudos, conduzidos com ratos, camundongos e cães. No estudo com ratos o NOAEL foi 0,64 mg/kg p.c./dia e o LOAEL foi 6,5 mg/kg p.c./dia, com base em efeitos no fígado (GOLDMAN *et al.*, 1986 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000). No estudo com camundongos, o NOAEL foi 1,6 mg/kg p.c./dia e o LOAEL foi 18,2 mg/kg p.c./dia, com base na diminuição do peso corpóreo e nos efeitos no fígado (GOLDMAN e HARRIS, 1986 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000). No estudo com cães, o NOAEL foi 0,29 mg/kg p.c./dia e o LOAEL foi 3,3 mg/kg p.c./dia, com base na diminuição dos níveis de cortisol após desafio com ACTH e efeitos no fígado (SHELLENBERGER, 1986 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000).

5.1.8 Toxicidade Crônica

5.1.8.1 Estudo 1 – Estudo de toxicidade crônica (1 ano) via dieta com cães

- a) autor: Tegeris (1988) *apud* Clevenger (1992); EPA (1998, 1999); Comissão Européia (2000);
- b) espécie: cães Beagle;
- c) número de animais/grupo: 6/sexo/dose;
- d) pureza da substância: 93,3% i.a.;
- e) via de administração/duração: dieta – 1 ano;
- f) doses: 0; 5; 30 e 180 ppm, equivalentes a 0; 0,12; 0,82 e 5,71 mg/kg p.c./dia para os machos e 0; 0,13; 0,85 e 5,42 mg/kg p.c./dia para as fêmeas;
- g) resultado: segundo a descrição do estudo pela EPA (1998, 1999), houve inibição da liberação de cortisol (após estímulo com ACTH) nos animais de ambos os sexos tratados com doses a partir de 30 ppm. Porém, segundo a descrição do

estudo por Clevenger (1992) e Comissão Européia (2000), esse efeito somente foi observado nos animais tratados com 180 ppm. Segundo a descrição do estudo por Clevenger (1992); EPA (1998, 1999) e Comissão Européia (2000), os animais tratados com 180 ppm também apresentaram aumento dos níveis de fosfatase alcalina, aumento do peso do fígado e hipertrofia dos hepatócitos;

- h) NOAEL e LOAEL do estudo: segundo o documento de Clevenger (1992) e Comissão Européia (2000), o NOAEL foi 30 ppm (0,82 mg/kg p.c./dia) e o LOAEL foi 180 ppm (5,42 mg/kg p.c./dia), baseado nos efeitos histopatológicos e bioquímicos do fígado e redução da resposta de liberação de cortisol após desafio com ACTH. Porém, segundo a EPA (1998, 1999), o NOAEL foi 5 ppm (0,12 mg/kg p.c./dia) e o LOAEL foi 30 ppm (0,82 mg/kg p.c./dia), baseado na diminuição da secreção de cortisol em resposta a injeções de ACTH nos animais de ambos os sexos;
- i) NOAEL e LOAEL do estudo assumido neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 5 ppm (0,12 mg/kg p.c./dia) e o LOAEL de 30 ppm (0,82 mg/kg p.c./dia) descritos pela EPA (1998, 1999), considerando que o decréscimo dos níveis de cortisol nos animais tratados com dicofol parece ser um efeito que se repete nos estudos toxicológicos.

5.1.8.2 Estudo 2 - Estudo de toxicidade crônica (78 semanas) via dieta com ratos

- a) autor: Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos (NCI, 1978) *apud* Clevenger (1992); EPA (1998);
- b) espécie: ratos Osborne-Mendel;
- c) número de animais/grupo: 50/sexo/dose; controle: 20/sexo;
- d) pureza da substância: foi inicialmente relatada como 40-60%, mas análises posteriores indicaram 87-93% de pureza;
- e) doses: os machos receberam concentrações de 470 e 940 ppm (média em função do tempo/peso) e as fêmeas receberam concentrações constantes de 380 e 760 ppm. Essas concentrações na dieta foram equivalentes a 24 e 47 mg/kg p.c./dia para os machos e 19 e 38 mg/kg p.c./dia para as fêmeas;
- f) via de administração/duração: dieta - 78 semanas, seguido por 34 semanas sem tratamento;

- g) resultado: os machos e as fêmeas apresentaram diminuição do peso corpóreo. Não foram observados tumores relacionados à administração de dicofol. Observação: considerando a descrição do estudo, é possível inferir que ele teve deficiências na condução, tais como o uso de somente 2 grupos de tratamento, duração do estudo de 78 semanas ao invés de 104 semanas e uso de somente 20 animais/sexo no grupo controle.
- h) NOAEL e LOAEL do estudo: não foi possível estabelecer, devido aos desvios de condução do estudo;
- i) NOAEL e LOAEL do estudo assumido neste trabalho: não foi possível estabelecer.

5.1.8.3 Estudo 3 - Estudo de toxicidade crônica/oncogenicidade (24 meses) via dieta com ratos

- a) autores: Hazelton e Harris (1989) *apud* Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000);
- b) espécie: ratos CRL:CD BR;
- c) número de animais/grupo: 60/sexo/dose para a avaliação até o final do estudo (24 meses) e outros 10/sexo/dose para a realização de eutanásias intermediárias (3; 12 e 18 meses). Um grupo adicional de 10/sexo/dose foi tratado por 3 meses, avaliado quanto à função da tireóide, e depois alimentado somente com dieta sem dicofol por 2 meses, como um período de recuperação, e necropsiados;
- d) pureza da substância: 93,3%;
- e) doses: 0; 5; 50 ou 250 ppm, equivalentes a 0; 0,22; 2,23 e 11,34 mg/kg p.c./dia para os machos e 0; 0,27; 2,69 e 14,26 mg/kg p.c./dia para as fêmeas;
- f) via de administração/duração: dieta – 24 meses;
- g) resultado: Consumo de alimento: leve diminuição do consumo nas fêmeas tratadas com 50 ppm e nos machos e nas fêmeas tratados com 250 ppm. Peso corpóreo: diminuição em 15% e 28% nos machos e fêmeas tratados com 250 ppm. Parâmetros bioquímicos: diminuição dos níveis de triglicérides nos machos e nas fêmeas tratados com 250 ppm, que foi atribuído à redução do peso corpóreo e do consumo de alimento nesse grupo. Função da tireóide (uma avaliação após 3 meses): as concentrações de T3, T4 e TSH em todos os

grupos tratados foram comparáveis ao grupo controle. Determinação da corticosterona (análises após 2; 5; 11; 17 e 23 meses): os grupos tratados foram comparáveis ao grupo controle. Atividade das MFO (análises após 3 e 12 meses): houve aumento da atividade das MFO nos machos e fêmeas tratados com 50 e 250 ppm. Observações macroscópicas: fígado com arquitetura proeminente e descoloração focal nos grupos de 50 e/ou 250 ppm; bexiga urinária com aparência irregular ou espessamento nas fêmeas tratadas com 250 ppm. Peso de órgãos: aumento do peso relativo do fígado (9 - 31%) nos animais de ambos os sexos tratados com 50 e 250 ppm. Observações microscópicas: no fígado, observou-se hipertrofia dos hepatócitos centrolobulares e vacuolização citoplasmática centrolobular ou na zona intermediária, além de necrose multifocal, alterações eosinofílicas celulares ou hiperplasia focal nos animais de ambos os sexos tratados com 50 e 250 ppm (nas análises no 3^o, 12^o, 18^o e 24^o mês). Nas adrenais, observou-se vacuolização difusa nas células do córtex nas zonas fasciculada e reticulada nas fêmeas tratadas com 50 ppm (na análise no 18^o mês) e em ambos os sexos tratados com 250 ppm (nas análises no 3^o, 12^o, 18^o e 24^o mês). Na bexiga urinária, observou-se cistite crônica nas fêmeas tratadas com 250 ppm (na análise no 24^o mês). Não foi observado aumento na incidência de neoplasmas em nenhum grupo tratado com dicofol;

- h) NOAEL e LOAEL do estudo: segundo o documento de Clevenger (1992); da EPA (1998) e da Comissão Européia (2000), o NOAEL foi 5 ppm (0,22 mg/kg p.c./dia) e o LOAEL foi 50 ppm (2,23 mg/kg p.c./dia), baseado na diminuição do consumo de alimento nas fêmeas e nas alterações histopatológicas no fígado e nas adrenais;
- i) NOAEL e LOAEL do estudo assumido neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 5 ppm (0,22 mg/kg p.c./dia) e o LOAEL de 50 ppm (2,23 mg/kg p.c./dia).

5.1.8.4 Estudo 4 - Estudo de toxicidade crônica/oncogenicidade (45 semanas) via dieta com camundongos

- a) autores: NCI (1978) *apud* Clevenger (1992); EPA (1998);
- b) espécie: camundongos B6C3F1;
- c) número de animais/grupo: 50/sexo/dose; controle 20/sexo;

- d) pureza da substância: foi inicialmente relatada como 40-60%, mas análises posteriores indicaram 87-93% de pureza;
- e) doses: os machos e as fêmeas receberam concentrações médias em função do tempo/peso de 260 e 530 ppm; e 120 e 240 ppm, respectivamente. Essas concentrações na dieta foram equivalentes a 40 e 80 mg/kg p.c./dia para os machos e 18 e 36 mg/kg p.c./dia para as fêmeas;
- f) via de administração/duração: dieta. Segundo a descrição do estudo por Clevenger (1992), os animais foram tratados por 78 semanas, seguido por 14 semanas sem tratamento. Porém, segundo a descrição do estudo pela EPA (1998), os animais foram tratados por 45 semanas, seguido por 14-15 semanas sem tratamento;
- g) resultado: as fêmeas tratadas com 240 ppm apresentaram diminuição do peso corpóreo; os machos tratados com 260 ppm e 530 ppm apresentaram aumento da incidência de adenomas hepatocelulares e adenomas/carcinomas hepatocelulares combinados. Observação: este estudo teve deficiências na condução, tais como uso de somente dois grupos de dose ao invés de 3; e uso de somente 20 animais/sexo no grupo controle. Como a informação sobre a duração do tratamento foi divergente nos documentos citados, não foi possível concluir se a duração foi adequada ou não;
- h) NOAEL e LOAEL do estudo: não foi possível estabelecer, devido aos desvios de condução do estudo;
- i) NOAEL e LOAEL do estudo assumido neste trabalho: não foi possível estabelecer.

Resumindo, os resultados dos estudos crônicos com exposição pela via oral indicam que os cães foram a espécie mais sensível, apresentando NOAEL de 0,12 mg/kg p.c./dia e LOAEL de 0,82 mg/kg p.c./dia, com base na redução significativa dos níveis de cortisol após injeção de ACTH (TEGERIS, 1988 *apud* EPA, 1998, 1999).

Quanto aos ratos, foram descritos dois estudos crônicos com administração do dicofol pela dieta, sendo apenas um dos estudos válido para se estabelecer valores de NOAEL e LOAEL. Nesse estudo, o NOAEL foi 0,22 mg/kg p.c./dia e o LOAEL foi 2,2 mg/kg p.c./dia, com base em diminuição do consumo de alimento, efeitos no fígado e nas adrenais; não foi observado efeito carcinogênico

(HAZELTON e HARRIS, 1989 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPEIA, 2000).

Quanto aos camundongos, foi encontrado apenas um único estudo crônico com deficiências de condução. Com esse estudo não foi possível estabelecer valores de NOAEL e LOAEL, mas foi possível observar efeito carcinogênico (aumento da incidência de adenomas hepatocelulares e adenomas/carcinomas hepatocelulares combinados) nos machos tratados com 260 ppm e 530 ppm (NCI, 1978 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998).

5.1.9 Toxicidade Reprodutiva

5.1.9.1 Estudo 1 - Toxicidade reprodutiva com ratos - duas gerações

- a) autores: Solomon e Kulwich (1991) *apud* Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Europeia (2000);
- b) espécie: ratos Crl:CD BR;
- c) número de animais/grupo: 25/sexo/dose;
- d) pureza da substância: 93,3%;
- e) doses: 0; 5; 25; 125 e 250 ppm, equivalentes a 0; 0,4; 1,9; 9,5 e 18,9 mg/kg p.c./dia para os machos e 0; 0,4; 2,1; 10,5 e 20,5 mg/kg p.c./dia para as fêmeas (EPA, 1998);
- f) via de administração: dieta;
- g) período de administração: os machos e fêmeas P1 foram tratados por 10 semanas antes do acasalamento e durante os períodos de acasalamento, gestação e lactação. Após o desmame, os animais P2 foram tratados por 14 semanas antes do acasalamento e durante os períodos de acasalamento (foram 2 acasalamentos, os quais geraram as ninhadas F2a e F2b), gestação e lactação;
- h) resultado: (i) Efeitos na geração parental: Peso corpóreo: diminuição do peso nos machos P1 tratados com 250 ppm durante o período de pré-acasalamento, e nas fêmeas P1 tratadas com 125 e 250 ppm durante o período de pré-acasalamento, gestação e lactação. Parâmetros reprodutivos: não houve alterações estatisticamente significativas relacionadas ao tratamento. Observações macroscópicas: não foram observados efeitos relacionados ao

tratamento. Observações microscópicas: no fígado dos ratos das duas gerações P1 e P2, nos grupos de 25; 125 e 250 ppm, observou-se hipertrofia dos hepatócitos centrolobulares (nos machos e nas fêmeas) e vacuolização dos hepatócitos centrolobulares até a zona intermediária (nos machos). No ducto biliar das fêmeas P1 e P2 do grupo de 250 ppm, observou-se aumento na incidência de hiperplasia. Nas adrenais das ratas P1 e P2 dos grupos de 125 e 250 ppm, observou-se hipertrofia e/ou vacuolização na parte mais interna do córtex das adrenais. Nos ovários das ratas P1 do grupo de 250 ppm e das ratas P2 dos grupos de 25; 125 e 250 ppm, observou-se aumento da vacuolização nas células do estroma ovariano. Essa alteração morfológica foi descrita como compatível com aumento da atividade esteroidogênica.

(ii) Efeitos nos filhotes: decréscimo no índice de viabilidade na geração F1 no grupo de 250 ppm e nas gerações F2a e F2b nos grupos de 125 e 250 ppm; aumento no número de ninhadas sem filhotes sobreviventes até o desmame nas gerações F2a e F2b nos grupos 125 e 250 ppm; aumento no número total de natimortos na geração F2a no grupo de 250 ppm; decréscimo no peso corpóreo dos filhotes nas gerações F1 e F2a no grupo de 250 ppm;

- i) NOAEL e LOAEL parental para toxicidade sistêmica: segundo o documento de Clevenger (1992), da EPA (1998) e da Comissão Européia (2000), o NOAEL foi 5 ppm (0,4 mg/kg p.c./dia – M/F) e o LOAEL foi 25 ppm (1,9/2,1 mg/kg p.c./dia – M/F), baseado nas alterações histopatológicas no fígado e nos ovários;
- j) NOAEL e LOAEL reprodutivo: segundo o documento de Clevenger (1992) e Comissão Européia (2000), o NOAEL foi 25 ppm (1,9/2,1 mg/kg p.c./dia – M/F) e o LOAEL foi 125 ppm (9,5/10,5 mg/kg p.c./dia – M/F), mas não foi mencionado o efeito em que foi baseada a escolha do LOAEL. Porém, segundo o documento da EPA (1998), o NOAEL foi 5 ppm (0,4 mg/kg p.c./dia – M/F) e o LOAEL foi 25 ppm (1,9/2,1 mg/kg p.c./dia – M/F), baseado no aumento de vacuolização nas células ovarianas nas fêmeas P2, que foi considerado um efeito sobre a fisiologia reprodutiva;
- k) NOAEL e LOAEL da prole: não foram descritos no documento de Clevenger e da Comissão Européia (2000). No documento da EPA (1998), o NOAEL foi 25 ppm (1,9/2,1 mg/kg p.c./dia – M/F) e o LOAEL foi 125 ppm (9,5/10,5 mg/kg p.c./dia – M/F), baseado no decréscimo da viabilidade dos filhotes F2 (aumento

do número de filhotes natimortos, mortes pós-natais dos filhotes entre os dias 0-4 e perda total de ninhadas);

- l) NOAEL e LOAEL parental assumidos neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 5 ppm (0,4 mg/kg p.c./dia – M/F) e o LOAEL de 25 ppm (1,9/2,1 mg/kg p.c./dia – M/F), com base nas alterações histopatológicas no fígado e nos ovários;
- m) NOAEL e LOAEL reprodutivo assumidos neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 5 ppm (0,4 mg/kg p.c./dia – M/F) e o LOAEL de 25 ppm (1,9/2,1 mg/kg p.c./dia – M/F), baseado no baseado no aumento de vacuolização nas células ovarianas;
- n) NOAEL e LOAEL da prole assumidos neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 25 ppm (1,9/2,1 mg/kg p.c./dia – M/F) e o LOAEL de 125 ppm (9,5/10,5 mg/kg p.c./dia – M/F), baseado no decréscimo da viabilidade dos filhotes.

5.1.9.2 Estudo 2 - Toxicidade reprodutiva com ratos - uma geração

- a) autores: Hoberman (1997) *apud* EPA (1998);
- b) espécie: ratos Sprague-Dawley;
- c) número de animais/grupo: 30/sexo/dose. Um grupo adicional de 10 fêmeas/dose foi usado para analisar o dicofol e seus metabólitos no soro, no leite e nos tecidos dos filhotes recém nascidos (este grupo não foi usado para avaliação dos parâmetros de toxicidade ou efeitos reprodutivos);
- d) pureza da substância: 96,4%;
- e) doses: 0; 5; 25 e 125 ppm, equivalentes a 0; 0,3; 1,7 e 8,7 mg/kg p.c./dia para os machos e 0; 0,4; 2,0 e 9,8 mg/kg p.c./dia para as fêmeas, durante o período de pré-acasalamento;
- f) via de administração: dieta;
- g) período de administração: os animais parentais foram tratados por 10 semanas e acasalados. Os ratos F1 selecionados foram desmamados e mantidos sob tratamento até que atingissem 70-100 dias de idade;
- h) resultado: os animais foram adequadamente expostos à substância teste durante todas as fases do estudo, conforme demonstrado pelos níveis quantificáveis de dicofol e metabólitos no soro dos animais adultos, no leite, no tecido dos filhotes recém nascidos e no soro dos filhotes desmamados.

- (i) Efeitos na geração parental: Peso de órgãos e observações microscópicas: os machos e as fêmeas F0 e F1 tratados com 125 ppm apresentaram aumento do peso absoluto e relativo do fígado e alterações histopatológicas no fígado (hipertrofia dos hepatócitos centrolobulares com aumento de eosinofilia citoplasmática nas fêmeas). Parâmetros reprodutivos: não foram observadas alterações estatisticamente significativas quanto à duração do ciclo estral; contagem, concentração, motilidade e morfologia de espermatozóides nos epidídimos; contagem e concentração de espermátides no testículo; maturação sexual. (ii) Efeitos nos filhotes F1 desmamados: Observações microscópicas: efeitos histopatológicos no fígado no grupo de 125 ppm (vacuolização nos hepatócitos centrolobulares em ambos os sexos e hipertrofia dos hepatócitos centrolobulares com ou sem aumento de eosinofilia citoplasmática nas fêmeas).
- i) NOAEL e LOAEL parental para toxicidade sistêmica: segundo o documento da EPA (1998), o NOAEL foi 25 ppm (1,7/2,0 mg/kg p.c./dia – M/F) e o LOAEL foi 125 ppm (8,7/9,8 mg/kg p.c./dia – M/F), baseado no aumento do peso do fígado juntamente com alterações histopatológicas;
- j) NOAEL e LOAEL reprodutivo: segundo o documento da EPA (1998), o NOAEL foi maior que 125 ppm (8,7/9,8 mg/kg p.c./dia – M/F);
- k) NOAEL e LOAEL da prole: segundo o documento da EPA (1998), o NOAEL foi 25 ppm (1,7/2,0 mg/kg p.c./dia – M/F) e o LOAEL foi 125 ppm (8,7/9,8 mg/kg p.c./dia – M/F), baseado nas alterações histopatológicas no fígado nos filhotes F1;
- l) NOAEL e LOAEL parental para toxicidade sistêmica deste trabalho: assumiremos o NOAEL de 25 ppm (1,7/2,0 mg/kg p.c./dia – M/F) e o LOAEL de 125 ppm (8,7/9,8 mg/kg p.c./dia – M/F);
- m) NOAEL e LOAEL reprodutivo deste trabalho: assumiremos o NOAEL \geq 125 ppm (8,7 mg/kg p.c./dia) e a ausência de LOAEL;
- n) NOAEL e LOAEL da prole deste trabalho: assumiremos o NOAEL de 25 ppm (1,7/2,0 mg/kg p.c./dia – M/F) e o LOAEL de 125 ppm (8,7/9,8 mg/kg p.c./dia – M/F).

5.1.9.3 Estudo 3 - Verificação de efeitos em baixas doses em misturas

- a) autores: Perobelli *et al.* (2010);

- b) espécie: ratos machos adultos Lewis;
- c) número de animais/grupo: grupo controle (dieta basal): 8 ratos; grupo tratado com dicofol na dose mais baixa em que se observa efeitos (LOEL - *lowest observed effect level*): 6 ratos; “grupo de dose efetiva” tratado com a mistura de agrotóxicos: 10 ratos; “grupo de dose baixa” tratado com a mistura de agrotóxicos: 12 ratos;
- d) pureza da substância: não mencionada;
- e) doses: (i) um grupo foi tratado com o dicofol no LOEL de 2,5 mg/kg disponível na literatura; (ii) outro grupo chamado de “grupo de dose efetiva” recebeu uma mistura de agrotóxicos (dicofol, dieldrin, endosulfan, diclorvós e permetrina) nas respectivas doses relatadas como causadoras de efeitos adversos (dieldrin: 0,05 mg/kg; endosulfan: 2,9 mg/kg; dicofol: 2,5 mg/kg; diclorvós: 2,3 mg/kg e permetrina: 25 mg/kg); (iii) outro grupo chamado de “grupo de dose baixa” recebeu a mistura de agrotóxicos nas respectivas doses relatadas como o seu NOEL (“no-observed-effect level”) disponível na literatura: dieldrin 0,025 mg/kg; endosulfan: 0,6 mg/kg; dicofol: 0,22 mg/kg; diclorvós: 0,23 mg/kg e permetrina: 5 mg/kg;
- f) via de administração/duração: dieta - 8 semanas;
- g) resultado: a morfologia dos espermatozóides, a produção diária de espermatozóides, o período de trânsito dos espermatozóides através do epidídimo, os níveis hormonais (testosterona, hormônio luteinizante e hormônio folículo estimulante) e a avaliação histopatológica dos testículos e dos epidídimos não apresentaram diferença significativa entre os grupos tratamentos e controle. Entretanto, houve redução estatisticamente significativa no número de espermatozóides tipo A (móveis com trajetória progressiva) nos grupos que receberam a mistura de agrotóxicos nas doses baixa e efetiva, bem como no grupo tratado somente com o dicofol. Esses grupos apresentaram porcentagens significativamente mais altas de espermatozóides tipo C (imóveis), sem alteração da porcentagem de espermatozóides tipo B (móveis com trajetória não progressiva). Os resultados obtidos no estudo sugerem que o epidídimo pode ser um órgão-alvo para os efeitos adversos reprodutivos causados por estes agrotóxicos, especialmente quando estes estão combinados em uma mistura. A diminuição da motilidade dos espermatozóides causada pela mistura de agrotóxicos no NOEL indica que os efeitos reprodutivos não observados com os

agrotóxicos individuais podem ocorrer na presença de vários agrotóxicos devido a um efeito aditivo, mas sem causar alterações na espermatogênese;

- h) NOAEL e LOAEL para toxicidade parental: não se aplica, pois não foram testados vários grupos de dose. Apenas é possível dizer que a dose de 2,5 mg/kg de dicofol, bem como as misturas de vários agrotóxicos na dose baixa (vários agrotóxicos no seu NOEL) e na dose efetiva (vários agrotóxicos no seu LOEL) não causaram toxicidade parental sistêmica nos ratos;
- i) NOAEL e LOAEL para toxicidade da prole: não se aplica, pois esse estudo não teve geração de prole;
- j) NOAEL e LOAEL para toxicidade reprodutiva: não se aplica, pois não foram testados vários grupos de dose. Apenas é possível dizer que a dose de 2,5 mg/kg de dicofol, bem como as misturas de vários agrotóxicos na dose baixa (vários agrotóxicos no seu NOEL) e na dose efetiva (vários agrotóxicos no seu LOEL) causaram diminuição da motilidade dos espermatozóides.

5.1.10 Toxicidade sobre o Desenvolvimento

5.1.10.1 Estudo 1 – Estudo de toxicidade sobre o desenvolvimento com ratas

- a) autores: Hoberman e Christian (1986) *apud* Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000);
- b) espécie: ratas Crl:COBS CD;
- c) número de animais/grupo: 25 fêmeas/dose;
- d) pureza da substância: 95,6%;
- e) doses: 0; 0,25; 2,5 ou 25 mg/kg p.c./dia;
- f) via de administração/duração: gavagem - dias 6 a 15 de gestação. Observação: este período de administração não está de acordo com o preconizado nos atuais protocolos reconhecidos internacionalmente, como por exemplo, o protocolo OECD 414 (2001), pois atualmente o período de administração não pretende avaliar apenas o período de organogênese, mas sim o período inteiro de gestação até o dia anterior à cesariana;
- g) resultado: (i) Efeitos nas mães: Sinais clínicos: aumento significativo e dose-dependente na incidência de salivação nas ratas dos grupos de 2,5 e 25 mg/kg p.c./dia. Consumo de alimento e peso corpóreo: diminuição do consumo de

alimento (-17%) e do ganho de peso corpóreo (-30%) nas ratas tratadas com 25 mg/kg p.c./dia. Peso de órgãos e observações microscópicas: aumento do peso relativo do fígado acompanhado por hipertrofia dos hepatócitos centrolobulares nas ratas tratadas com 25 mg/kg p.c./dia. (ii) Efeitos nos filhotes: não houve alteração no número de implantações, reabsorções, peso corpóreo, viabilidade, aumento da incidência de variações ou malformações nos fetos;

- h) NOAEL e LOAEL para toxicidade materna: segundo o documento de Clevenger (1992); da EPA (1998) e da Comissão Européia (2000), o NOAEL foi 0,25 mg/kg p.c./dia e o LOAEL foi 2,5 mg/kg p.c./dia, baseado no aumento de salivação;
- i) NOAEL e LOAEL da prole: segundo o documento de Clevenger (1992); da EPA (1998) e da Comissão Européia (2000), o NOAEL foi ≥ 25 mg/kg p.c./dia e o LOAEL não foi estabelecido. Não foram observadas malformações nos filhotes;
- j) NOAEL e LOAEL para toxicidade materna deste trabalho: assumiremos o NOAEL materno de 0,25 mg/kg p.c./dia e o LOAEL de 2,5 mg/kg p.c./dia;
- k) NOAEL e LOAEL da prole deste trabalho: assumiremos o NOAEL ≥ 25 mg/kg p.c./dia e a ausência de LOAEL.

5.1.10.2 Estudo 2 – Toxicidade sobre o desenvolvimento neurocomportamental

- a) autores: Lemonica *et al.* (1992);
- b) espécie: ratas Wistar;
- c) número de animais/grupo: o número de fêmeas prenhes/dose não foi mencionado. Foi descrito que após o parto, os recém-nascidos foram randomicamente divididos em 4 fêmeas e 4 machos e avaliados, a partir do segundo dia de idade, quanto ao seu crescimento e quanto ao desenvolvimento de parâmetros físicos, motores e de reflexos até a idade adulta;
- d) pureza da substância: não mencionada;
- e) dose: 10 mg/kg p.c./dia;
- f) via de administração/duração: gavagem - dias 4 a 15 de gestação. Observação: este período de administração não está de acordo com o preconizado nos atuais protocolos reconhecidos internacionalmente, como por exemplo, o protocolo OECD 414 (2001), pois atualmente o período de administração não pretende avaliar apenas o período de organogênese, mas sim o período inteiro de gestação até o dia anterior à cesariana;

- g) resultado: dicofol não afetou o comportamento materno e não houve evidência de toxicidade. Nos dois grupos experimentais (controle e tratamento), não houve diferença quanto ao peso corpóreo e aos parâmetros físicos, tais como abertura dos olhos, erupção dos incisivos, abertura vaginal e descida dos testículos. Os parâmetros comportamentais não se alteraram, exceto no teste do campo aberto, no qual a prole das fêmeas tratadas com dicofol apresentou decréscimo dos parâmetros de levantamento e locomoção por volta do 20º dia de vida. Segundo os autores, estes resultados podem sugerir que a administração pré-natal de dicofol pode induzir alterações no desenvolvimento do sistema nervoso central da prole;
- h) NOAEL e LOAEL para toxicidade materna: foi testada só uma dose (10 mg/kg p.c./dia) que não causou toxicidade materna;
- i) NOAEL e LOAEL da prole: foi testada só uma dose (10 mg/kg p.c./dia) que causou decréscimo dos parâmetros de levantamento e locomoção da prole por volta do 20º dia de vida.

5.1.10.3 Estudo 3 - Estudo de toxicidade sobre o desenvolvimento com coelhas

- a) autores: Hoberman e Christian (1986) *apud* Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000);
- b) espécie: coelhas Nova Zelândia;
- c) número de animais/grupo: 20 fêmeas/dose;
- d) pureza da substância: 95,6%;
- e) doses: 0; 0,4; 4 ou 40 mg/kg p.c./dia;
- f) via de administração/duração: gavagem - dias 7 a 19 de gestação. Observação: este período de administração não está de acordo com o preconizado nos atuais protocolos reconhecidos internacionalmente, como por exemplo, o protocolo OECD 414 (2001), pois atualmente o período de administração não pretende avaliar apenas o período de organogênese, mas sim o período inteiro de gestação até o dia anterior à cesariana;
- g) resultado: (i) Efeito nas mães: na dose de 4 mg/kg p.c./dia observou-se inibição reversível e/ou perda de peso corpóreo (sem significância estatística) e alterações histopatológicas no fígado. Na dose de 40 mg/kg p.c./dia observou-se fezes anormais, diminuição do consumo de alimento e do ganho de peso

corpóreo, aumento do peso relativo do fígado associado com hialinização e vacuolização citoplasmática nos hepatócitos. (ii) Efeito nos filhotes: embriofetotoxicidade foi observada como aumento da incidência de abortos e redução do peso corpóreo dos filhotes na dose de 40 mg/kg p.c./dia, não foram observadas malformações;

- h) NOAEL e LOAEL para toxicidade materna: segundo o documento de Clevenger (1992) e da Comissão Européia (2000), o NOAEL foi 0,4 mg/kg p.c./dia e o LOAEL foi 4 mg/kg p.c./dia, baseado em inibição reversível e/ou perda de peso corpóreo e alterações histopatológicas no fígado. Porém, segundo o documento da EPA (1998), o NOAEL foi 4 mg/kg p.c./dia e o LOAEL foi 40 mg/kg p.c./dia, baseado em fezes anormais, diminuição do consumo de alimento e do ganho de peso corpóreo, aumento do peso relativo do fígado associado com hialinização e vacuolização citoplasmática nos hepatócitos;
- i) NOAEL e LOAEL da prole: segundo o documento de Clevenger (1992) e o da EPA (1998), o NOAEL foi 4 mg/kg p.c./dia e o LOAEL foi 40 mg/kg p.c./dia, baseado no aumento da incidência de abortos. O documento da Comissão Européia (2000) descreveu o NOAEL sobre o desenvolvimento como > 40 mg/kg p.c./dia.
- j) NOAEL e LOAEL para toxicidade materna assumido neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 0,4 mg/kg p.c./dia e o LOAEL de 4 mg/kg p.c./dia, considerando que foram descritos efeitos sobre o peso corpóreo e sobre o fígado em doses iguais e superiores a 4 mg/kg p.c./dia de dicofol no documento de Clevenger (1992) e da Comissão Européia (2000);
- k) NOAEL e LOAEL da prole assumido neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 4 mg/kg e o LOAEL de 40 mg/kg p.c./dia, considerando o aumento da incidência de abortos e redução do peso corpóreo dos filhotes na dose de 40 mg/kg p.c./dia.

Resumindo, os resultados dos estudos de toxicidade reprodutiva indicam que o dicofol causou efeitos adversos sobre os filhotes de ratos, tais como decréscimo no índice de viabilidade, aumento no número de natimortos e decréscimo do peso corpóreo (SOLOMON e KULWICH, 1991 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000); efeitos histopatológicos no fígado dos filhotes de ratos (HOBERMAN, 1997 *apud* EPA, 1998); diminuição da motilidade

dos espermatozoides de ratos (PEROBELLI *et al.*, 2010); decréscimo dos parâmetros de levantamento e locomoção dos filhotes de ratos (LEMONICA *et al.*, 1992); aumento da incidência de abortos e redução do peso corpóreo dos filhotes de coelhas (HOBERTMAN e CHRISTIAN, 1986 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000), mas não causou malformações nos estudos de toxicidade sobre o desenvolvimento em ratas e coelhas (HOBERTMAN e CHRISTIAN, 1986 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000).

Entretanto, ressaltamos que nos estudos de toxicidade sobre o desenvolvimento houve uma não conformidade na condução, pois os animais foram tratados com o dicofol apenas no período de organogênese. Atualmente os protocolos preconizam a administração da substância teste durante todo o período de gestação até o dia anterior à cesariana. Não podemos descartar que esse desvio de protocolo tenha interferido na observação de outros efeitos adversos.

5.1.11 Neurotoxicidade

5.1.11.1 Estudo 1 - Estudo neurotoxicidade aguda

- a) autor: Foss (1992) *apud* EPA (1998);
- b) espécie: ratos Crl:CDBR VAF/Plus;
- c) número de animais/grupo: 10/sexo/dose;
- d) pureza da substância: 95,5%;
- e) doses: 0; 15; 75 e 350 mg/kg p.c.;
- f) via de administração/duração: gavagem - uma única administração;
- g) resultado: os animais tratados com 350 ppm apresentaram aumento da incidência de ataxia e as fêmeas apresentaram aterrissagem descoordenada e sonolência. Os animais tratados com 75 ppm apresentaram diminuição do peso corpóreo e do consumo de alimento. Dicofol não causou alterações histopatológicas no sistema nervoso central ou periférico;
- h) NOAEL e LOAEL do estudo: segundo o documento da EPA (1998), o NOAEL foi 15 mg/kg p.c./dia e o LOAEL foi 75 mg/kg p.c./dia, baseado em decréscimos de peso corpóreo e diminuição do consumo de alimento;
- i) NOAEL e LOAEL assumido neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 15 mg/kg p.c./dia e o LOAEL de 75 mg/kg p.c./dia.

5.1.11.2 Estudo 2 - Estudo de neurotoxicidade subcrônica

- a) autor: Foss (1993) *apud* EPA (1998);
- b) espécie: ratos Crl:CDBR VAF/Plus;
- c) número de animais/grupo: 10/sexo/dose;
- d) pureza da substância: 95,1%;
- e) doses: 0; 5; 100 e 500 ppm, equivalentes a 0; 0,3; 5,6 e 27,8 mg/kg p.c. para os machos e 0; 0,3; 6,5 e 31,3 mg/kg p.c. para as fêmeas;
- f) via de administração/duração: dieta - 13 semanas;
- g) resultado: os animais tratados com 100 e 500 ppm apresentaram decréscimo da atividade motora e aumento do peso do fígado. Dicofol não causou alterações histopatológicas no sistema nervoso central ou periférico;
- h) NOAEL e LOAEL do estudo: segundo o documento da EPA (1998), o NOAEL foi 5 ppm (0,3 mg/kg p.c./dia) e o LOAEL foi 100 ppm (5,6 mg/kg p.c./dia), baseado em diminuição da atividade motora e aumento do peso do fígado;
- i) NOAEL e LOAEL assumido neste trabalho: assumiremos o NOAEL de 5 ppm (0,3 mg/kg p.c./dia) e o LOAEL de 100 ppm (5,6 mg/kg p.c./dia).

Resumindo, os resultados dos estudos de neurotoxicidade indicam que o dicofol causou efeitos neurotóxicos tanto pela exposição aguda ou subcrônica, mas sem causar efeitos histopatológicos no sistema nervoso central ou periférico. O NOAEL e o LOAEL do estudo agudo foram 15 mg/kg p.c./dia e 75 mg/kg p.c./dia (FOSS, 1992 *apud* EPA, 1998). O NOAEL e LOAEL do estudo subcrônico foram 0,3 mg/kg p.c./dia e 5,6 mg/kg p.c./dia (FOSS, 1993 *apud* EPA, 1998).

5.1.12 Estudos Mecanísticos sobre o Potencial de Desregulação Endócrina

5.1.12.1 Estudos relacionados a potenciais efeitos sobre a tireóide

5.1.12.1.1 Estudo 1 - Ensaio *in vitro* para avaliar a competição de ligação entre o dicofol e o T4 com a proteína transportadora transtirretina humana (TTR)

- a) autores: Van den Berg *et al.* (1991);
- b) sistema-teste: sistema *in vitro* com TTRs, T4 e dicofol;
- c) concentrações: 100 µM;

- d) pureza da substância: não mencionada;
- e) resultado: o dicofol foi um potente competidor (71 – 100% de competição) para o local de ligação da TTR com o T4, na concentração de 100 μ M.

5.1.12.1.2 Estudo 2 – Ensaio *in vitro* para avaliar a competição de ligação entre o dicofol e o T3 com a proteína TTR

- a) autores: Ishihara *et al.* (2003);
- b) sistema-teste: sistema *in vitro* para avaliação da interferência do dicofol sobre a ligação do T3 com as proteínas TTR de humanos e de outros animais (galinhas, sapo boi e salmão);
- c) concentração: 8 μ M;
- d) pureza da substância: não mencionada;
- e) resultado: o dicofol (8 μ M) inibiu a ligação do T3 com as TTR humanas (inibição de \pm 20%). Segundo os autores, as proteínas ligantes de hormônios da tireóide em humanos foram menos susceptíveis aos compostos químicos do que as proteínas das galinhas, sapo boi e salmão. Isso poderia ser explicado pelas diferentes características quanto a essas proteínas entre as diferentes espécies. No ser humano a principal proteína responsável pela ligação dos hormônios da tireóide é a globulina ligante de tiroxina (TBG), com maior afinidade pelo T4 do que pelo T3, diferentemente das galinhas, sapo boi e salmão, nos quais as principais proteínas são as albuminas e as TTR, sendo que estas últimas com maior afinidade pelo T3 do que pelo T4.

5.1.12.1.3 Estudo 3 – Ensaio *in vitro* para avaliação do efeito sobre a captação de T3 nos eritrócitos de girinos e efeito sobre a resposta celular ao T3

- a) autores: Shimada e Yamauchi (2004);
- b) sistema teste: (i) caracterização do sistema de captação de T3 na membrana plasmática de glóbulos vermelhos de girinos de *Rana catesbeiana*; (ii) avaliação da expressão do gene TR α (que responde ao T3 nos glóbulos vermelhos); (iii) avaliação da ligação do dicofol ao domínio de ligação ao ligante (LBD) no receptor de hormônio da tireóide (TR);
- c) concentrações: no ensaio de captação de T3: 8 μ M; nos ensaios para avaliação da expressão gênica e da ligação ao LBD do TR: 0,4 μ M;

- d) pureza da substância: não informada;
- e) resultado: de acordo com os resultados, os autores propuseram que o sistema de captação de T3 na membrana de glóbulos vermelhos de girinos pode ser o sistema de transporte tipo T, que é comum aos glóbulos vermelhos de ratos, sapo boi e trutas; a expressão desse sistema de captação de T3 nos glóbulos vermelhos provavelmente foi conservada durante a evolução dos vertebrados. No ensaio para avaliação da captação de T3, os glóbulos vermelhos foram incubados com T3 radiomarcado, na presença de dicofol (8 μM), resultando em um decréscimo de 80% de inibição na captação de T3 na membrana plasmática; portanto, dicofol foi considerado um potente inibidor da captação do T3, com um IC_{50} de $2,2 \pm 0,2 \mu\text{M}$. Na presença de dicofol, houve inibição significativa da expressão do gene $\text{TR}\alpha$ que responde ao T3 nos glóbulos vermelhos. Para avaliar se o dicofol teria a capacidade de interagir diretamente com o receptor $\text{TR}\alpha$ e assim competir com a ligação do T3, os autores examinaram a ação do dicofol sobre a ligação do T3 com o domínio de ligação ao ligante (LBD = *ligand binding domain*), e o dicofol não mostrou efeito sobre a ligação ao LBD nas concentrações em que ele afetou a indução da transcrição do $\text{TR}\alpha$ pelo T3. Os autores relataram que o sistema de captação de T3 na membrana plasmática dos glóbulos vermelhos de girinos pode modular a sinalização de T3, por meio do controle da quantidade intracelular de T3, e que isto pode ser um potencial local alvo para ação de desreguladores endócrinos que afetam a tireóide.

5.1.12.1.4 Estudo 4 – Ensaio *in vitro* e *in vivo* para avaliação da ativação dependente de T3 do gene TR-beta em células ou girinos de *Xenopus laevis*

- a) autores: Sugiyama *et al.* (2005);
- b) sistema teste: (i) ensaios *in vitro* em células de *Xenopus laevis* (XL58-TRE-Luc) com gene repórter luciferase com gene TR-beta dependente de T3 e (ii) avaliação da expressão do gene TR-beta endógeno; (iii) ensaio *in vivo* de avaliação da expressão do gene TR-beta em girinos;
- c) concentrações: (i) ensaio luciferase: 0,4; 2 e 10 μM ; (ii) ensaio de ativação do gene TR-beta: 1 e 10 μM ; (iii) ensaio *in vivo*: 0,1 μM , concentrações mais altas não puderam ser testadas, pois os girinos morreram devido a toxicidade;
- d) pureza da substância: >95%;

- e) resultado: nos ensaios *in vitro* dicofol demonstrou atividade antagonista ao T3 no receptor de hormônios da tireóide na concentração de 10 μM ; no ensaio *in vivo* não foram observados efeitos na concentração de 0,1 μM .

5.1.12.2 Estudos relacionados à potencial atividade estrogênica

5.1.12.2.1 Estudo 1 – Ensaio *in vitro* para avaliação da ativação do receptor de estrogênio de humanos (hER) e ensaio para avaliação da proliferação celular

- a) autores: Vinggaard *et al.* (1999);
- b) sistema teste: (i) ensaio *in vitro* de proliferação celular com células de câncer de mama MCF7 que respondem ao estrogênio; (ii) ensaio *in vitro* com células de levedura transfectadas com gene do hER e gene repórter para beta-galactosidase;
- c) concentrações: no ensaio de proliferação celular: 10 μM ; no ensaio com leveduras: 0,24 μM a 500 μM ;
- d) pureza da substância: 97 a 99,9%;
- e) resultado: o dicofol (10 μM) induziu resposta de proliferação celular, mas sem significância estatística. No ensaio com células de levedura, o dicofol induziu resposta estrogênica positiva, mas foi citotóxico em concentrações acima de 10 μM .

5.1.12.2.2 Estudo 2 – Ensaio *in vitro* para avaliação da ligação ao hER e ensaio para avaliação da proliferação celular

- a) autores: Okubo *et al.* (2004);
- b) tipo de estudo e sistema teste: ensaio *in vitro* de proliferação celular com células de câncer de mama MCF-7 com hER; e ensaio de ligação aos hER-alfa;
- c) concentrações: 1 a 100 μM no ensaio de proliferação celular; 1 a 1000 μM no ensaio de ligação aos hER;
- d) pureza da substância: não mencionada;
- e) resultado: o dicofol induziu aumento da proliferação celular, sendo que a concentração que apresentou proliferação máxima foi 50 μM , enquanto que o controle positivo 17-beta-estradiol apresentou proliferação máxima na concentração de 0,00003 μM . A atividade estrogênica foi suprimida pela adição

do antiestrogênio puro ICI 182,780. O dicofol também apresentou capacidade de se ligar ao hER-alfa com um valor de IC_{50} de $19,8 \pm 1,4 \mu\text{M}$. O controle positivo dietilestilbestrol apresentou IC_{50} de $0,033 \pm 0,0008 \mu\text{M}$. Os autores também discutem que, se um composto é lipofílico, ele tende a se acumular nos tecidos adiposos no corpo. Assim, uma atividade fraca de um composto particular não deve ser ignorada, pois é possível que o acúmulo de múltiplos agrotóxicos possa causar efeitos adversos cumulativos.

5.1.12.2.3 Estudo 3 – Ensaio *in vitro* para avaliação da ativação do hER

- a) autores: Kojima *et al.* (2004);
- b) sistema teste: ensaio *in vitro* de transativação usando células CHO com gene repórter luciferase para avaliar a atividade agonista e antagonista de agrotóxicos, entre eles o dicofol, aos hER-alfa e hER-beta;
- c) concentrações: de 10^{-8} a 10^{-5} M;
- d) pureza da substância: 95 a 100%;
- e) resultado: o dicofol apresentou atividade estrogênica para os dois subtipos de receptores de estrogênio, hER-alfa e hER-beta. No ensaio de transativação do hER-alfa, o dicofol causou resposta positiva com um valor de REC_{20} de $1,8 \times 10^{-6}$ M e um valor de Atividade Relativa de Luciferase (RLA) de 93%. O REC_{20} é a concentração do dicofol que apresentou 20% de atividade agonista causada por 10^{-10} M de 17-beta-estradiol. O RLA é a porcentagem da resposta do dicofol em uma concentração de 10^{-5} M, em relação à atividade definida como 100% induzida por 10^{-10} M de 17-beta-estradiol. No ensaio de transativação do hER-beta, o dicofol causou resposta positiva com um valor de REC_{20} de $1,9 \times 10^{-6}$ M e um valor de RLA de 71%. O REC_{20} é a concentração do dicofol que apresentou 20% de atividade agonista causada por 10^{-9} M de 17-beta-estradiol. O RLA é a porcentagem da resposta do dicofol em uma concentração de 10^{-5} M, em relação à atividade definida como 100% induzida por 10^{-9} M de 17-beta-estradiol. Segundo os autores, embora o dicofol tenha apresentado fraca atividade hormonal, sua natureza lipofílica e meia-vida longa permitem sua acumulação nos tecidos gordurosos do corpo, aumentando sua concentração e biodisponibilidade.

5.1.12.2.4 Estudo 4 – Ensaio *in vitro* para avaliação da ativação do hER

- a) autores: Kojima *et al.* (2005);
- b) tipo de estudo e sistema teste: ensaio de ativação transcricional de hER usando células de carcinoma ovariano humano linhagem BG-1 com gene repórter luciferase;
- c) concentrações: 19,5 a 10000 nM;
- d) pureza da substância: 95%;
- e) resultado: dicofol foi negativo para ativação transcricional do hER.

5.1.12.2.5 Estudo 5 – Ensaio *in vitro* para avaliação da ativação do hER – implicações da isomeria

- a) autores: Hoeskra *et al.* (2006);
- b) sistema teste: ensaio *in vitro* de ativação da transcrição gênica em leveduras transfectadas com gene do hER
- c) concentrações: 10^{-8} a 10^{-5} M de (-)o,p'-dicofol, (+)o,p'-dicofol, (±)o,p'-dicofol, p,p'-dicofol;
- d) pureza da substância: (-)o,p'-dicofol (pureza de 99,3%) e (+)o,p'-dicofol (pureza de 99%); não foi mencionada a pureza para (±)o,p'-dicofol (mistura racêmica) e p,p'-dicofol;
- e) resultado: o p,p'-dicofol (EC_{50} $1,6 \times 10^{-6}$ M) e o (±)o,p'-dicofol racêmico (EC_{50} $4,2 \times 10^{-6}$ M) foram agonistas fracos dos hER, em comparação com o estradiol ($3,7 \times 10^{-10}$ M). O enantiômero quiral (-)o,p'-dicofol foi o agonista mais potente do hER (EC_{50} $5,1 \times 10^{-7}$ M). Entretanto, o enantiômero (+)o,p'-dicofol apresentou atividade estrogênica negligenciável se comparado com o (-)o,p'-dicofol. Esses dados indicam que o dicofol é um agonista fraco dos hER devido à atividade do isômero aquiral p,p'-dicofol e do enantiômero (-)o,p'-dicofol e enfatiza a influência da estrutura química e configuração de compostos quirais sobre as respostas biológicas.

5.1.12.2.6 Estudo 6 – Ensaio *in vitro* para avaliação da ligação e ativação do receptor de estrogênio alfa de crocodilos (aER-alfa) e de humanos (hER-alfa) e ensaio *in vivo* com ratas ovariectomizadas

- a) autores: Rider *et al.* (2010);

- b) sistema teste: (i) *in vitro*: ensaio de ligação (livre de células) do p,p'-dicofol aos aER-alfa e hER-alfa; (ii) *in vitro*: ensaios de ativação de transcrição em células CV1 (linhagem proveniente de rim de macaco, transfectadas com genes dos receptores de estrogênio aER-alfa e hER-alfa) e em células T47D-KBluc (linhagem proveniente de câncer de mama humano que expressam hER-alfa e hER-beta); (iii) *in vivo*: ensaio uterotrófico com ratas *Long Evans* ovariectomizadas para avaliar a atividade estrogênica (6 a 7 ratas/grupo);
- c) concentrações: (i) *in vitro*: -2 a -12 logM de p,p'-dicofol; mais os controles negativo (solvente) e positivo (E2); (ii) *in vitro*: 1 a 30.000 nM de p,p'-dicofol; mais os controles negativo (solvente) e positivo (E2); (iii) *in vivo*: 200 mg dicofol/kg p.c. (injeção subcutânea); mais os controles negativo (solvente) e positivos (E2 e bisfenol A);
- d) pureza da substância: (i e ii) estudos *in vitro*: p,p'-dicofol (97,6%) e (iii) estudo *in vivo*: Kelthane™: 95% de dicofol composto de 80% p,p'- e 20% o,p'-dicofol;
- e) resultado:
- (i) *in vitro*: a afinidade do p,p'-dicofol foi maior para o aER-alfa do que para o hER-alfa, pois o p,p'-dicofol deslocou até 83% do 17-beta-estradiol do aER-alfa, enquanto que para o hER-alfa, o p,p'-dicofol deslocou um máximo de 58% do 17-beta-estradiol. Para o aER-alfa, a concentração inibitória de 50% de ligação (IC₅₀) foi de 4 µM, e para o hER-alfa, 45 µM;
- (ii) *in vitro*: no ensaio de ativação de transcrição em células CV1 transfectadas com genes dos receptores exógenos aER-alfa e hER-alfa, o p,p'-dicofol foi capaz de estimular a ativação da transcrição dos genes de resposta ao estrogênio por meio de ambos os receptores, com valores de concentração efetiva mediana (EC₅₀) de $2,8 \times 10^{-6}$ M e $1,7 \times 10^{-6}$ M, respectivamente. No ensaio usando células T47D-KBluc, que é mais sensível e expressa receptores endógenos hER-alfa e hER-beta, também foi confirmado que o p,p'-dicofol foi capaz de ativar a transcrição com o receptor hER, com um valor de EC₅₀ de $1,5 \times 10^{-6}$ M. Os ensaios com CV1 e T47D-KBluc apresentaram resultados similares;
- (iii) *in vivo*: Kelthane (mistura dos isômeros de dicofol p,p' e o,p') não causou efeito estrogênico nas ratas. Em outras palavras, o deslocamento parcial do 17-beta-estradiol do hER-alfa e a modesta ativação do gene de resposta ao

estrogênio não se traduziram em uma resposta *in vivo* na dose de 200 mg/kg p.c./dia da mistura dos isômeros de dicofol.

5.1.12.3 Estudos relacionados à potencial atividade androgênica

5.1.12.3.1 Estudo 1 – Ensaio *in vitro* para avaliação da inibição da atividade da aromatase

- a) autores: Vinggaard *et al.* (2000);
- b) sistema teste: ensaio *in vitro* para verificação da inibição da atividade da aromatase (CYP19) em microsomos placentários humanos usando o método $^3\text{H}_2\text{O}$;
- c) concentração: 50 μM ;
- d) pureza da substância: 97 a 99,9%;
- e) resultado: a atividade da aromatase foi avaliada medindo $^3\text{H}_2\text{O}$ liberada da [^3H]androstenediona durante o processo de aromatização. O dicofol apresentou inibição estatisticamente significativa da aromatase, com IC_{50} maior do que 50 μM .

5.1.12.4 Estudos relacionados à potencial atividade anti-androgênica

5.1.12.4.1 Estudo 1 – Ensaio *in vitro* para avaliação da ligação ao receptor de androgênios de humanos (hAR)

- a) autores: Okubo *et al.* (2004);
- b) tipo de estudo e sistema teste: ensaio de ligação aos hAR;
- c) concentrações: 1 a 1000 μM ;
- d) pureza da substância: não mencionada;
- e) resultado: o dicofol apresentou capacidade de se ligar ao hAR com um valor de IC_{50} de $42,0 \pm 6,9 \mu\text{M}$. O controle positivo mibolerona apresentou IC_{50} de $0,0462 \pm 0,0040 \mu\text{M}$.

5.1.12.4.2 Estudo 2 – Ensaio *in vitro* para avaliação da ativação dos hAR

- a) autores: Kojima *et al.* (2004);

- b) sistema teste: ensaio *in vitro* de transativação usando células CHO medindo a luciferase (de gene repórter) para avaliar a atividade agonista e antagonista ao hAR;
- c) concentrações: de 10^{-8} a 10^{-5} M;
- d) pureza da substância: 95 a 100%;
- e) resultado: no ensaio de transativação do hAR, o dicofol causou inibição da atividade transcricional do hAR com um valor de RIC_{20} de $1,6 \times 10^{-6}$ M e um valor de RLA de 20%. O RIC_{20} é a concentração do dicofol que apresentou 20% de inibição da atividade androgênica induzida por 10^{-10} M de 5-alfa-dihidrotestosterona (DHT). O RLA é a porcentagem da resposta do dicofol em uma concentração de 10^{-5} M, em relação à atividade definida como 100% induzida por 10^{-10} M de DHT. Segundo os autores, embora muitos dos agrotóxicos organoclorados, entre eles o dicofol, tenham apresentado fraca atividade hormonal, sua natureza lipofílica e meia-vida longa permitem sua acumulação nos tecidos gordurosos do corpo, aumentando sua concentração e biodisponibilidade.

5.1.12.4.3 Estudo 3 – Ensaio *in vitro* para avaliação da ativação dos hAR

- a) autores: Vinggaard *et al.* (2008);
- b) sistema teste: ensaio de ativação transcricional do hAR em células CHO medindo a luciferase (de gene repórter);
- c) concentrações: 1; 3; 10 e 30 μ M;
- d) pureza da substância: não mencionada;
- e) resultado: o dicofol foi testado na presença de 0,1 nM de R1881 (androgênio sintético) e os resultados do dicofol são apresentados em relação a esse composto (convencionado como 100%). O valor de IC_{25} para o dicofol é a concentração que causou inibição de 25% da atividade induzida por 0,1 nM de R1881. O critério para considerar efeito “positivo” foi que a inibição da resposta induzida por 0,1 nM de R1881 ocorresse em concentrações não citotóxicas ≤ 10 μ M. O dicofol foi considerado positivo para efeito antagonista no hAR, com IC_{25} entre 1 e 3 μ M.

5.1.12.5 Estudos relacionados à potencial atividade em outros tipos de receptores (hidrocarbonetos de arila, pregnano X e proliferadores de peroxissomos)

5.1.12.5.1 Estudo 1 – Ensaio *in vitro* para avaliação da ativação de vários receptores

- a) autores: Kojima *et al.* (2010);
- b) sistema teste: ensaio *in vitro* com receptor pregnano X humano (hPXR), receptor ativado por proliferadores de peroxissomos de camundongo (mPPAR-alfa) e receptor de hidrocarbonetos de arila (mAhR) usando células CHO;
- c) concentrações: $\leq 10^{-5}$ M;
- d) pureza da substância: não informada;
- e) resultado: o dicofol foi agonista no hPXR e não teve atividade agonista no mPPAR-alfa e no mAhR.

5.1.12.5.2 Estudo 2 – Ensaio *in vitro* com gene repórter para comparar a ativação do receptor de pregnano X de humanos (hPXR) e de camundongos (mPXR)

- a) autores: Kojima *et al.* (2011);
- b) sistema teste: ensaio *in vitro* de transativação do hPXR e do mPXR, usando células de rins de macaco COS-7 com gene repórter luciferase para avaliar a atividade agonista de agrotóxicos, entre eles o dicofol;
- c) concentrações: $\leq 10^{-5}$ M;
- d) pureza da substância: 97 a 100%;
- e) resultado: no ensaio de transativação do hPXR, o dicofol apresentou valor de REC_{20} de $3,8 \times 10^{-6}$ M e RLA de $58\% \pm 16$, em comparação com o controle positivo rifampicina ($REC_{20} = 4,3 \times 10^{-7}$ M e RLA de 100%).

No ensaio de transativação do mPXR, o dicofol apresentou valor de REC_{20} de $1,6 \times 10^{-6}$ M e RLA de $105\% \pm 12$, em comparação com o controle positivo pregnenolone 16-alfa-carbonitrile (PCN) ($REC_{20} = 5,7 \times 10^{-8}$ M e RLA de 100%).

Portanto, o dicofol apresentou atividade agonista tanto no hPXR como no mPXR, sendo que neste último apresentou atividade agonista mais potente. Para esclarecimento, REC_{20} é a concentração do dicofol que mostrou 20% da atividade agonista da rifampicina (1×10^{-5} M) via hPXR ou da atividade do PCN

(1×10^{-5} M) via mPXR. RLA (Atividade Relativa da Luciferase) é a porcentagem da resposta do dicofol (1×10^{-5} M) em relação à atividade definida como 100% da rifampicina (1×10^{-5} M) ou do PCN (1×10^{-5} M).

Resumindo, os resultados dos estudos mecanísticos indicam que o dicofol demonstrou potencial para atividade hormonal nos ensaios *in vitro*.

Nos ensaios *in vitro* o dicofol competiu pelo local de ligação do T4 com as TTR (VAN DEN BERG *et al.*, 1991); competiu pelo local de ligação do T3 com as TTR (ISHIHARA *et al.*, 2003); inibiu a captação do T3 na membrana plasmática dos glóbulos vermelhos de girinos (SHIMADA e YAMAUCHI, 2004) e apresentou atividade antagonista no receptor de hormônios da tireóide de anfíbios (SUGIYAMA *et al.*, 2005).

O dicofol também foi descrito como ligante do hER em estudos *in vitro* (OKUBO *et al.*, 2004; RIDER *et al.*, 2010). Além da capacidade de se ligar ao hER, o dicofol também apresentou capacidade de ativar a transcrição dos genes relacionados ao hER em estudos *in vitro* (VINGGAARD *et al.*, 1999; KOJIMA *et al.*, 2004; HOESKRA *et al.*, 2006 e RIDER *et al.*, 2010). Apenas no ensaio de Kojima *et al.* (2005) foi relatado que não houve ativação transcricional do hER pelo dicofol no ensaio com células de carcinoma.

No estudo mecanístico *in vivo* com ratas ovariectomizadas, o produto Kelthane (mistura dos isômeros p,p' e o,p') não causou efeitos estrogênicos na dose de 200 mg/kg/dia (RIDER *et al.*, 2010). Entretanto, é importante ressaltar que o resultado proveniente desse estudo não assegura ausência de efeitos em estudos *in vivo* com animais intactos, pois: (a) o uso de ratas ovariectomizadas com o eixo hipotálamo-pituitária-gônadas alterado limita a interpretação dos resultados devido à alteração da integridade da homeostase fisiológica; (b) compostos desreguladores endócrinos podem causar efeitos nos animais em diferentes fases do desenvolvimento se a exposição ocorrer em períodos críticos de desenvolvimento.

Com relação à atividade androgênica, o dicofol foi relatado como inibidor das aromatases nos estudos *in vitro* (VINGGAARD *et al.*, 2000). Com relação à atividade anti-androgênica, o dicofol foi descrito como ligante do hAR (OKUBO *et al.*, 2004) e antagonista do hAR (KOJIMA *et al.*, 2004; VINGGAARD *et al.*, 2008) nos estudos *in vitro*.

O dicofol apresentou atividade agonista no hPXR em estudos *in vitro* (KOJIMA *et al.*, 2010, 2011). O PXR está envolvido na regulação de genes do metabolismo de xenobióticos, além do metabolismo lipídico, homeostase da glicose e sistema imunológico. Já que a ativação do receptor por várias substâncias químicas pode levar a alterações no metabolismo de esteróides ou outras moléculas endógenas, especula-se que os agonistas do PXR tenham o potencial de agir como desreguladores endócrinos (KOJIMA *et al.*, 2011).

O dicofol não apresentou atividade agonista no mPPAR e nem no mAHR em estudos *in vitro* (KOJIMA *et al.*, 2010).

5.1.13 Sinais Clínicos em Seres Humanos

A ingestão de dicofol causou náuseas, tonturas e vômitos. A exposição por inalação causou tonturas, vômitos, fraqueza e congestão nasal. A exposição dérmica causou irritação e erupções na pele. A quantidade de exposição não foi especificada (WHO/FAO, 1996).

Em um relato de caso, um garoto de 12 anos foi acidentalmente exposto ao dicofol quando caiu de uma bicicleta em uma poça de produto formulado não diluído (470 g de dicofol/L). O paciente apresentou sintomas iniciais de náuseas, tonturas, desorientação, confusão, letargia e dor de cabeça. O paciente apresentou nistagmo horizontal e diminuição do equilíbrio. Esses sintomas se reverteram dentro de três semanas. O dicofol não foi detectado no soro uma semana após a exposição. Três semanas após o incidente, os níveis séricos de dicofol foram 1,1 µg/L e os níveis no tecido adiposo foram 0,153 µg/kg (métodos analíticos não especificados)(WHO/FAO, 1996).

No Canadá, incidentes envolvendo exposição ao dicofol causaram intoxicação sistêmica - 19 (50%) e efeitos na pele - 10 (26%); olhos - 8 (21%) e olhos/pele - 1 (3%). Aplicadores e trabalhadores do campo foram os trabalhadores mais freqüentemente expostos, segundo dados do Departamento de Alimento e Agricultura da Califórnia (EPA, 1998).

5.1.14 Biomonitoramento em Seres Humanos

O metabólito de dicofol ácido 4,4'-diclorobenzílico (DBA) foi medido na urina de 4 trabalhadores responsáveis por carregar/misturar ou aplicar dicofol com equipamento tratorizado em cultura de citros. O dicofol foi aplicado em uma taxa de 3 lb/A (3,36 kg/ha) em 500 gal/A (4675 L/ha) de água. A amostragem de urina foi feita antes da exposição, durante a exposição (40 dias) e após a exposição. A média de excreção diária de DBA foi 19-42 µg/dia durante o período de exposição. Após a exposição, houve declínio na excreção de DBA na urina, com um valor de meia-vida estimado em 7 dias (NIGG *et al.*, 1991).

Haraguchi *et al.* (2009) coletaram amostras de leite materno no Vietnã, na China, na Coreia e no Japão no período de 2007 a 2008, com o objetivo de analisar as concentrações de poluentes orgânicos persistentes (POPs), entre eles os DDTs e seus metabólitos. A partir da análise das proporções entre os isômeros dos metabólitos de DDT presentes no leite materno, os autores sugeriram que a presença desses metabólitos no leite materno chinês, japonês e coreano poderia ser atribuída ao uso do DDT, mas também à exposição ao dicofol contendo altas concentrações de DDT e seus metabólitos como impurezas.

Fujii *et al.* (2011) investigaram se o dicofol poderia ser a fonte de DDT no leite materno humano devido à sua característica lipofílica, similaridade com o DDT e amplo uso na agricultura. A coleta das amostras de leite ocorreu no período de 2007 a 2009 na China, Coreia e Japão. As amostras de leite continham níveis detectáveis de dicofol (>0,1 ng/g de lipídeo), sendo as maiores concentrações encontradas na China (9,6 ng/g de lipídeo) e na Coreia (1,9 ng/g de lipídeo) e as menores concentrações no Japão (0,3 ng/g de lipídeo). No leite materno na China as concentrações de DDT total também foram 10 vezes mais altas do que na Coreia e no Japão. Segundo os autores, a detecção do dicofol no leite indica que houve exposição atual ou prévia ao dicofol. Como o dicofol foi detectado em concentrações relativamente mais baixas do que as concentrações de DDT total, esse resultado sugere que a exposição ao dicofol não é uma das fontes principais do DDT no leite materno.

Wang *et al.* (2011) analisaram as concentrações de vários agrotóxicos, entre eles o dicofol, em 633 amostras de tecido adiposo humano no Sudeste da China. O

dicofol foi encontrado com alta frequência (75 a 98%), mas em níveis relativamente baixos (média de 3 a 9 ng/g).

5.1.15 Estudos Epidemiológicos

Settimi *et al.* (2003) conduziram um estudo caso-controle para avaliar a possível associação entre câncer de próstata e a exposição a agrotóxicos na Itália. Os casos e controles eram residentes em áreas agrícolas e foram localizados em hospitais, no período entre 1990 a 1992. Nesse estudo, foram entrevistados 124 casos (pacientes com câncer de próstata) e 659 controles (pacientes com outros tipos de câncer). Uma equipe de agrônomos estimou a exposição aos agrotóxicos que teriam sido aplicados no período entre 1950 a 1985 por meio de questionários. Os autores identificaram que os pacientes com câncer de próstata tinham maior chance de terem sido expostos a agrotóxicos organoclorados (razão de chances - OR - 2,5; IC 95% 1,4 – 4,2). Dentro desse grupo químico, os ingredientes ativos mais relatados foram DDT (OR 2,1; IC 95% 1,2 – 3,8) e dicofol e tetradifon (OR 2,8; IC 95% 1,5 – 5,0). Esses dois últimos geralmente eram aplicados conjuntamente e, portanto, foram analisados como uma exposição combinada. Também observou-se uma tendência de associação ($p\text{-trend} < 0,001$) entre exposição ao dicofol e tetradifon com o aumento da duração da exposição.

Settimi *et al.* (2003) discutem que, até que outros estudos confirmem a associação entre câncer de próstata e exposição passada a DDT e dicofol e tetradifon, os presentes resultados talvez possam ser considerados artefatos estatísticos decorrentes de comparações múltiplas. Porém, a possibilidade de associação deve ser considerada, especialmente no caso do DDT, para o qual existem relatos de carcinogenicidade em várias espécies. Com relação ao dicofol, a evidência de carcinogenicidade é limitada a tumores no fígado de camundongos e, assim, os autores sugerem que mais estudos experimentais são necessários para elucidar se ele tem ação como ativador de proliferação celular na próstata ou cause efeitos endócrinos que promovam câncer dependente de hormônios.

Reynolds *et al.* (2005) conduziram um estudo caso-controle para avaliar a possível associação entre câncer precoce na infância (idade entre 0 e 4 anos) e a proximidade da residência de suas mães a áreas agrícolas com aplicações de agrotóxicos. Neste estudo, foram incluídos 2189 casos (crianças nascidas entre

1990 e 1997) e 4335 controles, pareados pela data de nascimento e pelo sexo das crianças. Os autores estimaram a exposição potencial das mães com os dados de relato de uso de agrotóxicos do Departamento de Regulação de Agrotóxicos da Califórnia. A exposição potencial *in utero* foi estimada para os 9 meses anteriores ao nascimento da criança, considerando o uso de agrotóxicos a meia milha (aproximadamente 0,8 km) da residência da mãe. Os autores encontraram um valor de razão de chances de 1,83 (IC 95% 1,05 – 3,22) para a associação entre exposição ao dicofol e leucemia na infância. Os autores concluíram que as associações de risco pouco elevadas podem ser consistentes com o acaso devido ao grande número de comparações, mas merecem consideração para estudos futuros.

Roberts *et al.* (2007), em um estudo caso-controle, avaliaram a hipótese de que mulheres residentes próximo a locais de aplicação de agrotóxicos expostas durante a gestação poderiam estar associadas com o desenvolvimento de crianças com doenças do tipo autismo (ASD). Neste estudo, foram identificadas 465 crianças com ASD, as quais foram combinadas com um grupo controle de 6975 nascidos vivos, a termo e com peso normal ao nascer. Os autores estimaram a exposição potencial das mães com os dados de relato de uso de agrotóxicos do Departamento de Regulação de Agrotóxicos da Califórnia e com polígonos de uso do solo do Departamento de Recursos Hídricos. Os autores verificaram que as mães que residiam próximo a locais de aplicação de agrotóxicos organoclorados (mais especificamente dicofol e endosulfan) durante o período imediatamente anterior e concomitante com a embriogênese do sistema nervoso central estavam associadas com razão de chances mais altas de terem filhos com ASD. Por exemplo, a razão de chances das crianças de mães residentes num raio de 500 m dos locais de aplicação foi 6,1 (IC 95% 2,4-15,3).

Roberts *et al.* (2007) afirmam que, por ser o primeiro trabalho a explorar uma possível associação entre ASD e exposição residencial a organoclorados em concentrações de deriva, os resultados requerem replicação em estudos posteriores. Os autores também discutem que é essencial que mais estudos sejam realizados para avaliar se esses compostos podem ser etiologicamente relacionados com a ocorrência de ASD em crianças.

Cockburn *et al.* (2011) conduziram um estudo caso-controle no Vale Central agrícola da Califórnia (2005-2006), com o objetivo de investigar uma possível

associação entre exposição residencial a agrotóxicos e câncer de próstata. Os casos (n = 173) foram obtidos a partir dos registros de câncer da população e os controles (n = 162) foram obtidos de listas de programas de saúde do governo. As exposições ambientais aos agrotóxicos foram derivadas do histórico residencial e de dados de registro de uso de agrotóxicos do Departamento de Regulação de Agrotóxicos da Califórnia e de uso do solo do Sistema de Pesquisa de Terras Públicas da Califórnia, usando uma abordagem de sistemas de informação geográfica, e compreendeu o período de 1974 a 1999. Os autores identificaram que as pessoas expostas aos agrotóxicos organoclorados (um grupo de 8 agrotóxicos, entre eles o dicofol) tinham maior razão de chances para câncer de próstata (OR 1,64; IC 95% 1,02-2,63) em comparação com o grupo controle, ou seja, pessoas não expostas e pessoas expostas a outros compostos que não tinham evidências de associação com câncer de próstata. Os autores também observaram evidência para uma relação entre exposição e efeito, pois quando a exposição foi estratificada em alta e baixa, observou-se aumento da razão de chances para a categoria de alta exposição (OR = 2,03; IC 95% 1,17-3,52).

5.2 CARACTERIZAÇÃO DO PERIGO

Diante do conjunto de estudos toxicológicos e efeitos adversos causados pelo dicofol, levantou-se a possibilidade de ele ser considerado um composto desregulador endócrino.

Segundo o IPCS (2002), um desregulador endócrino é uma substância exógena ou mistura que altera a(s) função(ões) do sistema endócrino e, conseqüentemente, causa efeitos adversos em um organismo intacto, ou na sua progênie, ou em (sub)populações.

A definição inclui dois elementos chave para a identificação de um composto desregulador endócrino de importância regulatória: efeito adverso e observação em organismos intactos.

Com relação ao efeito adverso, o IPCS (2004) definiu como uma alteração na morfologia, fisiologia, crescimento, reprodução, desenvolvimento ou tempo de vida de um organismo, que resulta em prejuízo da capacidade funcional ou prejuízo da capacidade para compensar estresse adicional ou aumenta a susceptibilidade a efeitos danosos de outras influências ambientais.

Outro elemento importante na definição é que a desregulação endócrina deve ser observada em um organismo intacto, ou seja, observações em animais ovariectomizados ou castrados não podem ser considerados adversos, pois a integridade da homeostase fisiológica foi alterada (BfR, 2011).

Atualmente existem algumas propostas para a avaliação dos compostos desreguladores endócrinos, tais como a do Centro Europeu para Ecotoxicologia e Toxicologia de Compostos Químicos (ECETOC); a proposta conjunta da Alemanha e Reino Unido; a da França; a da Dinamarca e de organizações não governamentais, como a “PAN Europe” (KORTENKAMP *et al.*, 2011).

Todas as propostas, exceto a da “PAN Europe”, em maior ou menor grau aceitaram utilizar a definição de desregulador endócrino criada pelo IPCS (2002) como a base de trabalho para o desenvolvimento dos critérios regulatórios para a identificação e a avaliação dos compostos desreguladores endócrinos (KORTENKAMP *et al.*, 2011).

Porém, segundo a revisão de Kortenkamp *et al.* (2011), ainda não há um consenso sobre a melhor maneira de se avaliar os compostos quanto à característica de desregulação endócrina.

Dessa forma, com o objetivo de facilitar a organização das informações para avaliar se o dicofol poderia ser considerado um composto desregulador endócrino, escolhemos o esquema de avaliação em etapas proposto pela Alemanha e Reino Unido (BfR, 2011), conforme ilustrado na Figura 4. Não necessariamente concordamos com todas as etapas, e nossas considerações serão discutidas no texto.

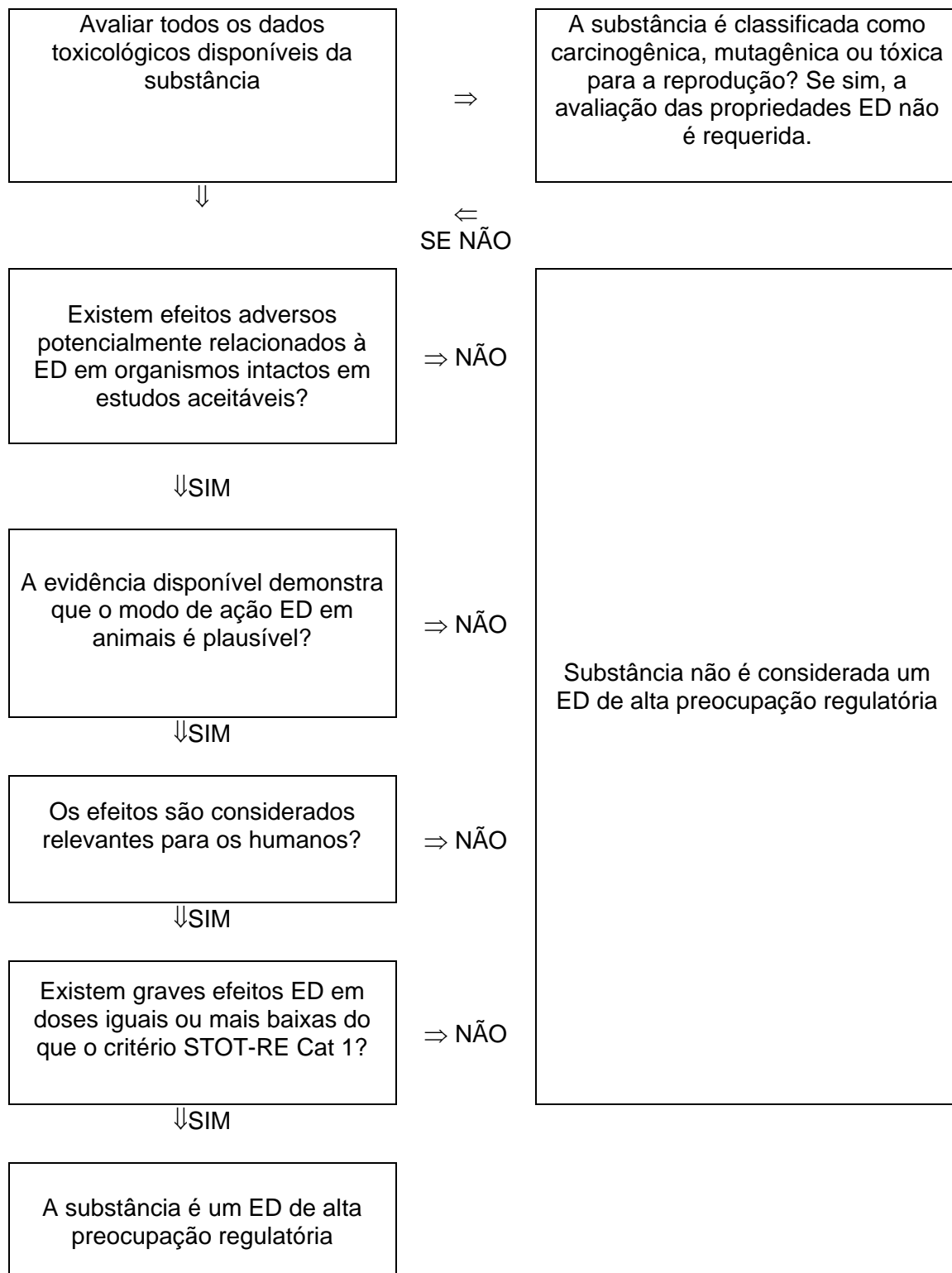


Figura 4 - Esquema de avaliação em etapas para identificação de compostos desreguladores endócrinos, baseada na proposta conjunta da Alemanha e Reino Unido. Fonte: BfR (2011). Legenda: ED: desregulador endócrino/desregulação endócrina; STOT-RE Cat 1: Categoria 1 dos critérios de “Toxicidade de órgão-alvo específico após exposição repetida” (STOT-RE).

5.2.1 Aplicação do Esquema de Avaliação em Etapas para Identificação de Compostos Desreguladores Endócrinos

Conforme a Figura 4, a primeira etapa é a avaliação de todos os dados toxicológicos disponíveis. Resumidamente, o dicofol não foi mutagênico, mas induziu aumento da incidência de tumores no fígado de camundongos machos, apresentou indícios de associação com carcinogenicidade e doenças tipo autismo em estudos epidemiológicos (que requerem confirmação) e causou efeitos reprodutivos e nas adrenais. Se seguíssemos a rigor o esquema ilustrado na Figura 4, não seria necessário seguir para a segunda etapa, pois o dicofol foi tóxico para a reprodução. Entretanto, como o dicofol também causou efeitos nas adrenais, testículos, epidídimos, próstata e ovários, continuamos a avaliação, seguindo para a segunda etapa.

Conforme a Figura 4, a segunda etapa é verificar se existem efeitos adversos nos organismos intactos, potencialmente relacionados à desregulação endócrina, em estudos aceitáveis. A resposta é sim, conforme pode ser observado na Tabela 2. A maioria dos estudos com organismos intactos, nos quais foram observados efeitos adversos potencialmente relacionados à desregulação endócrina são os estudos toxicológicos para fins regulatórios e, embora antigos, foram considerados adequados para a avaliação.

Tabela 2 - Resumo dos principais efeitos adversos observados nos animais tratados com dicofol, que podem ter relação com a desregulação do sistema endócrino

Estudos	Efeitos adversos	Autores
Toxicidade subcrônica (3 meses) via dieta com ratos	- > 6,49 mg/kg p.c./dia: hipertrofia do epitélio folicular da tireóide - > 32 mg/kg p.c./dia: ↓ níveis de corticosterona, ↑ peso das adrenais, vacuolização difusa/hiperplasia nas células do córtex das adrenais NOAEL e LOAEL: 0,64 e 6,49 mg/kg p.c./dia	Goldman <i>et al.</i> (1986) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000)
Toxicidade subcrônica (3 meses) via dieta com camundongos	≥ 84 mg/kg p.c./dia: hipertrofia do córtex das adrenais NOAEL e LOAEL: 1,6 mg/kg p.c./dia e 18,2 mg/kg p.c./dia	Goldman e Harris (1986) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000)

Continua na próxima página...

Conclusão da Tabela 2

Estudos	Efeitos adversos	Autores
Toxicidade subcrônica (3 meses) via dieta com cães	- $\geq 3,3$ mg/kg p.c./dia: \downarrow cortisol (após desafio com ACTH) - $\geq 9,9$ mg/kg p.c./dia: oligoespermatogênese nos testículos; - 26 mg/kg p.c./dia: hipoplasia da próstata NOAEL e LOAEL: 0,29 mg/kg p.c./dia e 3,3 mg/kg p.c./dia	Shellenberger (1986) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000)
Toxicidade subcrônica (3 meses) via dérmica com cães	≥ 10 mg/kg p.c./dia: \downarrow cortisol (após desafio com ACTH) NOAEL e LOAEL: 3 mg/kg p.c./dia e 10 mg/kg p.c./dia	Ferguson <i>et al.</i> (1998) <i>apud</i> EPA (1999)
Toxicidade crônica (1 ano) via dieta com cães	$\geq 0,82$ mg/kg p.c./dia: \downarrow cortisol (após desafio com ACTH) NOAEL e LOAEL: 0,12 mg/kg p.c./dia e 0,82 mg/kg p.c./dia	Tegeris (1988) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998, 1999); Comissão Européia (2000)
Toxicidade crônica/ oncogenicidade (24 meses) via dieta com ratos	$\geq 2,23$ mg/kg p.c./dia: vacuolização difusa nas células do córtex das adrenais NOAEL e LOAEL: 0,22 mg/kg p.c./dia e 2,23 mg/kg p.c./dia	Hazelton e Harris (1989) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000)
Verificação de efeitos em baixas doses em misturas	- 2,5 mg de dicofol /kg p.c./dia: \downarrow motilidade dos espermatozóides - mistura de vários agrotóxicos (entre eles o dicofol) nos respectivos NOEL e LOEL: \downarrow motilidade dos espermatozóides	Perobelli <i>et al.</i> (2010)
Toxicidade reprodutiva com ratos - duas gerações	- Pais - adrenais (hipertrofia e/ou vacuolização no córtex, nas fêmeas P1 e P2 das doses de 10,5 e 20,5 mg/kg p.c./dia); ovários (aumento da vacuolização nas células do estroma, das fêmeas P1 no grupo de 20,5 mg/kg p.c./dia, e nas fêmeas P2 nos grupos de 2,1; 10,5 e 20,5 mg/kg p.c./dia). - Filhotes: \downarrow viabilidade dos filhotes F1 no grupo de 20,5 mg/kg p.c./dia, dos filhotes F2a e F2b nos grupos de 10,5 e 20,5 mg/kg p.c./dia; \uparrow ninhadas sem filhotes sobreviventes até o desmame nas gerações F2a e F2b nos grupos de 10,5 e 20,5 mg/kg p.c./dia; \uparrow número de natimortos em F2a no grupo de 20,5 mg/kg p.c./dia NOAEL e LOAEL parental e reprodutivo: 0,4 (M/F) e 1,9/2,1 mg/kg p.c./dia (M/F) NOAEL e LOAEL dos filhotes: 1,9/2,1 (M/F) e 9,5/10,5 mg/kg p.c./dia (devido à \downarrow viabilidade, \uparrow natimortos, \uparrow mortes pós-natais)	Solomon e Kulwich (1991) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000)

Conforme a Figura 4, a terceira etapa é verificar se existem evidências que demonstram que o modo de ação de desregulação endócrina é plausível nos animais tratados com dicofol. A resposta é sim, existem evidências nos estudos

mecanísticos, conforme pode ser observado na Tabela 3, de que os efeitos adversos nos estudos *in vivo* tenham sido causados por desregulação endócrina.

Tabela 3 - Resumo dos estudos mecanísticos

Estudos	Resultado	Autores
Interferência na ligação do T4 com TTR	positivo	Van den Berg <i>et al.</i> (1991)
Interferência na ligação do T3 com TTR	positivo	Ishihara <i>et al.</i> (2003)
Inibidor da captação de T3 nos eritrócitos de girinos	positivo	Shimada e Yamauchi (2004)
Atividade antagonista ao T3 no TR	positivo	Sugiyama <i>et al.</i> (2005)
Ligação com hER	positivo	Okubo <i>et al.</i> (2004); Rider <i>et al.</i> (2010)
Ativação transcricional do hER	positivo	Vinggaard <i>et al.</i> (1999); Okubo <i>et al.</i> (2004); Kojima <i>et al.</i> (2004); Hoeskra <i>et al.</i> (2006); Rider <i>et al.</i> (2010)
Ligação com hAR	positivo	Okubo <i>et al.</i> (2004)
Antagonista do hAR	positivo	Kojima <i>et al.</i> (2004); Vinggaard <i>et al.</i> (2008)
Inibição da atividade da aromatase	positivo	Vinggaard <i>et al.</i> (2000)
Ativação transcricional do hPXR	positivo	Kojima <i>et al.</i> (2010); Kojima <i>et al.</i> (2011)
Ativação transcricional do PPAR	negativo	Kojima <i>et al.</i> (2010)
Ativação transcricional do AhR	negativo	Kojima <i>et al.</i> (2010)
Ensaio uterotrófico	negativo	Rider <i>et al.</i> (2010)

Conforme a Figura 4, a quarta etapa é julgar se os efeitos são relevantes para os seres humanos. Como o dicofol causou diversos tipos de efeitos adversos nos organismos intactos e apresentou diversos potenciais mecanismos de ação nos estudos *in vitro*, a relevância de cada efeito foi comentada separadamente.

Com os dados disponíveis, o potencial efeito sobre a tireóide parece não ser relevante ao ser humano, levando-se em conta os seguintes aspectos:

- a) no ser humano, as principais proteínas plasmáticas ligantes dos hormônios da tireóide são as globulinas ligantes de tiroxina (TBG), e não as transtirretinas (TTR)(JAHNKE *et al.*, 2004);
- b) o único efeito adverso na tireóide observado nos estudos *in vivo* foi a hipertrofia das células foliculares no estudo de toxicidade subcrônica (3 meses) via dieta com ratos. Segundo a descrição do estudo, esse efeito não foi claramente correlacionado com o tratamento (GOLDMAN *et al.*, 1986 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000);
- c) no estudo crônico com ratos, um grupo adicional de animais foi avaliado por 3 meses para verificação de efeitos na tireóide e não se observou alteração hormonal ou histopatológica (HAZELTON e HARRIS, 1989 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000);

d) segundo Bars *et al.* (2012), os efeitos sobre a tireóide nos roedores têm baixa relevância para os seres humanos devido às diferenças entre os humanos e os roedores quanto à síntese, ligação, metabolismo/*clearance* e transporte dos hormônios da tireóide, tornando os roedores mais susceptíveis à desregulação da função da tireóide.

Com os dados disponíveis, o potencial efeito estrogênico, androgênico e anti-androgênico foi considerado relevante ao ser humano, levando-se em conta os seguintes aspectos:

a) nos estudos *in vivo* foram observados efeitos adversos em órgãos susceptíveis aos hormônios estrogênicos e androgênicos, tais como vacuolização nos ovários (SOLOMON e KULWICH, 1991 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000); oligoespermatogênese e hipoplasia da próstata (SHELLENBERGER, 1986 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000) e diminuição da motilidade dos espermatozóides (PEROBELLI *et al.*, 2010), que podem estar relacionados aos mecanismos de ação identificados nos estudos *in vitro*;

b) também foram observados efeitos adversos sobre os filhotes, tais como diminuição da viabilidade e aumento do número de natimortos (SOLOMON e KULWICH, 1991 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000).

Quanto à ativação do hPXR (KOJIMA *et al.*, 2010; KOJIMA *et al.*, 2011), com os dados disponíveis não foi possível fazer uma correlação direta com os efeitos *in vivo* devido à complexidade de atuação desse receptor no metabolismo, mas foi considerado um potencial mecanismo de ação endócrina do dicofol.

Com os dados disponíveis, o potencial efeito sobre as adrenais foi considerado relevante ao ser humano, levando-se em conta os seguintes aspectos:

a) estudos mecanísticos não foram localizados na literatura, porém estudos *in vivo* mostraram efeitos adversos nas adrenais, tais como aumento do peso; hipertrofia, vacuolização difusa, hiperplasia nas células do córtex; e diminuição da liberação de corticosterona ou cortisol (nesse último caso, após desafio com ACTH) em ratos, camundongos e cães, após exposição subcrônica e crônica, pelas vias dérmica e oral (GOLDMAN *et al.*, 1986; GOLDMAN e HARRIS, 1986; SHELLENBERGER, 1986; TEGERIS, 1988;

HAZELTON e HARRIS, 1989; SOLOMON e KULWICH, 1991; FERGUSON *et al.*, 1998 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000);

b) dentre todos os órgãos afetados nos estudos *in vivo*, as adrenais foram os mais sensíveis, apresentando efeitos adversos em doses $\geq 0,82$ mg/kg p.c./dia (TEGERIS, 1988 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000);

c) com base nos efeitos descritos acima e com base no artigo de Harvey e Sutcliffe (2010), é possível inferir que o dicofol causa diminuição funcional do córtex das adrenais, conforme explicado abaixo.

Talvez a ausência de estudos mecanísticos se deva ao fato de que testes padronizados da OECD ou da EPA ainda não estejam disponíveis. Isso é reconhecido como uma falha no conjunto de testes para a avaliação dos compostos desreguladores endócrinos (KORTENKAMP *et al.*, 2011). Segundo Harvey *et al.* (2007), as adrenais têm sido relativamente negligenciadas na toxicologia endócrina. Esse ponto de vista também foi compartilhado pela Sociedade de Endocrinologia (DIAMANTI-KANDARAKIS *et al.*, 2009).

Segundo Harvey e Sutcliffe (2010), a principal causa de hipertrofia no córtex das adrenais é o aumento da estimulação por ACTH. Segundo os autores, há dois principais mecanismos endocrinológicos pelos quais o córtex da adrenal pode ser superestimulado pelo ACTH, causando a hipertrofia: o primeiro mecanismo é uma resposta a algum tipo de estresse e o segundo é a perda do *feedback* negativo de inibição da secreção de ACTH pela queda dos níveis de glicocorticóides, sendo esta a manifestação mais grave de toxicidade direta no córtex da adrenal.

Diferentemente da toxicidade direta, quando as adrenais reagem a algum tipo de estresse, elas são superestimuladas pelo ACTH e por isso também apresentarão hipertrofia, mas o ponto importante é que sua capacidade funcional de produzir e secretar glicocorticóides estará adequada (HARVEY E SUTCLIFFE, 2010).

Harvey e Sutcliffe (2010) propuseram um diagrama do eixo hipotálamo – pituitária – córtex da adrenal (HPA), no qual apresentaram as diferenças típicas no perfil hormonal entre a hipertrofia no córtex da adrenal causada por estresse e a causada por toxicidade direta (Figura 5).

PERFIL HORMONAL DA PITUITÁRIA E DO CÓRTEX DA ADRENAL:
ESTRESSE x INIBIÇÃO DA ESTEROIDOGÊNESE

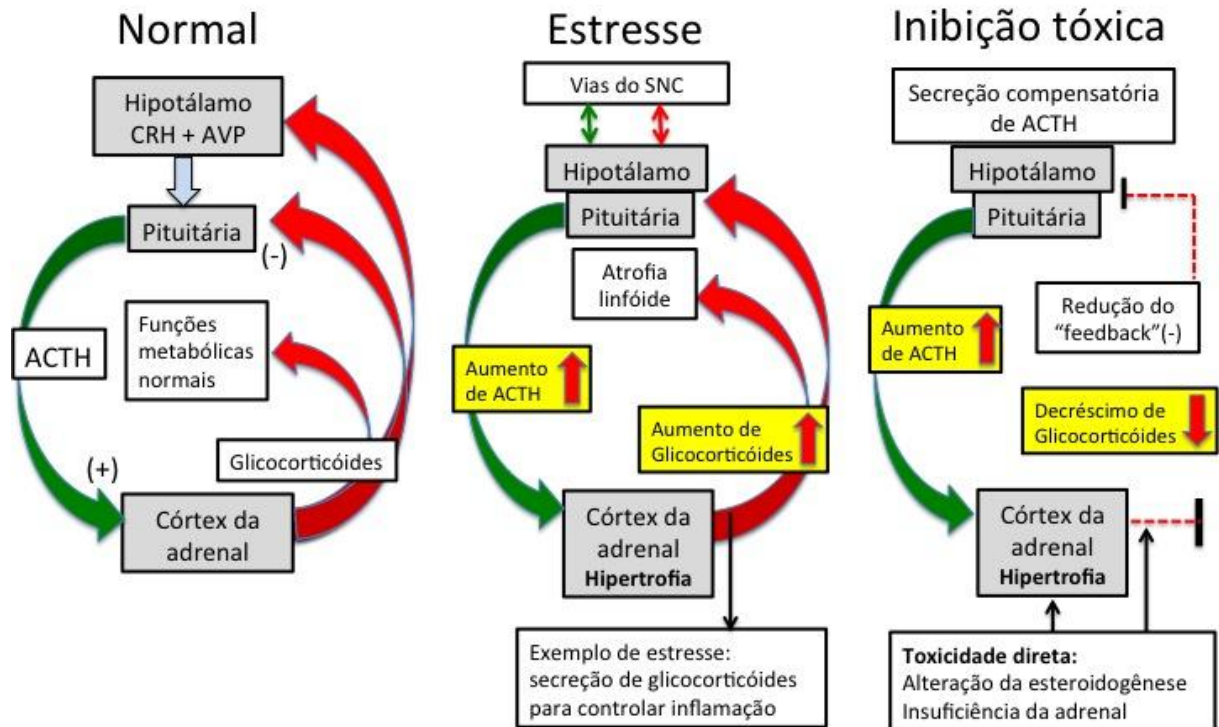


Figura 5 - Toxicologia endócrina no eixo hipotálamo – pituitária – córtex da adrenal: perfil hormonal da pituitária e do córtex da adrenal comparando a causa por estresse e a causa por inibição tóxica da esteroidogênese, onde ambas as condições causam aumento do ACTH e hipertrofia no córtex da adrenal. Legenda: ACTH: hormônio adrenocorticotrófico; AVP: arginina vasopressina ou hormônio antidiurético; SNC: Sistema Nervoso Central; CRH: hormônio liberador de corticotrofina. Fonte: traduzido de Harvey e Sutcliffe (2010).

A característica que distingue a hipertrofia causada por estresse e a causada por toxicidade direta no córtex da adrenal é que a primeira provoca aumento do ACTH e aumento dos glicocorticóides, enquanto que a segunda provoca inibição da produção de glicocorticóides e aumento do ACTH (a super produção de ACTH seria um mecanismo para compensar a produção insuficiente de glicocorticóides, por exemplo, o cortisol ou a corticosterona)(HARVEY E SUTCLIFFE, 2010).

Segundo Harvey e Sutcliffe (2010), a existência de outras lesões nas adrenais também pode ajudar a excluir o estresse como causador da hipertrofia. O estresse geralmente não causa lesões degenerativas, fibroses ou necroses. Já a toxicidade direta no córtex da adrenal pode causar lesões degenerativas, necróticas e vacuolização (HARVEY E SUTCLIFFE, 2010). Segundo Rosol *et al.* (2001), a

vacuolização é uma característica comum dos compostos que alteram a esteroidogênese.

A relevância do efeito para a saúde humana pode ser visualizada com o exemplo da doença de Addison ou insuficiência adrenal primária, caracterizada pela insuficiência do córtex da adrenal. As manifestações clínicas mais comuns são dor abdominal, fraqueza, emagrecimento, hiperpigmentação cutânea, hipotensão postural, hiperpotassemia, hiponatremia, acidose metabólica, anemia e eosinofilia (PICON *et al.*, 2010).

Também é pertinente lembrar que a toxicidade/insuficiência do córtex da adrenal pode estar inicialmente oculta, como ocorre, por exemplo, com o anestésico geral etomidato. A insuficiência do córtex da adrenal causada por esse medicamento somente foi identificada nos pacientes que passaram por estresse adicional. Esse medicamento causou graves crises de supressão do córtex da adrenal, e em condições de maior estresse, causou a morte dos pacientes (HINSON E RAVEN, 2006; HARVEY E SUTCLIFFE, 2010).

Portanto, respondendo à quarta etapa do esquema para avaliação de compostos desreguladores endócrinos descrita na Figura 4, os efeitos adversos sobre as adrenais, próstata, testículos, epidídimos, ovários e filhotes foram considerados relevantes para os humanos.

Conforme a Figura 4, a quinta etapa é verificar se existem graves efeitos endócrinos em doses iguais ou mais baixas do que a Categoria 1 dos critérios de “Toxicidade de órgão-alvo específico – Exposição repetida” (STOT-RE). Os critérios STOT-RE são limiares de dose discriminatórios para determinar se as substâncias devem ser classificadas quanto ao perigo e rotulagem (BARS *et al.*, 2012). Segundo o esquema de avaliação em etapas proposto pela Alemanha e Reino Unido, se a substância for enquadrada como Categoria 1, ela seria considerada de alta preocupação regulatória.

A utilização dos critérios STOT-RE assume o conceito de potência. Segundo Bars *et al.* (2012), a potência seria um fator que considera tanto a dose como o tempo necessário para causar os efeitos adversos. Por exemplo, uma substância com um NOAEL menor do que outra para o mesmo efeito (*endpoint*) pode ser considerada intrinsecamente mais potente. Assim como uma substância potente pode causar um efeito adverso após um curto período de exposição, enquanto que

uma substância menos potente pode causar o mesmo efeito em um período maior de exposição.

O uso do conceito de potência não é consenso na comunidade científica e nas propostas para avaliação dos compostos desreguladores endócrinos para fins regulatórios.

Por exemplo, a Dinamarca não concorda com essa abordagem porque, para os compostos desreguladores endócrinos, há indicações de que o período de exposição durante janelas críticas de desenvolvimento (por exemplo, durante a gravidez e/ou estágios de vida iniciais) são mais importantes do que a dose. Além disso, nem a definição de desregulador endócrino internacionalmente aceita da WHO/IPCS, nem o documento da OECD para avaliação de desregulação endócrina incluem critérios ou requerimentos de potência. Outra consideração é que as substâncias carcinogênicas, mutagênicas e tóxicas para a reprodução não são classificadas com base na sua potência, mas sim com base na evidência do perigo, portanto, não seria consistente introduzir uma abordagem diferente para a identificação dos compostos desreguladores endócrinos (*DANISH MINISTRY OF THE ENVIRONMENT*, 2011).

Levando-se em conta a discussão do documento da Dinamarca, consideramos que a avaliação das doses críticas em que apareceram os efeitos adversos são importantes para a avaliação do risco, mas não decisivas para considerar um composto como desregulador endócrino. Portanto, consideramos que a avaliação poderia ser finalizada nesse momento, com a conclusão de que o dicofol é um desregulador endócrino.

Entretanto, com o objetivo de finalizar a aplicação do esquema de avaliação de compostos desreguladores endócrinos proposto pela Alemanha e Reino Unido, respondendo à quinta etapa do esquema descrito na Figura 4: existem graves efeitos endócrinos em doses iguais ou mais baixas do que as doses limiares da Categoria 1 do critério STOT-RE?

Segundo os critérios STOT-RE, existem duas categorias de classificação (Categoria 1 e 2) cobrindo substâncias de potência relativamente mais alta ou mais baixa, conforme os Quadros 3, 4 e 5, retiradas do documento da Alemanha e Reino Unido (BfR, 2011).

Quadro 3 - Doses limiares STOT-RE para estudos sub-agudos e outros estudos de curto prazo (exemplo: estudos de toxicidade sobre o desenvolvimento)

	STOT-RE Cat 2	STOT-RE Cat 1
Oral	300 mg/kg p.c./dia	30 mg/kg p.c./dia
Dérmico	600 mg/kg p.c./dia	60 mg/kg p.c./dia
Inalatório (vapor)	3 mg/L/6h/dia	0,6 mg/L/6h/dia
Inalatório (pó, névoa, fumaça)	0,6 mg/L/6h/dia	0,06 mg/L/6h/dia

Fonte: BfR (2011).

Quadro 4 - Doses limiares STOT-RE para estudos subcrônicos e outros estudos de médio prazo (exemplo: estudo de duas gerações)

	STOT-RE Cat 2	STOT-RE Cat 1
Oral	100 mg/kg p.c./dia	10 mg/kg p.c./dia
Dérmico	200 mg/kg p.c./dia	20 mg/kg p.c./dia
Inalatório (vapor)	1 mg/L/6h/dia	0,2 mg/L/6h/dia
Inalatório (pó, névoa, fumaça)	0,2 mg/L/6h/dia	0,02 mg/L/6h/dia

Fonte: BfR (2011).

Quadro 5 - Doses limiares STOT-RE para estudos crônicos

	STOT-RE Cat 2	STOT-RE Cat 1
Oral	50 mg/kg p.c./dia	5 mg/kg p.c./dia
Dérmico	100 mg/kg p.c./dia	10 mg/kg p.c./dia
Inalatório (vapor)	0,5 mg/L/6h/dia	0,1 mg/L/6h/dia
Inalatório (pó, névoa, fumaça)	0,1 mg/L/6h/dia	0,01 mg/L/6h/dia

Fonte: BfR (2011).

Considerando os estudos de médio prazo com administração de dicofol pela via oral nos quais foram observados efeitos adversos relacionados à desregulação endócrina, os menores valores de LOAEL foram 2 mg/kg p.c./dia do estudo de duas gerações com ratos (SOLOMON e KULWICH, 1991 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000) e 3,3 mg/kg p.c./dia do estudo subcrônico com cães (SHELLENBERGER, 1986 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000) e, portanto, o dicofol seria considerado como Categoria 1 do STOT-RE (≤ 10 mg/kg p.c./dia para a via oral), segundo o Quadro 4.

Considerando a administração de dicofol pela via dérmica a médio prazo que causou efeitos adversos relacionados à desregulação endócrina, identificamos o estudo subcrônico de 3 meses com cães (FERGUSON *et al.*, 1998 *apud* EPA, 1999), o qual apresentou o LOAEL de 10 mg/kg p.c./dia e, portanto, seria considerado como Categoria 1 do STOT-RE (≤ 20 mg/kg p.c./dia para a via dérmica), segundo o Quadro 4.

Considerando os estudos crônicos conduzidos com o dicofol, no qual foi observado efeito adverso relacionado à desregulação endócrina, o menor LOAEL foi

0,82 mg/kg p.c./dia no estudo de um ano com cães tratados pela dieta (TEGERIS, 1988 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPEIA, 2000) e, portanto, seria considerado como Categoria 1 do STOT-RE (≤ 5 mg/kg p.c./dia para a via oral), segundo o Quadro 5.

Portanto, respondendo à quinta etapa do esquema de avaliação descrito na Figura 4, existem graves efeitos endócrinos em doses iguais ou mais baixas do que as doses limiares da Categoria 1 STOT-RE? A resposta é sim, os estudos de médio e longo prazo apresentaram valores de LOAEL abaixo das doses limiares da Categoria 1 STOT-RE, e portanto, o dicofol pode ser considerado um desregulador endócrino de alta preocupação regulatória.

Segundo o Artigo 3º, parágrafo 6º, alínea d da Lei nº 7802/1989, fica proibido o registro de agrotóxicos, seus componentes e afins que provoquem distúrbios hormonais, danos ao aparelho reprodutor, de acordo com procedimentos e experiências atualizadas na comunidade científica (BRASIL, 1989). Dessa forma, considerando os conhecimentos atuais e a Lei, o registro do dicofol deveria ser descontinuado no Brasil. Apesar desse resultado, como a proposta deste trabalho é a avaliação do risco, continuamos as próximas etapas desse processo.

5.2.2 Identificação do NOAEL para o estabelecimento da IDA e para o Cálculo da MOE

Para auxiliar a identificação do NOAEL relevante para o estabelecimento da IDA e para o cálculo da MOE, um resumo do perfil toxicológico do dicofol foi descrito na Tabela 4.

Tabela 4 - Resumo dos estudos de genotoxicidade/mutagenicidade, subcrônicos, crônicos, de toxicidade reprodutiva, de toxicidade sobre o desenvolvimento e de neurotoxicidade

Estudo	Espécie/ sistema-teste	Via	Resultados*		Autores
Genotoxicidade/ Mutagenicidade	Bactérias S. <i>typhimurium</i>	<i>In vitro</i>	negativo		Higgibotham (1985) <i>apud</i> Clevenger (1992); Comissão Européia (2000)
	Bactérias S. <i>typhimurium</i>	<i>In vitro</i>	negativo		Shirasu <i>et al.</i> (1980) <i>apud</i> Clevenger (1992)
	Bactérias <i>E. coli</i>	<i>In vitro</i>	negativo		Shirasu <i>et al.</i> (1980) <i>apud</i> Clevenger (1992)
	Células CHO – teste HGPRT	<i>In vitro</i>	negativo		Foxall (1986) <i>apud</i> Clevenger (1992); Comissão Européia (2000)
	Células CHO – teste de clastogenicidade	<i>In vitro</i>	negativo		Ivett (1986) <i>apud</i> Clevenger (1992); Comissão Européia (2000)
	Hepatócitos de ratos – síntese de DNA não programada	<i>In vitro</i>	negativo		Foxall e Byers (1985) <i>apud</i> Clevenger (1992); Comissão Européia (2000)
	Ratos - teste de clastogenicidade	<i>In vivo</i> - oral	negativo		Sames e Doolittle (1986) <i>apud</i> Clevenger (1992); Comissão Européia (2000)
Toxicidade subcrônica	Ratos CD	dérmica	NOAEL: 4	LOAEL: 40	Lampe e Baldwin (1990) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000)
	Coelhos Nova Zelândia	dérmica	NOAEL: 4,1	LOAEL: 10,2	Bonin <i>et al.</i> (1986) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000)
	ratos Crl-CD (SD)	dieta	NOAEL: 0,64	LOAEL: 6,49	Goldman <i>et al.</i> (1986) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000)
	camundongos Crl:CD-1 (ICR) BR	dieta	NOAEL: 1,6	LOAEL: 18,2	Goldman e Harris (1986) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000)
	cães Beagle	dieta	NOAEL: 0,29	LOAEL: 3,3	Shellenberger (1986) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000)
	cães Beagle	dérmica	NOAEL: 3	LOAEL: 10	Ferguson <i>et al.</i> (1998) <i>apud</i> EPA (1999)

Continua na próxima página...

Continuação da Tabela 4

Estudo	Espécie/ sistema-teste	Via	Resultados*		Autores
Toxicidade crônica	cães Beagle	dieta	NOAEL: 0,12	LOAEL: 0,82	Tegeris (1988) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998, 1999); Comissão Européia (2000)
	ratos Osborne-Mendel	dieta	NOAEL: -	LOAEL: -	NCI (1978) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998)
	ratos CRL:CD BR	dieta	NOAEL: 0,22	LOAEL: 2,23	Hazelton e Harris (1989) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000)
	camundongos B6C3F1	dieta	Carcinogênico NOAEL: - LOAEL: -		NCI (1978) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998)
Toxicidade reprodutiva	ratos Crl:CD BR (2 gerações)	dieta	NOAEL parental: 0,4	LOAEL parental: 1,9	Solomon e Kulwich (1991) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Européia (2000)
			NOAEL reprodutivo : 0,4	LOAEL reprodutivo : 1,9	
			NOAEL da prole: 1,9	LOAEL da prole: 9,5	
	ratos Sprague-Dawley (1 geração)	dieta	NOAEL parental: 1,7	LOAEL parental: 8,7	Hoberman (1997) <i>apud</i> EPA (1998)
			NOAEL reprodutivo : ≥ 8,7	LOAEL reprodutivo : -	
			NOAEL da prole: 1,7	LOAEL da prole: 8,7	
ratos machos adultos Lewis	dieta	diminuição da motilidade dos espermatozoides		Perobelli <i>et al.</i> (2010)	
		NOAEL: -	LOAEL: -		

Continua na próxima página...

Conclusão da Tabela 4

Estudo	Espécie/ sistema-teste	Via	Resultados*		Autores
Toxicidade sobre desenvolvimento	ratas Crl:COBS CD	gavagem	NOAEL parental: 0,25	LOAEL parental: 2,5	Hoberman e Christian (1986) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Europeia (2000)
			NOAEL da prole: ≥ 25	LOAEL da prole: -	
	ratas Wistar	gavagem	NOAEL parental: -	LOAEL parental: -	Lemonica <i>et al.</i> (1992)
			NOAEL da prole: -	LOAEL da prole: -	
	coelhas Nova Zelândia	gavagem	NOAEL parental: 0,4	LOAEL parental: 4	Hoberman e Christian (1986) <i>apud</i> Clevenger (1992); EPA (1998); Comissão Europeia (2000)
			NOAEL da prole: 4	LOAEL da prole: 40	
Neurotoxicidade aguda	Ratos Crl:CDBR VAF/Plus	gavage m	NOAEL: 15	LOAEL: 75	Foss (1992) <i>apud</i> EPA (1998)
Neurotoxicidade subcrônica	ratos Crl:CDBR VAF/Plus	dieta	NOAEL: 0,3	LOAEL: 5,6	Foss (1993) <i>apud</i> EPA (1998)

* Observação: os valores de NOAEL e LOAEL são aqueles assumidos neste trabalho, descritos em mg/kg p.c./dia.

5.2.2.1 Seleção de NOAEL para o estabelecimento da IDA

Para o estabelecimento da IDA, identificamos o NOAEL na espécie mais sensível dentre os estudos crônicos em animais e dividimos pelos fatores de incerteza.

O NOAEL de 0,12 mg/kg p.c./dia foi selecionado do estudo de um ano em cães. O LOAEL nesse estudo foi de 0,82 mg/kg p.c./dia, com base na inibição da liberação de cortisol após injeção de ACTH (TEGERIS, 1988 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998, 1999; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000).

Com relação aos fatores de incerteza, utilizamos o valor de 100, levando-se em consideração a extrapolação interespecie (fator de 10) e a variabilidade intraespecie (fator de 10). Portanto, a IDA seria:

$$IDA = \frac{0,12 \text{ mg/kg p.c./dia}}{100} = 0,0012 \text{ mg/kg p.c./dia}$$

A IDA de 0,0012 mg/kg p.c./dia proposta neste trabalho difere da IDA de 0,002 mg/kg p.c./dia constante na monografia D-14 da ANVISA (ANVISA, 2011b), provavelmente devido à escolha de um valor diferente de NOAEL.

5.2.2.2 Seleção de NOAEL para o cálculo da MOE

Para o cálculo da MOE, também foi considerado o NOAEL na espécie mais sensível dentre os estudos em animais e dividindo-se o NOAEL pelos fatores de incerteza.

Segundo a EPA (2001), o NOAEL a ser escolhido deve ser proveniente de um estudo que reflita o período de exposição para o qual se quer calcular a MOE. Com relação ao potencial período de exposição ocupacional, assumimos que em geral as exposições poderiam ocorrer com duração intermediária (entre 30 a 180 dias). Assim, foram escolhidos os seguintes valores de NOAEL:

- NOAEL dérmico: 3 mg/kg p.c./dia, do estudo dérmico de 90 dias com cães. No LOAEL de 10 mg/kg p.c./dia foi observada inibição da liberação de cortisol nos cães após injeção de ACTH (FERGUSON *et al.*, 1998 *apud* EPA, 1999);
- NOAEL inalatório: como não foi localizado um estudo subcrônico com administração do dicofol pela via inalatória, selecionamos o NOAEL de 0,29 mg/kg p.c./dia do estudo oral de 90 dias com cães para extrapolar para o cenário inalatório. No LOAEL de 3,3 mg/kg p.c./dia foi observada diminuição dos níveis de cortisol após injeção de ACTH e alterações no fígado (SHELLENBERGER, 1986 *apud* CLEVENGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000).

Considerando que a exposição ocupacional é uma exposição agregada pelas vias dérmica e inalatória e que o efeito toxicológico que definiu o NOAEL dérmico e inalatório foi o mesmo, utilizou-se também a equação da MOE agregada (MOE_T), conforme descrita no item 4.4.

5.3 AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO

5.3.1 Avaliação da Exposição Dietética

Inicialmente, estimamos a ingestão dos resíduos de dicofol nos alimentos consumidos pela população brasileira, utilizando-se os LMRs (ANVISA, 2011b) e os dados de consumo de alimentos e de peso corpóreo calculados com o fator de expansão da POF7 (IBGE, 2011). Para facilitar a visualização dos dados, os resultados da exposição dietética considerando o LMR foram apresentados juntamente com os cálculos de impacto na IDA, conforme a Tabela 6 na página 106.

Para refinar os cálculos da estimativa de ingestão dos resíduos de dicofol nos alimentos pela população brasileira, substituímos o valor do LMR pelos valores médios de resíduos de dicofol nas amostras analisadas no PARA no período de 2009 a 2011, conforme a Tabela 5. Para facilitar a visualização dos dados, os resultados da exposição dietética considerando os valores médios de resíduos de monitoramento foram apresentados juntamente com os cálculos de impacto na IDA, conforme a Tabela 7 na página 109.

Tabela 5 - Resultados dos dados de monitoramento de resíduos de dicofol em alguns dos alimentos monitorados no PARA no período de 2009* a 2011**

Cultura	Nº de amostras com resíduos \geq LOD (a)/Nº de amostras analisadas(b)	Resíduos médios nas amostras do PARA 2009 a 2011 (mg/kg)
Citros	35/294	0,030
Maçã	0/170	0,030
Pepino	2/200	0,001
Pimentão	3/311	0,001

* ANVISA (2010; 2011a); ** Dados do PARA referentes à amostragem de alimentos em 2011, mas ainda não disponíveis no site da ANVISA

(a) Amostras com resíduos \geq LOD, exceto para maçã, que foi incluída na tabela, apesar de as amostras apresentarem resíduos $<$ LOD, pois é uma das culturas com LMR para dicofol. Para efeito de cálculo da exposição dietética, assumimos o resíduo na maçã como sendo o LOD.

(b) Culturas que têm LMR (citros e maçã) e outras culturas analisadas no PARA que apresentaram resíduos \geq LOD, mas não têm uso autorizado de dicofol. Para essas culturas com uso não autorizado de dicofol, para efeito de cálculo da exposição dietética, resíduos $<$ LOD foram considerados com valor zero; amostras com resíduos = LOD foram ajustadas para o valor do LOQ, para considerar as incertezas do método.

LOD e LOQ de citros e pimentão: 0,02 e 0,05 mg/kg

LOD e LOQ de maçã e pepino: 0,03 e 0,06 mg/kg

5.3.2 Avaliação da Exposição Ocupacional

Os trabalhadores que manuseiam os produtos formulados à base de dicofol durante as atividades de misturar, abastecer e aplicar os produtos nas lavouras têm potencial de exposição ocupacional principalmente pelas vias dérmica e inalatória.

Para identificar os potenciais cenários de exposição ocupacional, foi feito um levantamento das informações constantes nas bulas dos produtos formulados à base de dicofol que estão registrados no Brasil (MAPA, 2012). Identificamos 8 agrotóxicos à base de dicofol registrados no Brasil, pertencentes a 5 diferentes titulares de registro (Quadro 6). Todas as formulações são do tipo concentrado emulsionável (EC).

Quadro 6 - Produtos formulados à base de dicofol registrados no Brasil e recomendações de uso

Marca Comercial/ Nº do Registro	Titular de Registro	Composição (g de i.a./L)	Classe toxicológica	Cultura	Dose máxima p.c./ha ou L de água	Volume máximo de calda (L/ha ou L/planta)	Dose máxima de aplicação (kg i.a./ha)	Dose máxima de aplicação (lb i.a./A)	Equipamento de aplicação
Dicofol Agripec CE/13088	Nufarm Indústria Química e Farmacêutica S.A.	185	I – Extremamente tóxico	Algodão	4 L p.c./ha	145 L/ha	0,740	0,659	Pulverizador manual ou tratorizado
				Citros	200 mL pc/100 L de água	145 L/ha	0,054	0,048	
Dicofol Fersol 185 EC/1798394	Fersol Indústria e Comércio S.A.	185	II – Altamente tóxico	Algodão	4 L p.c./ha	Não informado	0,740	0,659	Pulverizador tratorizado
				Citros	200 mL pc/100 L de água	2000 L/ha	0,740	0,659	
Dicofol Fersol 480 EC/1394	Nortox S.A.	480	II – Altamente tóxico	Algodão	1,5 L p.c./ha	15 L/planta	0,720	0,641	Pulverizador tratorizado
				Citros	75 mL/100 L de água	400 L/ha	0,144	0,128	
Dicofol Milenia EC/428705	Milenia Agrociências S.A. - Londrina	185	I – Extremamente tóxico	Algodão	4 L p.c./ha	145 L/ha	0,740	0,659	Pulverizador tratorizado
				Citros	200 mL pc/100 L de água	15 L/planta (Obs.: 15 L x 555 plantas = 8325 L/ha)(a)	3,08 (Obs.: 5,5 g i.a./planta x 555 plantas)(a)	2,743	
				Maçã	200 mL pc/100 L de água	3 L/planta (Obs.: 3 L x 2500 plantas = 7500 L/ha)(b)	2,75 (Obs.: 1,1 g i.a./planta x 2500 plantas)(b)	2,5	
Dik 185 EC/568894	Milenia Agrociências S.A. - Londrina	185	I – Extremamente tóxico	Algodão	4 L p.c./ha	300 L/ha	0,740	0,659	Pulverizador manual ou tratorizado
				Citros	200 mL pc/100 L de água	15 L/planta (Obs.: 15 L x 555 plantas = 8325 L/ha)	3,08 (Obs.: 5,5 g i.a./planta x 555 plantas)(a)	2,743	
Kelthane EC/588796	Dow Agrosciences Industrial Ltda. - São Paulo	185	II – Altamente tóxico	Algodão	4 L p.c./ha	400 L/ha	0,740	0,659	Pulverizador tratorizado
				Citros	200 mL pc/100 L de água	25 L/planta (Obs.: 25 L x 555 plantas = 13875 L/ha)	5,134 (Obs.: 9,25 g i.a./planta x 555 plantas)(a)	4,573	

Continua na próxima página...

Conclusão do Quadro 6

Marca Comercial/ N° do Registro	Titular de Registro	Composição (g de i.a./L)	Classe toxicológica	Cultura	Dose máxima p.c./ha ou L de água	Volume máximo de calda (L/ha ou L/planta)	Dose máxima de aplicação (kg i.a./ha)	Dose máxima de aplicação (lb i.a./A)	Equipamento de aplicação
Kelthane 480/1018894	Dow Agrosciences Industrial Ltda. - São Paulo	480	II – Altamente tóxico	Algodão	1,5 L p.c./ha	400 L/ha	0,720	0,641	Pulverizador tratorizado
				Citros	77 mL p.c./100 L de água	4000 L/ha	1,478	1,315	Pulverizador costal ou tratorizado
				Maçã	77 mL p.c./100 L de água	10 L/planta (Obs.: 10 L x 2500 plantas = 25000 L/ha)	9,25 (Obs.: 3,7 g i.a./planta x 2500 plantas)(b)	8,234	
Tricofol/3597	Milenia Agrociências S.A. - Londrina	480	I – Extremamente tóxico	Algodão	15 L p.c./ha	145 L/ha	0,720	0,641	Pulverizador manual ou tratorizado
				Citros	77 mL p.c./100 L de água	15 L/planta (Obs.: 15 L x 555 plantas = 8325 L/ha)	3,052 (Obs.: 5,5 g i.a./planta x 555 plantas)(a)	2,719	Pulverizador tratorizado
				Maçã	77 mL p.c./100 L de água	3 L/planta (Obs.: 3 L x 2500 plantas = 7500 L/ha)	2,75 (Obs.: 1,1 g i.a./planta x 2500 plantas)(b)	2,5	

Fonte: AGROFIT (MAPA, 2012). Legenda: p.c. = produto comercial; i.a. = ingrediente ativo; ha = hectare; lb = libra; A = acre; 1kg = 2,2 lb; 1 ha = 2,47 A. Nota: (a) Segundo a Embrapa (2012), um hectare de laranjeiras tem uma densidade média de 416 a 1000 plantas/ha, dependendo do cultivar. Para fins de cálculo da dose máxima de aplicação de dicofol, assumimos o valor de 555 plantas/ha, que seria um valor intermediário, referente aos cultivares de laranjas Pera, Parson Brown, Midsweet, Natal e Rubi. (b) Segundo Petri *et al.* (2011), um hectare de macieiras tem uma densidade média de 2500 a 3000 plantas. Para fins de cálculo da dose máxima de aplicação de dicofol, assumimos o valor de 2500 plantas/ha, pois consideramos que se trata de um alto adensamento de plantas.

5.3.2.1 Cenários de exposição ocupacional

Considerando as informações das bulas dos produtos formulados à base de dicofol listados no Quadro 6, foram identificados os seguintes cenários de exposição ocupacional:

1. misturar/abastecer líquidos em sistema aberto para aplicação com barra de pulverização (cenário 3 do PHED);
2. misturar/abastecer líquidos em sistema aberto para aplicação com turbo atomizador (cenário 3 do PHED);
3. aplicação por turbo atomizador, cabine aberta (cenário 11 do PHED);
4. aplicação por turbo atomizador, cabine fechada (cenário 12 do PHED);
5. aplicação com barra de pulverização, cabine aberta (cenário 13 do PHED);
6. aplicação com barra de pulverização, cabine fechada (cenário 14 do PHED);
7. aplicação com pulverização costal (cenário 20 do PHED);
8. misturar/abastecer líquidos em sistema aberto/aplicar com turbo atomizador com cabine aberta (cenário 27 do PHED);
9. misturar/abastecer líquidos em sistema aberto/aplicar com barra de pulverização com cabine aberta (cenário 28 do PHED);
10. misturar/abastecer líquidos em sistema aberto/aplicar com barra de pulverização com cabine fechada (cenário 29 do PHED);
11. misturar/abastecer líquidos/aplicar com pulverização costal (cenário 34 do PHED)

5.3.2.2 Unidades de exposição

As unidades de exposição foram retiradas do PHED (1998). Dentre os cenários ocupacionais supracitados, a maioria das unidades de exposição no PHED foram obtidas de estudos com resultados de alta e média confiabilidade, exceto para os cenários 27, 29 e 34, para os quais as unidades de exposição foram relatadas como de baixa confiabilidade devido ao número limitado de réplicas. Por isso, para esses cenários, não foram estimadas as exposições ocupacionais.

5.3.2.3 Dose máxima de aplicação dos produtos formulados

A dose máxima de aplicação em kg i.a./ha foi convertida em lb i.a./A, para facilitar os cálculos de exposição ocupacional, visto que as unidades de exposição dérmica e inalatória do PHED estão descritas na unidade de lb i.a./A.

Para a cultura de algodão, a dose máxima de aplicação recomendada na bula dos produtos registrados no Brasil é de 0,740 kg i.a./ha ou 0,659 lb i.a./A.

Para a cultura de citros, a dose máxima de aplicação recomendada na bula dos produtos registrados no Brasil é de 5,134 kg i.a./ha ou 4,573 lb/A, considerando a dose máxima recomendada em bula para o produto Kelthane EC (9,25 g i.a./planta) e multiplicando pela densidade de 555 plantas/ha (EMBRAPA, 2012).

Para a cultura de maçã, a dose máxima de aplicação recomendada na bula dos produtos registrados no Brasil é de 9,25 kg i.a./ha ou 8,234 lb/A, considerando a dose máxima recomendada em bula para o produto Kelthane 480 (3,7 g i.a./planta) e multiplicando pela densidade de 2500 plantas/ha (PETRI *et al.*, 2011).

5.3.2.4 Área máxima tratada por dia

Os valores de área máxima tratada por dia utilizados neste trabalho constam no Quadro 7 e foram retirados do documento “Valores padrão para acres tratados diariamente na agricultura” dos Estados Unidos (*SCIENCE ADVISORY COUNCIL FOR EXPOSURE*, 2001) ou da EPA (1998), pois não encontramos referência validada para as áreas tratadas no Brasil.

Quadro 7 - Valores de área máxima tratada por dia

Cenário de exposição	Equipamento	Valor	Fonte
Misturador/Abastecedor ou Aplicador com barra de pulverização ou turbo atomizador			
Misturador/Abastecedor ou Aplicador de líquidos	Barra de pulverização	200 Acres/dia(a)	Fonte: <i>Science Advisory Council for Exposure</i> (2001)
	Turbo atomizador	20 Acres/dia(b)	Fonte: <i>Science Advisory Council for Exposure</i> (2001)
		40 Acres/dia(c)	Fonte: <i>Science Advisory Council for Exposure</i> (2001)
Aplicador com pulverizador costal			
Aplicador de líquidos	Pulverização costal	5 Acres/dia	EPA (1998)

Nota: (a) Faixa superior para culturas com grandes áreas, incluindo mas não limitando a culturas como algodão, milho, trigo, alfafa, arroz e soja. Fonte: *Science Advisory Council for Exposure* (2001).

(b) Faixa inferior, quando um número alto de galões são necessários por acre (ex.: 500 a 1000 galões por acre). Nas unidades de medida brasileiras, esses valores correspondem a 4678 L/ha a 9353 L/ha. Fonte: *Science Advisory Council for Exposure* (2001).

(c) Baseado nos dados de aplicação do PHED normalizados para 8 h por dia e padrões de uso nas culturas, as aplicações típicas são de 150 galões por acre. Nas unidades de medida brasileiras, esse valor corresponde a 1403 L/ha. Assume-se que taxas mais baixas de aplicação podem ser aplicadas em uma maior área total por dia. Fonte: *Science Advisory Council for Exposure* (2001).

Conforme se observa no Quadro 7, para o cenário com aplicação com equipamento turbo atomizador, podem ser usados dois valores de área, 20 ou 40 acres, dependendo do volume de calda aplicado. Quando o volume de aplicação é menor (até 1403 L/ha), assume-se que é possível aplicar o produto em uma área maior (40 acres). Assim, para a cultura de algodão, assumimos a área de 40 acres para aplicação com turbo atomizador, pois o volume máximo de calda recomendado na bula é de 400 L/ha (produto Kelthane EC). Para a cultura de citros e maçã, assumimos a área de 20 acres, pois o volume máximo de calda recomendado nas bulas é maior que 10000 L/ha (produto Kelthane EC - citros e Kelthane 480 - maçã).

5.3.2.5 Absorção dérmica

Segundo o PHED (1998), o fator de absorção dérmica não deve ser aplicado quando a dose para o cálculo da MOE for derivada de um estudo toxicológico no qual o animal foi exposto pela via dérmica.

Como a MOE dérmica foi calculada utilizando-se o NOAEL proveniente do estudo subcrônico dérmico em cães, o fator de absorção não foi aplicado.

Utilizando-se as equações descritas no item 4.3.2 na página 29 e as variáveis listadas no item 5.3.2 nas páginas 103 a 105, as estimativas de exposição dérmica e inalatória nos cenários de exposição ocupacional foram calculadas. Com o objetivo de facilitar a visualização dos dados, as estimativas de exposição foram apresentadas juntamente com os cálculos das margens de exposição, nas Tabelas 8, 9 e 10 no item “5.4.2. Caracterização do risco ocupacional”, nas páginas 116 a 124.

5.4 CARACTERIZAÇÃO DO RISCO

5.4.1 Caracterização do Risco Dietético

A caracterização do risco à saúde da população pela exposição crônica aos resíduos de dicofol pelo consumo de alimentos foi feita comparando-se a estimativa de ingestão dietética com a IDA.

Na Tabela 6 estão os cálculos da ingestão diária de dicofol considerando o LMR e seu impacto na IDA.

Na Tabela 7 estão os cálculos da ingestão diária de dicofol considerando os resíduos médios do PARA 2009-2011 e seu impacto na IDA.

Tabela 6 - Cálculo da ingestão diária de dicofol considerando o LMR e seu impacto na IDA (em porcentagem)

UF/Culturas	Peso Corpóreo (g) ^(a)	Quantidade Consumida/dia (g) ^(b)	Quantidade Consumida(g)/peso corpóreo (g) ^(c)	LMR (mg/kg) ^(d)	Ingestão Diária de dicofol (mg/kg/dia) ^(e)	% da IDA ^(f)
AC						
Citros	61301	37,884000000	0,000618000	5	0,003089999	257,50%
Maçã		7,735238000	0,000126185	5	0,000630923	52,58%
AC Total		45,619238000	0,000744184		0,003720921	310,08%
AL						
Citros	62273	26,877890000	0,000431614	5	0,002158069	179,84%
Maçã		6,461511000	0,000103761	5	0,000518805	43,23%
AL Total		33,339401000	0,000535375		0,002676874	223,07%
AM						
Citros	62039	27,362720000	0,000441057	5	0,002205284	183,77%
Maçã		6,973776000	0,000112410	5	0,000562048	46,84%
AM Total		34,336496000	0,000553466		0,002767332	230,61%
AP						
Citros	62886	27,764450000	0,000441504	5	0,002207522	183,96%
Maçã		6,622059000	0,000105303	5	0,000526513	43,88%
AP Total		34,386509000	0,000546807		0,002734035	227,84%

Continua na próxima página...

Continuação da Tabela 6

UF/Culturas	Peso Corpóreo (g) ^(a)	Quantidade Consumida/dia (g) ^(b)	Quantidade Consumida(g)/peso corpóreo (g) ^(c)	LMR (mg/kg) ^(d)	Ingestão Diária de dicofol (mg/kg/dia) ^(e)	% da IDA ^(f)
BA						
Citros	62509	36,782970000	0,000588443	5	0,002942214	245,18%
Maçã		8,071823000	0,000129131	5	0,000645653	53,80%
BA Total		44,854793000	0,000717573		0,003587867	298,99%
CE						
Citros	61564	26,224370000	0,000425969	5	0,002129847	177,49%
Maçã		5,752827000	0,000093445	5	0,000467223	38,94%
CE Total		31,977197000	0,000519414		0,002597070	216,42%
DF						
Citros	65294	45,744340000	0,000700590	5	0,003502951	291,91%
Maçã		23,276310000	0,000356485	5	0,001782423	148,54%
DF Total		69,020650000	0,001057075		0,005285374	440,45%
ES						
Citros	65664	51,736560000	0,000787898		0,003939492	328,29%
Maçã		12,350420000	0,000188085	5	0,000940425	78,37%
ES Total		64,086980000	0,000975983	5	0,004879917	406,66%
GO						
Citros	65630	47,162910000	0,000718618	5	0,003593091	299,42%
Maçã		9,857963000	0,000150205	5	0,000751026	62,59%
GO Total		57,020873000	0,000868823		0,004344117	362,01%
MA						
Citros	59199	26,333720000	0,000444834	5	0,002224169	185,35%
Maçã		3,777023000	0,000063802	5	0,000319011	26,58%
MA Total		30,110743000	0,000508636		0,002543180	211,93%
MG						
Citros	64987	61,060070000	0,000939574	5	0,004697868	391,49%
Maçã		14,010880000	0,000215595	5	0,001077976	89,83%
MG Total		75,070950000	0,001155169		0,005775844	481,32%
MS						
Citros	67377	60,734460000	0,000901412	5	0,004507061	375,59%
Maçã		10,801970000	0,000160321	5	0,000801607	66,80%
MS Total		71,536430000	0,001061734		0,005308668	442,39%
MT						
Citros	66594	45,396080000	0,000681684	5	0,003408421	284,04%
Maçã		10,359400000	0,000155561	5	0,000777803	64,82%
MT Total		55,755480000	0,000837245		0,004186224	348,85%
PA						
Citros	60615	45,571980000	0,000751827	5	0,003759134	313,26%
Maçã		7,973158000	0,000131538	5	0,000657689	54,81%
PA Total		53,545138000	0,000883364		0,004416822	368,07%
PB						
Citros	62799	27,878890000	0,000443938	5	0,002219692	184,97%
Maçã		6,069136000	0,000096644	5	0,000483219	40,27%
PB Total		33,948026000	0,000540582		0,002702911	225,24%
PE						
Citros	64057	39,417670000	0,000615353	5	0,003076765	256,40%
Maçã		8,877551000	0,000138588	5	0,000692942	57,75%
PE Total		48,295221000	0,000753941		0,003769707	314,14%
PI						
Citros	59843	37,974990000	0,000634577	5	0,003172885	264,41%
Maçã		5,247490000	0,000087688	5	0,000438438	36,54%
PI Total		43,222480000	0,000722265		0,003611323	300,94%

Continua na próxima página...

Conclusão da Tabela 6

UF/Culturas	Peso Corpóreo (g) ^(a)	Quantidade Consumida/dia (g) ^(b)	Quantidade Consumida(g)/peso corpóreo (g) ^(c)	LMR (mg/kg) ^(d)	Ingestão Diária de dicofol (mg/kg/dia) ^(e)	% da IDA ^(f)
PR						
Citros	68053	64,069870000	0,000941470	5	0,004707351	392,28%
Maçã		17,447870000	0,000256386	5	0,001281932	106,83%
PR Total		81,517740000	0,001197857		0,005989283	499,11%
RJ						
Citros	68109	57,109080000	0,000838495	5	0,004192477	349,37%
Maçã		11,499700000	0,000168843	5	0,000844213	70,35%
RJ Total		68,608780000	0,001007338		0,005036689	419,72%
RN						
Citros	62996	34,199240000	0,000542880	5	0,002714398	226,20%
Maçã		8,397878000	0,000133308	5	0,000666541	55,55%
RN Total		42,597118000	0,000676188		0,003380938	281,74%
RO						
Citros	66406	71,742910000	0,001080368	5	0,005401840	450,15%
Maçã		9,728376000	0,000146498	5	0,000732492	61,04%
RO Total		81,471286000	0,001226866		0,006134332	511,19%
RR						
Citros	63534	11,966510000	0,000188348	5	0,000941741	78,48%
Maçã		6,299784000	0,000099156	5	0,000495781	41,32%
RR Total		18,266294000	0,000287504		0,001437521	119,79%
RS						
Citros	69681	94,396040000	0,001354688	5	0,006773442	564,45%
Maçã		16,201400000	0,000232508	5	0,001162541	96,88%
RS Total		110,597440000	0,001587197		0,007935983	661,33%
SC						
Citros	68655	82,715280000	0,001204796	5	0,006023981	502,00%
Maçã		24,255410000	0,000353294	5	0,001766471	147,21%
SC Total		106,970690000	0,001558090		0,007790452	649,20%
SE						
Citros	61677	54,296730000	0,000880340	5	0,004401700	366,81%
Maçã		9,094275000	0,000147450	5	0,000737250	61,44%
SE Total		63,391005000	0,001027790		0,005138950	428,25%
SP						
Citros	68247	61,230520000	0,000897190	5	0,004485949	373,83%
Maçã		13,110420000	0,000192103	5	0,000960513	80,04%
SP Total		74,340940000	0,001089292		0,005446462	453,87%
TO						
Citros	62102	53,977250000	0,000869171	5	0,004345854	362,15%
Maçã		7,217099000	0,000116214	5	0,000581068	48,42%
TO Total		61,194349000	0,000985384		0,004926922	410,58%
Brasil						
Citros	65587	53,632810000	0,000817735	5	0,004088677	340,72%
Maçã		11,705720000	0,000178476	5	0,000892381	74,37%
Brasil Total		65,338530000	0,000996212		0,004981058	415,09%

Nota: (a)(b)valores médios expandidos de peso corpóreo e consumo alimentar/dia da POF7; (d) Limite Máximo de Resíduos (LMR) = monografia D-14 (ANVISA, 2011b); (e) Ingestão Diária de dicofol (mg/kg p.c./dia) = (c)*(d); (f) % da IDA = ((e)/0,0012 mg/kg p.c./dia)*100

Tabela 7 - Cálculo da ingestão diária de dicofol considerando os resíduos médios do PARA 2009-2011 e seu impacto na IDA (em porcentagem)

UF/culturas	Peso Corpóreo (g) ^(a)	Quantidade Consumida/dia (g) ^(b)	Quantidade Consumida(g)/peso corpóreo (g) ^(c)	Resíduo médio - PARA (mg/kg) ^(d)	Ingestão Diária de dicofol (mg/kg/dia) ^(e)	% da IDA ^(f)
AC						
Citros	61301	37,884000000	0,000618000	0,030	0,0000185400	1,54500%
Maçã		7,735238000	0,000126185	0,030	0,0000037855	0,31546%
Pepino		0,032144310	0,000000524	0,001	0,0000000005	0,00004%
Pimentão		0,262124700	0,000004276	0,001	0,0000000043	0,00036%
AC Total					0,0000223303	1,86086%
AL						
Citros	62273	26,877890000	0,000431614	0,030	0,0000129484	1,07903%
Maçã		6,461511000	0,000103761	0,030	0,0000031128	0,25940%
Pepino		0,050393180	0,000000809	0,001	0,0000000008	0,00007%
Pimentão		0,075888810	0,000001219	0,001	0,0000000012	0,00010%
AL Total					0,0000160633	1,33861%
AM						
Citros	62039	27,362720000	0,000441057	0,030	0,0000132317	1,10264%
Maçã		6,973776000	0,000112410	0,030	0,0000033723	0,28102%
Pepino		0,031162500	0,000000502	0,001	0,0000000005	0,00004%
Pimentão		0,173992500	0,000002805	0,001	0,0000000028	0,00023%
AM Total					0,0000166073	1,38394%
AP						
Citros	62886	27,764450000	0,000441504	0,030	0,0000132451	1,10376%
Maçã		6,622059000	0,000105303	0,030	0,0000031591	0,26326%
Pepino		0,054721730	0,000000870	0,001	0,0000000009	0,00007%
Pimentão		0,025485590	0,000000405	0,001	0,0000000004	0,00003%
AP Total					0,0000164055	1,36712%
BA						
Citros	62509	36,782970000	0,000588443	0,030	0,0000176533	1,47111%
Maçã		8,071823000	0,000129131	0,030	0,0000038739	0,32283%
Pepino		0,177546700	0,000002840	0,001	0,0000000028	0,00024%
Pimentão		0,246270300	0,000003940	0,001	0,0000000039	0,00033%
BA Total					0,0000215340	1,79450%
CE						
Citros	61564	26,224370000	0,000425969	0,030	0,0000127791	1,06492%
Maçã		5,752827000	0,000093445	0,030	0,0000028033	0,23361%
Pepino		sem consumo	sem consumo	0,001	0,0000000000	0,00000%
Pimentão		0,258858900	0,000004205	0,001	0,0000000042	0,00035%
CE Total					0,000015587	1,29889%
DF						
Citros	65294	45,744340000	0,000700590	0,030	0,0000210177	1,75148%
Maçã		23,276310000	0,000356485	0,030	0,0000106945	0,89121%
Pepino		0,405589000	0,000006212	0,001	0,0000000062	0,00052%
Pimentão		0,237295000	0,000003634	0,001	0,0000000036	0,00030%
DF Total					0,0000317221	2,64351%
ES						
Citros	65664	51,736560000	0,000787898	0,030	0,0000236370	1,96975%
Maçã		12,350420000	0,000188085	0,030	0,0000056426	0,47021%
Pepino		0,639932200	0,000009746	0,001	0,0000000097	0,00081%
Pimentão		0,229430000	0,000003494	0,001	0,0000000035	0,00029%
ES Total					0,0000292927	2,44106%

Continua na próxima página...

Continuação da Tabela 7

UF/culturas	Peso Corpóreo (g) ^(a)	Quantidade Consumida/dia (g) ^(b)	Quantidade Consumida(g)/peso corpóreo (g) ^(c)	Resíduo médio - PARA (mg/kg) ^(d)	Ingestão Diária de dicofol (mg/kg/dia) ^(e)	% da IDA ^(f)
GO						
Citros	65630	47,162910000	0,000718618	0,030	0,0000215585	1,79655%
Maçã		9,857963000	0,000150205	0,030	0,0000045062	0,37551%
Pepino		0,262347300	0,000003997	0,001	0,0000000040	0,00033%
Pimentão		0,092230690	0,000001405	0,001	0,0000000014	0,00012%
GO Total					0,000026070	2,17251%
MA						
Citros	59199	26,333720000	0,000444834	0,030	0,0000133450	1,11208%
Maçã		3,777023000	0,000063802	0,030	0,0000019141	0,15951%
Pepino		0,048409450	0,000000818	0,001	0,0000000008	0,00007%
Pimentão		0,205714600	0,000003475	0,001	0,0000000035	0,00029%
MA Total					0,000015263	1,27195%
MG						
Citros	64987	61,060070000	0,000939574	0,030	0,0000281872	2,34893%
Maçã		14,010880000	0,000215595	0,030	0,0000064679	0,53899%
Pepino		0,171338400	0,000002637	0,001	0,0000000026	0,00022%
Pimentão		0,193392000	0,000002976	0,001	0,0000000030	0,00025%
MG Total					0,000034661	2,88839%
MS						
Citros	67377	60,734460000	0,000901412	0,030	0,0000270424	2,25353%
Maçã		10,801970000	0,000160321	0,030	0,0000048096	0,40080%
Pepino		0,545147200	0,000008091	0,001	0,0000000081	0,00067%
Pimentão		0,137715500	0,000002044	0,001	0,0000000020	0,00017%
MS Total					0,000031862	2,65518%
MT						
Citros	66594	45,396080000	0,000681684	0,030	0,0000204505	1,70421%
Maçã		10,359400000	0,000155561	0,030	0,0000046668	0,38890%
Pepino		0,464120000	0,000006969	0,001	0,0000000070	0,00058%
Pimentão		0,257893000	0,000003873	0,001	0,0000000039	0,00032%
MT Total					0,000025128	2,09402%
PA						
Citros	60615	45,571980000	0,000751827	0,030	0,0000225548	1,87957%
Maçã		7,973158000	0,000131538	0,030	0,0000039461	0,32884%
Pepino		0,109179900	0,000001801	0,001	0,0000000018	0,00015%
Pimentão		0,187424200	0,000003092	0,001	0,0000000031	0,00026%
PA Total					0,0000265058	2,20882%
PB						
Citros	62799	27,878890000	0,000443938	0,030	0,0000133182	1,10985%
Maçã		6,069136000	0,000096644	0,030	0,0000028993	0,24161%
Pepino		0,021438720	0,000000341	0,001	0,0000000003	0,00003%
Pimentão		0,335646900	0,000005345	0,001	0,0000000053	0,00045%
PB Total					0,000016223	1,35193%
PE						
Citros	64057	39,417670000	0,000615353	0,030	0,0000184606	1,53838%
Maçã		8,877551000	0,000138588	0,030	0,0000041576	0,34647%
Pepino		0,072821610	0,000001137	0,001	0,0000000011	0,00009%
Pimentão		0,385324200	0,000006015	0,001	0,0000000060	0,00050%
PE Total					0,0000226254	1,88545%

Continua na próxima página...

Continuação da Tabela 7

UF/culturas	Peso Corpóreo (g) ^(a)	Quantidade Consumida/dia (g) ^(b)	Quantidade Consumida(g)/peso corpóreo (g) ^(c)	Resíduo médio - PARA (mg/kg) ^(d)	Ingestão Diária de dicofol (mg/kg/dia) ^(e)	% da IDA ^(f)
PI						
Citros	59843	37,974990000	0,000634577	0,030	0,0000190373	1,58644%
Maçã		5,247490000	0,000087688	0,030	0,0000026306	0,21922%
Pepino		0,043542000	0,000000728	0,001	0,0000000007	0,00006%
Pimentão		0,292693900	0,000004891	0,001	0,0000000049	0,00041%
PI Total					0,0000216736	1,80613%
PR						
Citros	68053	64,069870000	0,000941470	0,030	0,0000282441	2,35368%
Maçã		17,447870000	0,000256386	0,030	0,0000076916	0,64097%
Pepino		1,042744000	0,000015323	0,001	0,0000000153	0,00128%
Pimentão		0,235420000	0,000003459	0,001	0,0000000035	0,00029%
PR Total					0,0000359545	2,99621%
RJ						
Citros	68109	57,109080000	0,000838495	0,030	0,0000251549	2,09624%
Maçã		11,499700000	0,000168843	0,030	0,0000050653	0,42211%
Pepino		0,127573300	0,000001873	0,001	0,0000000019	0,00016%
Pimentão		0,331248100	0,000004863	0,001	0,0000000049	0,00041%
RJ Total					0,0000302269	2,51891%
RN						
Citros	62996	34,199240000	0,000542880	0,030	0,0000162864	1,35720%
Maçã		8,397878000	0,000133308	0,030	0,0000039992	0,33327%
Pepino		0,033567890	0,000000533	0,001	0,0000000005	0,00004%
Pimentão		0,433680500	0,000006884	0,001	0,0000000069	0,00057%
RN Total					0,0000202930	1,69109%
RO						
Citros	66406	71,742910000	0,001080368	0,030	0,0000324110	2,70092%
Maçã		9,728376000	0,000146498	0,030	0,0000043950	0,36625%
Pepino		0,571343800	0,000008604	0,001	0,0000000086	0,00072%
Pimentão		0,406584100	0,000006123	0,001	0,0000000061	0,00051%
RO Total					0,0000368207	3,06839%
RR						
Citros	63534	11,966510000	0,000188348	0,030	0,0000056504	0,47087%
Maçã		6,299784000	0,000099156	0,030	0,0000029747	0,24789%
Pepino		0,169249100	0,000002664	0,001	0,0000000027	0,00022%
Pimentão		0,031677830	0,000000499	0,001	0,0000000005	0,00004%
RR Total					0,0000086283	0,71902%
RS						
Citros	69681	94,396040000	0,001354688	0,030	0,0000406407	3,38672%
Maçã		16,201400000	0,000232508	0,030	0,0000069752	0,58127%
Pepino		3,764843000	0,000054030	0,001	0,0000000540	0,00450%
Pimentão		0,444704100	0,000006382	0,001	0,0000000064	0,00053%
RS Total					0,0000476763	3,97303%
SC						
Citros	68655	82,715280000	0,001204796	0,030	0,0000361439	3,01199%
Maçã		24,255410000	0,000353294	0,030	0,0000105988	0,88324%
Pepino		3,295151000	0,000047996	0,001	0,0000000480	0,00400%
Pimentão		0,318415000	0,000004638	0,001	0,0000000046	0,00039%
SC Total					0,0000467953	3,89961%

Continua na próxima página...

Conclusão da Tabela 7

UF/culturas	Peso Corpóreo (g) ^(a)	Quantidade Consumida/dia (g) ^(b)	Quantidade Consumida(g)/peso corpóreo (g) ^(c)	Resíduo médio - PARA (mg/kg) ^(d)	Ingestão Diária de dicofol (mg/kg/dia) ^(e)	% da IDA ^(f)
SE						
Citros	61677	54,296730000	0,000880340	0,030	0,0000264102	2,20085%
Maçã		9,094275000	0,000147450	0,030	0,0000044235	0,36863%
Pepino		0,061131020	0,000000991	0,001	0,0000000010	0,00008%
Pimentão		0,353384500	0,000005730	0,001	0,0000000057	0,00048%
SE Total					0,0000308404	2,57003%
SP						
Citros	68247	61,230520000	0,000897190	0,030	0,0000269157	2,24297%
Maçã		13,110420000	0,000192103	0,030	0,0000057631	0,48026%
Pepino		0,330058200	0,000004836	0,001	0,0000000048	0,00040%
Pimentão		0,267555100	0,000003920	0,001	0,0000000039	0,00033%
SP Total					0,0000326875	2,72396%
TO						
Citros	62102	53,977250000	0,000869171	0,030	0,0000260751	2,17293%
Maçã		7,217099000	0,000116214	0,030	0,0000034864	0,29053%
Pepino		0,227135600	0,000003657	0,001	0,0000000037	0,00030%
Pimentão		0,140654200	0,000002265	0,001	0,0000000023	0,00019%
TO Total					0,0000295675	2,46395%
Brasil						
Citros	65587	53,632810000	0,000817735	0,030	0,0000245321	2,04434%
Maçã		11,705720000	0,000178476	0,030	0,0000053543	0,44619%
Pepino		0,560580000	0,000008547	0,001	0,0000000085	0,00071%
Pimentão		0,265194600	0,000004043	0,001	0,0000000040	0,00034%
Brasil Total					0,0000298989	2,49158%

Nota: (a)(b)valores médios expandidos de peso corpóreo e consumo alimentar/dia da POF7; (d) Resíduos médios nas amostras do PARA 2009-2011; (e) Ingestão Diária de dicofol (mg/kg p.c./dia) = (c)*(d); (f) % da IDA = ((e)/0,0012 mg/kg p.c./dia)*100

Conforme pode ser observado na Tabela 6, quando calculamos a ingestão diária de dicofol considerando os LMRs, todos os cenários de exposição dietética foram inaceitáveis (impacto na IDA entre 120 e 660%).

Segundo Caldas e Souza (2004), o uso do valor de LMR como parâmetro da concentração dos resíduos de agrotóxicos no cálculo da sua ingestão é uma abordagem conservadora, pois assume a ocorrência de situações improváveis de ocorrerem sempre, como por exemplo, o consumo de todos os alimentos contendo o agrotóxico no seu LMR diariamente durante toda a vida; 100% do consumo diário de alimentos provenientes de culturas tratadas; 100% das culturas tratadas contendo o agrotóxico no seu LMR; a não ocorrência de dissipação ou degradação do agrotóxico durante a armazenagem, transporte, preparo, processamento comercial e cozimento; e a presença de todos os resíduos na porção comestível. Assim, o refinamento do cálculo da ingestão de resíduos com dados mais realísticos fornece uma melhor avaliação dos riscos aos consumidores.

Com o refinamento do cálculo da ingestão diária de dicofol substituindo o LMR pelos resíduos médios detectados no PARA 2009-2011 (Tabela 7), o impacto na IDA de 0,0012 mg/kg p.c./dia proposta neste trabalho foi abaixo de 4%.

Porém, é importante lembrar que existem incertezas associadas às estimativas de ingestão, por exemplo, os métodos analíticos normalmente utilizados em estudos supervisionados de campo e de monitoramento apenas pesquisam os isômeros o,p'-dicofol e p,p'-dicofol, os principais resíduos identificados nos estudos de metabolismo em plantas. Porém, ambos os isômeros são facilmente hidrolisados em água, em temperatura ambiente e pH básico, sendo o principal produto de degradação a DCBP. Devido à instabilidade química do dicofol em solução, bem como aos métodos cromatográficos usados para identificação e quantificação dos isômeros de dicofol, a EFSA sugeriu que a definição de resíduo em plantas deveria ser a soma de o,p'-dicofol; p,p'-dicofol e os resíduos correspondentes de DCBP, expresso como dicofol (EFSA, 2011).

Em produtos processados, os resíduos de dicofol também foram instáveis durante pasteurização, cozimento, preparação e esterilização e ambos os isômeros de dicofol também foram facilmente hidrolizados. O principal produto de degradação também foi a DCBP, mas a formação de clorofórmio sob condições de ebulição e esterilização não pode ser excluída (EFSA, 2011).

A importância de se quantificar DCBP também foi confirmada com os dados de Thiel *et al.* (2011). Os resultados indicam que a degradação do dicofol a DCBP ocorre principalmente por meio de processos abióticos, sob condições alcalinas e sob irradiação por luz UV, via eliminação de um ânion triclorometil catalisada pelo íon hidróxido; o ânion gerado recebe um próton do solvente, gerando clorofórmio (Figura 6).

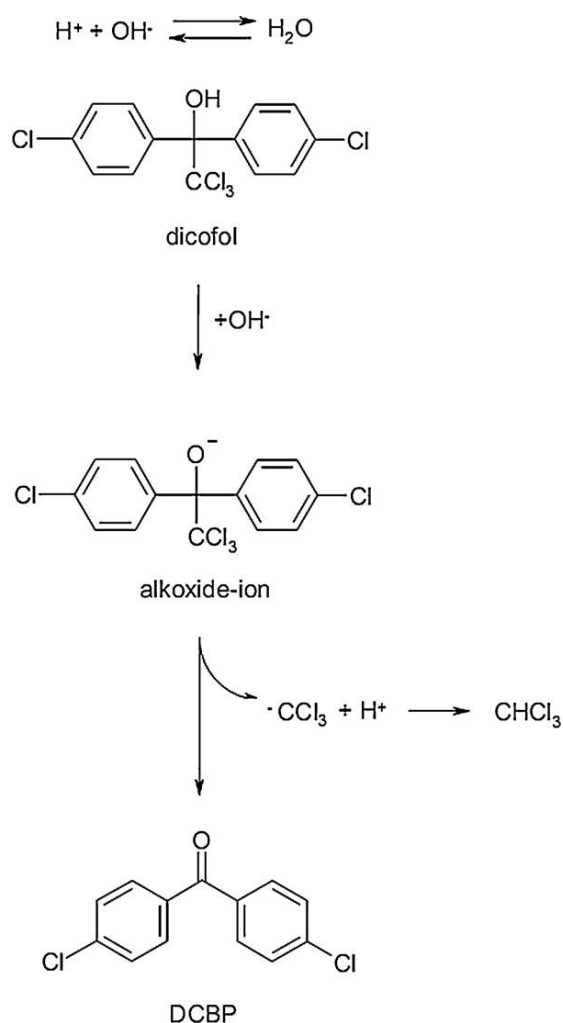


Figura 6 - Proposta da via de degradação do dicofol. Fonte: Thiel *et al.*, 2011.

Como a degradação do dicofol ocorreu mais rapidamente e em maior extensão em solventes apolares do que polares, os autores inferiram que o dicofol, quando adsorvido na superfície da cera das frutas ou folhas, poderia sofrer degradação induzida pela luz, gerando DCBP. Os autores também identificaram que DCBP tem potente ação anti-androgênica em sistemas *in vitro* (THIEL *et al.*, 2011).

Outra fonte de incerteza que poderia subestimar os riscos é que resíduos em água não foram considerados no cálculo da ingestão de dicofol, devido à não disponibilidade de limites de resíduos ou dados de monitoramento.

Com relação aos produtos de origem animal, assumimos que resíduos de dicofol não seriam encontrados nesse tipo de produto, pois no Brasil o seu uso é autorizado para culturas que não são normalmente consumidas por animais de criação.

5.4.2 Caracterização do Risco Ocupacional

A caracterização do risco ocupacional foi feita por meio do cálculo da Margem de Exposição Agregada (MOE_T), com base nos valores de NOAEL descritos na Seção 5.2.2.2 e nas estimativas de Exposição Diária Dérmica e Inalatória calculadas para os diferentes cenários de exposição (Tabelas 8, 9 e 10).

Os resultados das tabelas estão organizados partindo-se do pior cenário de exposição, ou seja, a aplicação costal e seguindo para cenários de menor exposição, com o uso de equipamentos de aplicação de cabine aberta ou fechada.

Tabela 8 - Valores da Margem de Exposição (MOE) nos diferentes cenários de exposição ocupacional para a cultura do algodão

Cenários	Subcenários	Unidade de exposição dérmica(a)	Unidade de Exposição Inalatória(a)	Dose máxima de aplicação (b)	Área diária tratada (c)	p.c. (a)	EDD (d)	EDI (e)	NOAEL dérmico (f)	MOE dérmica(g)	NOAEL inalatório (h)	MOE inalatória (i)	MOE total (j)
(1) aplicação com pulverização costal (cenário 20 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	680,00000	0,33000	0,6590	5	70	32,00857	0,01553	3,000	0,09372	0,290	18,66924	0,09326
	Com vestimenta de proteção, sem luvas(k)	482,78000					22,72514			0,13201			0,13109
	Com vestimenta de proteção e luvas(k)	234,38000					11,03260			0,27192			0,26802
(2) misturador/aba stecedor de líquidos (cenário 3 do PHED) para aplicação com barra de pulverização	Sem vestimenta de proteção	3,10000	0,00120	0,6590	200	70	5,83686	0,00226	3,000	0,51398	0,290	128,35104	0,51193
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	2,90000					5,46029			0,54942			0,54708
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,02300					0,04331			69,27492			44,99160
(3) misturador/aba stecedor de líquidos/aplicador com barra de pulverização com cabine aberta (cenário 28 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	0,88000	0,00130	0,6590	200	70	1,65691	0,00245	3,000	1,81059	0,290	118,47788	1,78334
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	0,37000					0,69666			4,30628			4,15525
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,05700					0,10732			27,95304			22,61692
(4) aplicação com barra de pulverização, cabine aberta (cenário 13 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	0,04600	0,00074	0,6590	200	70	0,08661	0,00139	3,000	34,63746	0,290	208,13682	34,64227
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	0,01400					0,02636			113,80880			73,57703
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,01400					0,02636			113,80880			73,57703

Continua na próxima página...

Continuação da Tabela 8

Cenários	Subcenários	Unidade de exposição dérmica(a)	Unidade de Exposição Inalatória(a)	Dose máxima de aplicação (b)	Área diária tratada (c)	p.c. (a)	EDD (d)	EDI (e)	NOAEL dérmico (f)	MOE dérmica(g)	NOAEL inalatório (h)	MOE inalatória (i)	MOE total (j)
(5) aplicação com barra de pulverização, cabine fechada (cenário 14 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	0,01000	0,00004	0,6590	200	70	0,01883	0,00008	3,000	159,33232	0,290	3581,88940	152,54663
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	0,00500					0,00941			318,66464			292,63061
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,00510					0,00960			312,41632			287,35307
(6) misturador/abastecedor de líquidos (cenário 3 do PHED) para aplicação com turbo atomizador	Sem vestimenta de proteção	3,10000	0,00120	0,6590	40	70	1,16737	0,00045	3,000	2,56988	0,290	641,75518	2,55963
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	2,90000					1,09206			2,74711			2,73540
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,02300					0,00866			346,37461			224,95800
(7) aplicação por turbo atomizador, cabine aberta (cenário 11 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	2,20000	0,00450	0,6590	40	70	0,82846	0,00169	3,000	3,62119	0,290	171,13472	3,54615
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	0,36000					0,13557			22,12949			19,59558
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,24000					0,09038			33,19423			27,80167
(8) aplicação por turbo atomizador, cabine fechada (cenário 12 do PHED)	Sem vestimenta de proteção(l)	0,17818	0,00045	0,6590	40	70	0,06710	0,00017	3,000	44,71106	0,290	1711,34716	43,57267
	Com vestimenta de proteção, sem luvas(l)	0,13504					0,05085			58,99449			57,02857
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,01900					0,00715			419,29558			336,78115

(a) Unidade de exposição dérmica (mg/libra i.a.); Unidade de exposição inalatória (mg/libra i.a.); peso corpóreo (p.c. em kg). Fonte: PHED (1998)

(b) Dose máxima recomendada na bula dos produtos formulados(libra i.a./Acre). Fonte: MAPA(2012)

(c) Área diária tratada (Acre/dia): para aplicação costal (Fonte: EPA, 1998); para as demais aplicações (Fonte: Science Advisory Council for Exposure, 2001)

(d) Exposição Diária Dérmica (EDD)(mg ia/kg p.c./dia)= (unidade de exposição dérmica x dose máxima de aplicação x área máxima tratada)/peso corpóreo

(e) Exposição Diária Inalatória (EDI)(mg ia/kg p.c./dia)= (unidade de exposição inalatória x dose máxima de aplicação x área máxima tratada x fator de absorção de 100%)/peso corpóreo

(f) NOAEL dérmico = 3 mg/kg p.c./dia do estudo de 90 dias via dérmica em cães

(g) MOE dérmica = NOAEL dérmico/EDD

(h) NOAEL inalatório = 0,29 mg/kg p.c./dia do estudo de 90 dias via oral em cães

(i) MOE inalatória = NOAEL inalatório/EDI

(j) MOE total = $1/((1/\text{MOE dérmico}) + (1/\text{MOE inalatório}))$

(k) PHED (1998) - no cenário 20 (Aplicação costal) a unidade de exposição dérmica para a variável (1) "Braço e Antebraço, Peito, Costas, Coxas e Pernas" não estava disponível para os subcenários "Com vestimenta de proteção sem luvas" e "Com vestimenta de proteção, com luvas". Para este último subcenário a variável (2) para as "mãos com luvas" também não estava disponível. Por isto, foi feita uma extrapolação para estas variáveis. Segundo o PHED, o uso de uma camada de vestimenta confere 50% de proteção na exposição, por isto, a variável (1) do subcenário "Sem vestimentas" de 394 mg/lb i.a. foi multiplicada por 0,5, resultando na unidade de exposição de 197 mg/lb i.a. para o uso de uma camada de vestimentas. Segundo o PHED, o uso de luvas confere proteção de 90% na exposição das mãos. Assim, a unidade de exposição das "mãos sem luvas" (276 mg/lb i.a.) foi multiplicada por 0,1, resultando na unidade de exposição para as "mãos com luvas" de 27,6 mg/lb i.a. Assim, foi possível obter a unidade de exposição dérmica total de 482,78 mg/lb i.a. para o subcenário "Com vestimenta sem luvas"; e 234,38 mg/lb i.a. para o subcenário "Com vestimenta de proteção com luvas".

(l) PHED (1998) - no cenário 12 (Aplicação "airblast" com cabine fechada) a unidade de exposição dérmica para as "mãos sem luvas" não estava disponível para os subcenários "Sem vestimenta de proteção" e "Com vestimenta de proteção, sem luvas". Por isto, foi feita uma extrapolação para esta variável. Segundo o PHED, o uso de luvas confere proteção de 90% na exposição das mãos. Assim, a unidade de exposição das "mãos com luvas" (0,0129 mg/lb i.a.) foi dividida por 0,1, resultando na unidade de exposição para as "mãos sem luvas" de 0,129 mg/lb i.a. Assim, foi possível obter a unidade de exposição dérmica total de 0,178 mg/lb i.a. para o subcenário "Sem vestimenta"; e 0,135 mg/lb i.a. para o subcenário "Com vestimenta de proteção sem luvas".

Tabela 9 - Valores da Margem de Exposição (MOE) nos diferentes cenários de exposição ocupacional para a cultura de citros

Cenários	Subcenários	Unidade de exposição dérmica(a)	Unidade de Exposição Inalatória(a)	Dose máxima de aplicação (b)	Área diária tratada (c)	p.c. (a)	EDD (d)	EDI (e)	NOAEL dérmico (f)	MOE dérmica(g)	NOAEL inalatório (h)	MOE inalatória (i)	MOE total (j)
(1) aplicação com pulverização costal (cenário 20 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	680,00000	0,33000	4,5730	5	70	222,11714	0,10779	3,000	0,01351	0,290	2,69036	0,01344
	Com vestimenta de proteção, sem luvas(k)	482,78000					157,69664			0,01902			0,01889
	Com vestimenta de proteção e luvas(k)	234,38000					76,55855			0,03919			0,03862
(2) misturador/abastecedor de líquidos (cenário 3 do PHED) para aplicação com barra de pulverização	Sem vestimenta de proteção	3,10000	0,00120	4,5730	200	70	40,50371	0,01568	3,000	0,07407	0,290	18,49625	0,07377
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	2,90000					37,89057			0,07918			0,07884
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,02300					0,30051			9,98298			6,48359
(3) misturador/abastecedor de líquidos/aplicador com barra de pulverização com cabine aberta (cenário 28 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	0,88000	0,00130	4,5730	200	70	11,49783	0,01699	3,000	0,26092	0,290	17,07346	0,25699
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	0,37000					4,83431			0,62056			0,59880
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,05700					0,74475			4,02822			3,25925
(4) aplicação com barra de pulverização, cabine aberta (cenário 13 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	0,04600	0,00074	4,5730	200	70	0,60102	0,00967	3,000	4,99149	0,290	29,99391	5,02483
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	0,01400					0,18292			16,40061			10,60294
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,01400					0,18292			16,40061			10,60294

Continua na próxima página...

Continuação da Tabela 9

Cenários	Subcenários	Unidade de exposição dérmica(a)	Unidade de Exposição Inalatória(a)	Dose máxima de aplicação (b)	Área diária tratada (c)	p.c. (a)	EDD (d)	EDI (e)	NOAEL dérmico (f)	MOE dérmica(g)	NOAEL inalatório (h)	MOE inalatória (i)	MOE total (j)
(5) aplicação com barra de pulverização, cabine fechada (cenário 14 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	0,01000	0,00004	4,5730	200	70	0,13066	0,00056	3,000	22,96086	0,290	516,17431	21,98299
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	0,00500					0,06533			45,92171			42,17004
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,00510					0,06664			45,02129			41,40951
(6) misturador/abastecedor de líquidos (cenário 3 do PHED) para aplicação com turbo atomizador	Sem vestimenta de proteção	3,10000	0,00120	4,5730	20	70	4,05037	0,00157	3,000	0,74067	0,290	184,96246	0,73772
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	2,90000					3,78906			0,79175			0,78838
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,02300					0,03005			99,82981			64,83592
(7) aplicação por turbo atomizador, cabine aberta (cenário 11 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	2,20000	0,00450	4,5730	20	70	2,87446	0,00588	3,000	1,04368	0,290	49,32332	1,02205
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	0,36000					0,47037			6,37802			5,64771
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,24000					0,31358			9,56702			8,01281
(8) aplicação por turbo atomizador, cabine fechada (cenário 12 do PHED)	Sem vestimenta de proteção(l)	0,17818	0,00045	4,5730	20	70	0,23280	0,00059	3,000	12,88633	0,290	493,23323	12,55823
	Com vestimenta de proteção, sem luvas(l)	0,13504					0,17644			17,00300			16,43640
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,01900					0,02482			120,84662			97,06485

(a) Unidade de exposição dérmica (mg/libra i.a.); Unidade de exposição inalatória (mg/libra i.a.); peso corpóreo (p.c. em kg). Fonte: PHED (1998)

(b) Dose máxima recomendada na bula dos produtos formulados(libra i.a./Acre). Fonte: MAPA(2012)

(c) Área diária tratada (Acres/dia): para aplicação costal (Fonte: EPA, 1998); para as demais aplicações (Fonte: Science Advisory Council for Exposure, 2001)

(d) Exposição Diária Dérmica (EDD)(mg ia/kg p.c./dia)= (unidade de exposição dérmica x dose máxima de aplicação x área máxima tratada)/peso corpóreo

(e) Exposição Diária Inalatória (EDI)(mg ia/kg p.c./dia)= (unidade de exposição inalatória x dose máxima de aplicação x área máxima tratada x fator de absorção de 100%)/peso corpóreo

(f) NOAEL dérmico = 3 mg/kg p.c./dia do estudo de 90 dias via dérmica em cães

(g) MOE dérmica = NOAEL dérmico/EDD

(h) NOAEL inalatório = 0,29 mg/kg p.c./dia do estudo de 90 dias via oral em cães

(i) MOE inalatória = NOAEL inalatório/EDI

(j) MOE total = $1/((1/\text{MOE dérmico}) + (1/\text{MOE inalatório}))$

(k) PHED (1998) - no cenário 20 (Aplicação costal) a unidade de exposição dérmica para a variável (1) "Braço e Antebraço, Peito, Costas, Coxas e Pernas" não estava disponível para os subcenários "Com vestimenta de proteção sem luvas" e "Com vestimenta de proteção, com luvas". Para este último subcenário a variável (2) para as "mãos com luvas" também não estava disponível. Por isto, foi feita uma extrapolação para estas variáveis. Segundo o PHED, o uso de uma camada de vestimenta confere 50% de proteção na exposição, por isto, a variável (1) do subcenário "Sem vestimentas" de 394 mg/lb i.a. foi multiplicada por 0,5, resultando na unidade de exposição de 197 mg/lb i.a. para o uso de uma camada de vestimentas. Segundo o PHED, o uso de luvas confere proteção de 90% na exposição das mãos. Assim, a unidade de exposição das "mãos sem luvas" (276 mg/lb i.a.) foi multiplicada por 0,1, resultando na unidade de exposição para as "mãos com luvas" de 27,6 mg/lb i.a. Assim, foi possível obter a unidade de exposição dérmica total de 482,78 mg/lb i.a. para o subcenário "Com vestimenta sem luvas"; e 234,38 mg/lb i.a. para o subcenário "Com vestimenta de proteção com luvas".

(l) PHED (1998) - no cenário 12 (Aplicação "airblast" com cabine fechada) a unidade de exposição dérmica para as "mãos sem luvas" não estava disponível para os subcenários "Sem vestimenta de proteção" e "Com vestimenta de proteção, sem luvas". Por isto, foi feita uma extrapolação para esta variável. Segundo o PHED, o uso de luvas confere proteção de 90% na exposição das mãos. Assim, a unidade de exposição das "mãos com luvas" (0,0129 mg/lb i.a.) foi dividida por 0,1, resultando na unidade de exposição para as "mãos sem luvas" de 0,129 mg/lb i.a. Assim, foi possível obter a unidade de exposição dérmica total de 0,178 mg/lb i.a. para o subcenário "Sem vestimenta"; e 0,135 mg/lb i.a. para o subcenário "Com vestimenta de proteção sem luvas".

Tabela 10 - Valores da Margem de Exposição (MOE) nos diferentes cenários de exposição ocupacional para a cultura de maçã

Cenários	Subcenários	Unidade de exposição dérmica(a)	Unidade de Exposição Inalatória(a)	Dose máxima de aplicação (b)	Área diária tratada (c)	p.c. (a)	EDD (d)	EDI (e)	NOAEL dérmico (f)	MOE dérmica(g)	NOAEL inalatório (h)	MOE inalatória (i)	MOE total (j)
(1) aplicação com pulverização costal (cenário 20 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	680,00000	0,33000	8,2340	5	70	399,93714	0,19409	3,000	0,00750	0,290	1,49417	0,00746
	Com vestimenta de proteção, sem luvas(k)	482,78000					283,94361			0,01057			0,01049
	Com vestimenta de proteção e luvas(k)	234,38000					137,84892			0,02176			0,02145
(2) misturador/abastecedor de líquidos (cenário 3 do PHED) para aplicação com barra de pulverização	Sem vestimenta de proteção	3,10000	0,00120	8,2340	200	70	72,92971	0,02823	3,000	0,04114	0,290	10,27245	0,04097
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	2,90000					68,22457			0,04397			0,04379
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,02300					0,54109			5,54435			3,60086
(3) misturador/abastecedor de líquidos/aplicador com barra de pulverização com cabine aberta (cenário 28 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	0,88000	0,00130	8,2340	200	70	20,70263	0,03058	3,000	0,14491	0,290	9,48226	0,14273
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	0,37000					8,70451			0,34465			0,33256
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,05700					1,34097			2,23719			1,81012
(4) aplicação com barra de pulverização, cabine aberta (cenário 13 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	0,04600	0,00074	8,2340	200	70	1,08218	0,01741	3,000	2,77217	0,290	16,65802	2,83221
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	0,01400					0,32936			9,10857			5,88866
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,01400					0,32936			9,10857			5,88866

Continua na próxima página...

Continuação da Tabela 10

Cenários	Subcenários	Unidade de exposição dérmica(a)	Unidade de Exposição Inalatória(a)	Dose máxima de aplicação (b)	Área diária tratada (c)	p.c. (a)	EDD (d)	EDI (e)	NOAEL dérmico (f)	MOE dérmica(g)	NOAEL inalatório (h)	MOE inalatória (i)	MOE total (j)
(5) aplicação com barra de pulverização, cabine fechada (cenário 14 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	0,01000	0,00004	8,2340	200	70	0,23526	0,00101	3,000	12,75200	0,290	286,67296	12,20892
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	0,00500					0,11763			25,50401			23,42040
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,00510					0,11998			25,00393			22,99802
(6) misturador/abastecedor de líquidos (cenário 3 do PHED) para aplicação com turbo atomizador	Sem vestimenta de proteção	3,10000	0,00120	8,2340	20	70	7,29297	0,00282	3,000	0,41135	0,290	102,72448	0,40971
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	2,90000					6,82246			0,43972			0,43785
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,02300					0,05411			55,44350			36,00858
(7) aplicação por turbo atomizador, cabine aberta (cenário 11 do PHED)	Sem vestimenta de proteção	2,20000	0,00450	8,2340	20	70	5,17566	0,01059	3,000	0,57964	0,290	27,39319	0,56763
	Com vestimenta de proteção, sem luvas	0,36000					0,84693			3,54222			3,13663
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,24000					0,56462			5,31333			4,45016
(8) aplicação por turbo atomizador, cabine fechada (cenário 12 do PHED)	Sem vestimenta de proteção(l)	0,17818	0,00045	8,2340	20	70	0,41918	0,00106	3,000	7,15681	0,290	273,93194	6,97459
	Com vestimenta de proteção, sem luvas(l)	0,13504					0,31769			9,44313			9,12845
	Com vestimenta de proteção e luvas	0,01900					0,04470			67,11581			53,90789

(a) Unidade de exposição dérmica (mg/libra i.a.); Unidade de exposição inalatória (mg/libra i.a.); peso corpóreo (p.c. em kg). Fonte: PHED (1998)

(b) Dose máxima recomendada na bula dos produtos formulados(libra i.a./Acre). Fonte: MAPA(2012)

(c) Área diária tratada (Acre/dia): para aplicação costal (Fonte: EPA, 1998); para as demais aplicações (Fonte: Science Advisory Council for Exposure, 2001)

(d) Exposição Diária Dérmica (EDD)(mg ia/kg p.c./dia)= (unidade de exposição dérmica x dose máxima de aplicação x área máxima tratada)/peso corpóreo

(e) Exposição Diária Inalatória (EDI)(mg ia/kg p.c./dia)= (unidade de exposição inalatória x dose máxima de aplicação x área máxima tratada x fator de absorção de 100%)/peso corpóreo

(f) NOAEL dérmico = 3 mg/kg p.c./dia do estudo de 90 dias via dérmica em cães

(g) MOE dérmica = NOAEL dérmico/EDD

(h) NOAEL inalatório = 0,29 mg/kg p.c./dia do estudo de 90 dias via oral em cães

(i) MOE inalatória = NOAEL inalatório/EDI

(j) MOE total = $1/((1/\text{MOE dérmico}) + (1/\text{MOE inalatório}))$

(k) PHED (1998) - no cenário 20 (Aplicação costal) a unidade de exposição dérmica para a variável (1) "Braço e Antebraço, Peito, Costas, Coxas e Pernas" não estava disponível para os subcenários "Com vestimenta de proteção sem luvas" e "Com vestimenta de proteção, com luvas". Para este último subcenário a variável (2) para as "mãos com luvas" também não estava disponível. Por isto, foi feita uma extrapolação para estas variáveis. Segundo o PHED, o uso de uma camada de vestimenta confere 50% de proteção na exposição, por isto, a variável (1) do subcenário "Sem vestimentas" de 394 mg/lb i.a. foi multiplicada por 0,5, resultando na unidade de exposição de 197 mg/lb i.a. para o uso de uma camada de vestimentas. Segundo o PHED, o uso de luvas confere proteção de 90% na exposição das mãos. Assim, a unidade de exposição das "mãos sem luvas" (276 mg/lb i.a.) foi multiplicada por 0,1, resultando na unidade de exposição para as "mãos com luvas" de 27,6 mg/lb i.a. Assim, foi possível obter a unidade de exposição dérmica total de 482,78 mg/lb i.a. para o subcenário "Com vestimenta sem luvas"; e 234,38 mg/lb i.a. para o subcenário "Com vestimenta de proteção com luvas".

(l) PHED (1998) - no cenário 12 (Aplicação "airblast" com cabine fechada) a unidade de exposição dérmica para as "mãos sem luvas" não estava disponível para os subcenários "Sem vestimenta de proteção" e "Com vestimenta de proteção, sem luvas". Por isto, foi feita uma extrapolação para esta variável. Segundo o PHED, o uso de luvas confere proteção de 90% na exposição das mãos. Assim, a unidade de exposição das "mãos com luvas" (0,0129 mg/lb i.a.) foi dividida por 0,1, resultando na unidade de exposição para as "mãos sem luvas" de 0,129 mg/lb i.a. Assim, foi possível obter a unidade de exposição dérmica total de 0,178 mg/lb i.a. para o subcenário "Sem vestimenta"; e 0,135 mg/lb i.a. para o subcenário "Com vestimenta de proteção sem luvas".

Observando-se a Tabela 8 com os resultados das Margens de Exposição Agregada Total (MOE_T) nos cenários ocupacionais para o tratamento da cultura do algodão, verificamos que os riscos foram inaceitáveis para quase todos os potenciais cenários de exposição ($MOE_T < 100$), exceto para o cenário onde se considera a aplicação com barra de pulverização com cabine fechada (item 5) (MOE_T entre 152 e 293); para o cenário onde se considera misturar/abastecer (para aplicação com turbo atomizador) (item 6) com o uso de vestimenta de proteção e luvas (MOE_T de 225); e para o cenário onde se considera a aplicação com turbo atomizador com cabine fechada (item 8), com o uso de todos os EPIs (MOE_T de 337).

Observando-se a Tabela 9 com os resultados das Margens de Exposição Agregada Total (MOE_T) nos cenários ocupacionais para o tratamento de citros, todos os cenários apresentaram riscos inaceitáveis, com valores de (MOE_T entre 0,01 e 97), mesmo com o uso de medidas de minimização da exposição, ou seja, uso de vestimenta de proteção e luvas e aplicação com trator de cabine fechada.

Observando-se a Tabela 10 com os resultados das Margens de Exposição Agregada Total (MOE_T) nos cenários ocupacionais para o tratamento de maçã, todos os cenários apresentaram riscos inaceitáveis, com valores de MOE_T extremamente baixas (MOE_T entre 0,007 e 54), mesmo com o uso de medidas de minimização da exposição, ou seja, uso de vestimenta de proteção e luvas e aplicação com trator de cabine fechada.

6 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Com os dados toxicológicos disponíveis e seguindo o esquema em etapas para identificação de compostos desreguladores endócrinos proposto conjuntamente pela Alemanha e Reino Unido (BfR, 2011), consideramos o dicofol um composto desregulador endócrino, conforme discutido abaixo.

Nos estudos *in vivo* foram observados efeitos adversos em órgãos susceptíveis aos hormônios estrogênicos e androgênicos, tais como vacuolização nos ovários (SOLOMON e KULWICH, 1991 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000); oligoespermatogênese e hipoplasia da próstata (SHELLENBERGER, 1986 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000) e diminuição da motilidade dos espermatozóides (PEROBELLI *et*

al., 2010), que podem estar relacionados aos mecanismos de ação identificados nos estudos *in vitro*. Além desses efeitos, também observou-se diminuição da viabilidade dos filhotes e aumento do número de natimortos (SOLOMON e KULWICH, 1991 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000).

Também foram observados efeitos adversos nas adrenais, tais como aumento do peso; hipertrofia, vacuolização difusa, hiperplasia nas células do córtex; e diminuição da liberação de corticosterona ou cortisol (nesse último caso, após desafio com ACTH) em ratos, camundongos e cães, após exposição subcrônica e crônica, pelas vias dérmica e oral (GOLDMAN *et al.*, 1986; GOLDMAN e HARRIS, 1986; SHELLENBERGER, 1986; TEGERIS, 1988; HAZELTON e HARRIS, 1989; SOLOMON e KULWICH, 1991; FERGUSON *et al.*, 1998 *apud* CLEVINGER, 1992; EPA, 1998; COMISSÃO EUROPÉIA, 2000).

Os efeitos adversos histopatológicos de hipertrofia, juntamente com vacuolização no córtex das adrenais, associados com a inibição da liberação de corticosterona ou cortisol nos estudos *in vivo* são compatíveis com toxicidade direta no córtex das adrenais. A insuficiência do córtex das adrenais representa um grave efeito adverso funcional (HARVEY E SUTCLIFFE, 2010).

Estudos *in vitro* embasam mecanismos de ação de desregulação endócrina, tais como ligação e ativação do hER (VINGGAARD *et al.*, 1999; OKUBO *et al.*, 2004; KOJIMA *et al.*, 2004; HOESKRA *et al.*, 2006 e RIDER *et al.*, 2010); inibição das aromatasas (VINGGAARD *et al.*, 2000); ligação ao hAR (OKUBO *et al.*, 2004); atividade antagonista no hAR (KOJIMA *et al.*, 2004; VINGGAARD *et al.*, 2008) e atividade agonista no hPXR (KOJIMA *et al.*, 2010, 2011).

Quanto aos resultados da caracterização do risco dietético à saúde da população, quando calculamos a ingestão diária de dicofol considerando os LMRs, todas as UFs do país apresentaram cenários de exposição dietética inaceitáveis (impacto na IDA entre 120 e 660%), conforme descrito na Tabela 6.

Porém, considerando que o uso do LMR como parâmetro da concentração dos resíduos de agrotóxicos no cálculo da exposição dietética é uma abordagem conservadora, refinamos os cálculos por meio da substituição do valor de LMR pelos resíduos médios detectados no PARA 2009-2011. Com esse refinamento, o impacto na IDA de 0,0012 mg/kg p.c./dia, proposta neste trabalho, ficou abaixo de 4% para todas as UFs do país, indicando que o risco pode ser considerado aceitável, conforme a Tabela 7.

Entretanto, é importante ressaltar as incertezas associadas às estimativas de risco. Por exemplo, para o cálculo da ingestão dos resíduos de dicofol não foi considerada a formação de DCBP, que são produtos de degradação do dicofol estruturalmente similares ao DDE, e não foram considerados resíduos em água devido à não disponibilidade de limites de resíduos ou dados de monitoramento. Com relação aos produtos de origem animal, assumimos que resíduos de dicofol não seriam encontrados nesse tipo de produto, pois no Brasil o seu uso é autorizado para culturas que não são normalmente consumidas por animais de criação.

Quanto aos resultados da caracterização do risco ocupacional, a abordagem da MOE_T foi utilizada. Para o tratamento da cultura de algodão, os riscos foram inaceitáveis para quase todos os potenciais cenários de exposição ($MOE_T < 100$, conforme a Tabela 8), exceto para o cenário onde se considera a aplicação com barra de pulverização com cabine fechada (MOE_T entre 152 e 293); para o cenário onde se considera misturar/abastecer (para aplicação com turbo atomizador) com o uso de todos os EPIs (MOE_T de 225) e para o cenário onde se considera a aplicação com turbo atomizador com cabine fechada, com o uso de todos os EPIs (MOE_T de 337).

Para o tratamento da cultura de citros e maçã, todos os cenários de exposição apresentaram riscos inaceitáveis (MOE_T para citros ficou entre 0,01 e 97 e para maçã ficou entre 0,007 e 54, conforme as Tabelas 9 e 10, respectivamente), mesmo com o uso de medidas de minimização da exposição, ou seja, uso de vestimenta de proteção e luvas.

Quanto à estimativa dos riscos ocupacionais, ressaltamos que uma fonte de incerteza foi o uso do valor das áreas tratadas extrapoladas dos Estados Unidos, pois não identificamos um documento validado para as áreas tratadas do Brasil. Santos (2010) publicou alguns valores de área tratada para o Brasil, mas não utilizamos esse documento, pois faltavam dados para a cultura da maçã e para os cenários de aplicação com equipamentos manuais. Outra incerteza foi o fato de que o PHED (1998) não tinha unidades de exposição com qualidade adequada para um dos cenários mais importantes de exposição ocupacional no Brasil, o cenário onde o trabalhador realiza as três atividades: misturar/abastecer/aplicar com pulverizador costal.

A despeito das incertezas mencionadas, os resultados da avaliação do risco ocupacional do dicofol indicaram riscos inaceitáveis para cenários importantes no

Brasil, como por exemplo, pulverização com equipamento costal e uso de tratores com cabine aberta, mesmo quando se considerou o melhor cenário de uso de EPIs. Além disso, considerando as condições de trabalho comuns no Brasil (múltiplas funções, aplicação costal, ampla jornada de trabalho) acredita-se que o risco poderá ser ainda maior quando dados nacionais estiverem disponíveis.

Na pesquisa de Recena *et al.* (2006) com uma comunidade de agricultores, 92% relataram o uso de equipamento costal e trator com cabine aberta, 80% relataram o uso de equipamento costal, 72% relataram o uso de trator com cabine aberta e 6% relataram outros tipos de aplicação.

O resultado da avaliação do risco nos cenários ocupacionais supracitados é preocupante, pois segundo Moura (2005); Recena *et al.* (2006); Monquero *et al.* (2009) e Preza e Augusto (2012) a maioria dos agricultores questionados em suas pesquisas relatou não utilizar proteção durante a aplicação dos agrotóxicos. Segundo Moura (2005) e Recena e Caldas (2008), a maioria dos produtores relatou não usar EPIs, principalmente por serem muito quentes e desconfortáveis, falta de costume e preço elevado dos equipamentos. Além da problemática da não utilização de EPIs, outro fator de vulnerabilidade dos agricultores para o uso de agrotóxicos é o analfabetismo ou estudo incompleto (Preza e Augusto, 2012).

Além dos riscos ocupacionais identificados neste trabalho, também localizamos estudos epidemiológicos caso-controle que identificaram associação entre exposição ao dicofol e câncer de próstata, considerando exposição ocupacional (SETTIMI *et al.*, 2003) e ambiental (COCKBURN *et al.*, 2011); leucemia (REYNOLDS *et al.*, 2005) e autismo em crianças (ROBERTS *et al.*, 2007), cujas mães foram expostas durante a gestação. Embora os autores dessas pesquisas recomendem que estudos futuros sejam realizados para corroborar os resultados, estes merecem atenção, pois possíveis riscos foram identificados para pessoas comuns (residentes próximo às áreas de aplicação), e não apenas para aquelas que trabalham diretamente com agrotóxicos.

Além da preocupação com o perfil toxicológico do dicofol, ele também foi descrito como fonte de DDT para o ambiente (QIU *et al.*, 2005; YANG *et al.*, 2008; TURGUT *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2009; QIU *et al.*, 2010) e, conseqüentemente, para o homem. Em estudos de biomonitoramento, DDT e dicofol foram encontrados no leite materno (HARAGUCHI *et al.*, 2009; FUJII *et al.*, 2011) e no tecido adiposo (WANG *et al.*, 2011). A detecção de dicofol no leite materno e no tecido adiposo

causam preocupação à saúde humana, devido ao potencial acúmulo no organismo.

O DDT é um dos POPs que a Convenção de Estocolmo tenta restringir a produção e o uso globalmente devido aos comprovados efeitos à saúde humana e ao ambiente (CONVENÇÃO DE ESTOCOLMO, 2012). Dessa forma, é coerente que o uso de dicofol contendo DDT como impureza também deve ser restringido. Aliado a esse fato, recentemente o dicofol foi avaliado no âmbito da Convenção de Estocolmo se ele poderia ser uma alternativa de uso ao endosulfan, e também verificou-se que o dicofol reúne os critérios para classificá-lo como POP (COMITÊ DE REVISÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS PERSISTENTES, 2012).

Concluindo, a avaliação do risco à saúde da população pela exposição crônica a alimentos com resíduos de dicofol (considerando dados de monitoramento) indicou riscos aceitáveis. Entretanto, é necessário ressaltar as incertezas associadas às estimativas de risco, conforme discutido acima.

Por outro lado, a avaliação do risco ocupacional com o uso do dicofol indicou que os principais cenários de exposição brasileiros, ou seja, aplicação com equipamento costal e com trator de cabine aberta oferecem riscos inaceitáveis. Também é necessário ressaltar as incertezas associadas às estimativas de risco, conforme discutido acima.

REFERÊNCIAS

ANVISA. **Anexo dos Relatórios do PARA 2001 – 2007**. 2008. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d0eeda80474595359d07dd3fbc4c6735/anexo+relatorio+2001+2007.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 02 out. 2011.

ANVISA. **Anexo I do Relatório de atividades do PARA de 2010**. 2011a. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Programa+de+Analise+de+Residuos+de+Agrotoxicos+em+Alimentos>>. Acesso em: 24 abr. 2012.

ANVISA. **Anexo II do Relatório de atividades do PARA de 2009**. 2010. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/128aa080474581978ddfdd3fbc4c6735/Anexo+II+-+Detalhamento+dos+resultados+do+PARA+2009.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 02 out. 2011.

ANVISA. **Memória de Reunião – Reavaliação Toxicológica do Ingrediente Ativo DICOFOL pela ANVISA**. Data da reunião: 16, 17 e 18 de julho de 2002. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/3f6b2a00474592109a64de3fbc4c6735/dicofol.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 02 out. 2011.

ANVISA. **Monografia D14 – Dicofol**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 23 abr. 2011b.

ANVISA. **Nota técnica do PARA de 2008**. 2009. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/3989428047457d5189a7dd3fbc4c6735/nota+tecnica+-+resultados+para+2008.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 02 out. 2011.

BARS, R.; FEGERT, I.; GROSS, M.; LEWIS, D.; WELTJE, L.; WEYERS, A.; WHEELER, J.R.; GALAY-BURGOS, M. Risk assessment of endocrine active chemicals: identifying chemicals of regulatory concern. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 64, p. 143-154, 2012.

BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (German Federal Institute for Risk Assessment) (2011) **Joint DE – UK position paper. Regulatory definition of an endocrine disrupter in relation to potential threat to human health. Proposal applicable in the regulatory context of Plant Protection Products, Biocidal Products, and Chemicals targeted within REACH.**

16/05/2011. Disponível em:

<http://www.bfr.bund.de/cm/349/regulatory_definition_of_an_endocrine_disrupter_in_relation_to_potential_threat_to_human_health.pdf>. Acesso em: 5 set. 2012.

BRASIL. Decreto nº 4074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 8 de janeiro de 2002.

BRASIL. Decreto nº 5.472, de 20 de junho de 2005. Promulga o texto da Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes, adotada, naquela cidade, em 22 de maio de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília, p. 7, 21 de junho de 2005.

BRASIL. Lei nº 7802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos da embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, p. 11459, 12 de julho de 1989.

BRASIL. Portaria nº 3, 16 de janeiro de 1992. Ratifica os termos das "diretrizes e orientações referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins. **Diário Oficial da União**, Brasília, 4 de fevereiro de 1992.

CALDAS, E.D.; SOUZA, L.C.K.R. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, n. 5, p. 529-537, 2000.

CALDAS, E.D.; SOUZA, L.C.K.R. Chronic dietary risk for pesticide residues in food in Brazil: an update. **Food Additives and Contaminants**, v. 21, n. 11, p. 1057-1064, 2004.

CHAN, W.; LIAO, J.; CHOU, C.; CHAN, P.; WEI, C.; UENG, T. Induction of CYP1A1, 2B, 2E1 and 3A in rat liver by organochlorine pesticide dicofol. **Toxicology Letters**, v. 190, n 2. , p. 150–155, 2009.

CLEVENGER, A. 1992. **Dicofol First Draft prepared by A. Clevenger**. JMPR. p. 137-164. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v92pr08.htm>>. Acesso em: 26 nov. 2012.

COCKBURN, M.; MILLS, P.; ZHANG, X.; ZADNICK, J.; GOLDBERG, D.; RITZ, B. Prostate cancer and ambient pesticide exposure in agriculturally intensive areas in California. **American Journal of Epidemiology**, v. 173, n. 11, p. 1280–1288, 2011.

COMISSÃO EUROPEIA. **ESIS; IUCLID Dataset, Dicofol (115-32-2)**. 2000. Disponível em: <<http://esis.jrc.ec.europa.eu/>>. Acesso em: 18 jul. 2012.

COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. **Commission decision of 30 September 2008 concerning the non-inclusion of dicofol in Annex I to Council Directive 91/414/EEC and the withdrawal of authorisations for plant protection products containing that substance (notified under document number C(2008) 5105)**.2008. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:262:0040:0041:EN:PDF>>. Acesso em: 01 out. 2011.

COMITÊ DE REVISÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS PERSISTENTES. **Report on the assessment of chemical alternatives to endosulfan and DDT**. 2012. Disponível em: <<http://chm.pops.int/Convention/POPsReviewCommittee/LatestMeeting/POP/PC8/MeetingDocuments/tabid/2801/Default.aspx>>. Acesso em: 11 nov. 2012.

CONVENÇÃO DE ESTOCOLMO. **The 12 initial POPs under the Stockholm Convention**. Disponível em: <<http://chm.pops.int/Convention/ThePOPs/The12InitialPOPs/tabid/296/Default.aspx>>. Acesso em: 20 set. 2012.

DANISH MINISTRY OF THE ENVIRONMENT. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 2011. **Establishment of criteria for endocrine disruptors and options for regulation**. Chemicals J.nr. MST-621-00011, 79 pp. Disponível em: <http://www.mst.dk/NR/rdonlyres/54DB4583-B01D-45D6-AA99-28ED75A5C0E4/127098/DKEDcriteria110517_finalcorr1.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2012.

DIAMANTI-KANDARAKIS, E.; BOURGUIGNON, J.; GIUDICE, L.C.; HAUSER, R.; PRINS, G.S.; SOTO, A.M.; ZOELLER, T.; GORE, A. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society Scientific Statement. **Endocrine Reviews**, v. 30, p. 293-342, 2009.

EFSA. Review of the existing maximum residue levels (MRLs) for dicofol according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. 2011. EFSA Journal, v. 9, n. 8, 33 pp. Disponível em: <www.efsa.europa.eu/efsajournal>. Acesso em: 25 abr. 2012.

EFSA. **Scientific Opinion – Guidance on dermal absorption**. 2012. EFSA Journal, v. 10, n. 4, 30 pp. Disponível em: <www.efsa.europa.eu/efsajournal.htm>. Acesso em: 05 ago. 2012.

EMBRAPA. **Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura**. Disponível em http://www.cnpmf.embrapa.br/index.php?p=pesquisa-culturas_pesquisadas-citros.php&menu=2#espacamento. Acesso em: 16 jul. 2012.

EPA. **Notice of receipt of request to voluntarily cancel certain pesticide registrations**. 2011. Disponível em: <<http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPA-HQ-OPP-2005-0220-0017>>. Acesso em: 02 out. 2011.

EPA. **Reregistration Eligibility Decision (RED) Dicofol**. 1998. Disponível em: <<http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/0021red.pdf>>. Acesso em: 02 maio 2012.

EPA. **Dicofol-Revised Report of the Hazard Identification Assessment Review Committee**. 1999. Disponível em: <<http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPA-HQ-OPP-2005-0220-0003>>. Acesso em: 16 maio 2012.

EPA. **General principles for performing aggregate exposure and risk assessments**. 2001. Disponível em: <<http://www.epa.gov/pesticides/trac/science/aggregate.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2011.

EPA. **Tier 1 Screening Order Issuing Announcement**. 2005. Disponível em: <<http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-TOX/2005/September/Day-27/t19260.pdf>>. Acesso em: 03 maio 2012.

EPA. **Addendum to Dicofol RED**. 2006. Disponível em: <http://www.epa.gov/oppsrrd1/reregistration/REDs/dicofol_red_addendum.pdf>. Acesso em: 02 out. 2011.

EPA. **Endocrine Disruptor Screening Program**. 2009. Disponível em: <wais.access.gpo.gov/[DOCID:fr21oc09-129][EPA-HQ-OPP-2009-0634; FRL-8434-8]>. Acesso em: 05 abr. 2012.

EPA. **Dicofol – Report of the endocrine disruptor review team**. 2010. Disponível em: <<http://www.regulations.gov/#!home>>. Acesso em: 03 maio 2012.

FAO. **FAO specifications for plant protection products - dicofol**

(AGP:CP/317). 1995. Disponível em:

<www.fao.org/ag/AGP/agpp/Pesticid/Specs/docs/word/DICO.DOC>. Acesso em: 26 abr. 2012.

FAUSTMAN, E.M.; OMENN, G.S. Risk assessment. In: KLAASSEN, C.D. (Org.); **CASARETT & DOULL'S Toxicology: the basic science of poisons**. 7. ed. New York: McGraw Hill, 2007. p. 107-128.

FUJII, Y.; HARAGUCHI, K.; HARADA, K.H.; HITOMI, T.; INOUE, K.; ITOH, Y.; WATANABE, T.; TAKENAKA, K.; UEHARA, S.; YANG, H.; KIM, M.; MOON, C.; KIM, H.; WANGI, P.; LIU, A.; HUNG, N.N.; KOIZUMI, A. Detection of dicofol and related pesticides in human breast milk from China, Korea and Japan. **Chemosphere**, v. 82, n. 1, p. 25–31, 2011.

GUILLETTE JR., L.J.; GROSS, T.S.; MASSON, G.R.; MATTER, J.M.; PERCIVAL, H.F.; WOODWARD, A.R. Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida. **Environmental Health Perspectives**, v. 102, n. 8, p. 680–688, 1994.

HARAGUCHI, K.; KOIZUMI, A.; INOUE, K.; HARADA, K.H.; HITOMI, T.; MINATA, M.; TANABE, M.; KATO, Y.; NISHIMURA, E.; YAMAMOTO, Y.; WATANABE, T.; TAKENAKA, K.; UEHARA, S.; YANG, H.R.; KIM, M.Y.; MOON, C.S.; KIM, H.S.; WANG, P.; LIU, A.; HUNG, N.N. Levels and regional trends of persistent organochlorines and polybrominated diphenyl ethers in Asian breast milk demonstrate POPs signatures unique to individual countries. **Environment International**, v. 35, n. 7, p. 1072–1079, 2009.

HARVEY, P.W.; EVERETT, D.J.; SPRINGALL, C.J. Adrenal toxicology: a strategy for assessment of functional toxicity to the adrenal cortex and steroidogenesis. **Journal of Applied Toxicology**, v. 27, p. 103-115, 2007.

HARVEY, P.W.; SUTCLIFFE, C. Adrenocortical hypertrophy: establishing cause and toxicological significance. **Journal of Applied Toxicology**. v. 30, p. 617-626, 2010.

HINSON, J.P.; RAVEN, P.W. Effects of endocrine-disrupting chemicals on adrenal function. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 20, n. 1, p. 111-120, 2006.

HOEKSTRA, P.F.; BURNISON, B.K.; GARRISON, A.W.; NEHELI, T.; MUIR, D.C.G. Estrogenic activity of dicofol with the human estrogen receptor: Isomerand enantiomer-specific implications. **Chemosphere**, v. 64, n. 1, p. 174–177, 2006.

IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. 2011. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_analise_consumo/default.shtm>. Acesso em: 04 maio 2012.

IPCS. **Chapter 7: Causal Criteria for Assessing Endocrine Disruptors—A Proposed Framework**. 2002. Disponível em: <<http://www.who.int/ipcs/publications/en/ch7.pdf>>. Acesso em: 18 set. 2012.

IPCS. **Risk Assessment Terminology.Harmonization Project**. 2004 Disponível em: <<http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/ipcs/terminologyparts1and2.pdf>>. Acesso em: 22 abr. 2012.

IPCS. **Environmental Health Criteria 240 – Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food**. 2009. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/chem/principles/en/index1.html>>. Acesso em: 13 ago. 2012.

IPCS. **WHO human health risk assessment toolkit: chemical hazards**. 2010. Disponível em: <http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/ra_toolkit/en/index.html>. Acesso em: 13 ago. 2012.

ISHIHARA, A.; SAWATSUBASHI, S.; YAMAUCHI, K. Endocrine disrupting chemicals: interference of thyroid hormone binding to transthyretins and to thyroid hormone receptors. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 199, n. 1-2, p. 105-117, 2003.

JAHNKE, G.D.; CHOKSI, N.Y.; MOORE, J.A.; SHELBY, M.D. Thyroid toxicants: assessing reproductive health effects. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 3, p. 363-368, 2004.

JARDIM, A.N.O.; CALDAS, E.D. Exposição humana a substâncias químicas potencialmente tóxicas na dieta e os riscos para saúde. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1898-1909, 2009.

KOJIMA, M.; FUKUNAGA, K.; SASAKI, M.; NAKAMURA, M.; TSUJI, M.; NISHIYAMA, T. Evaluation of estrogenic activities of pesticides using an in vitro reporter gene assay. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 15, n. 4, p. 271-280, 2005.

KOJIMA, H.; KATSURA, E.; TAKEUCHI, S.; NIYAMA, K.; KOBAYASHI, K. Screening for estrogen and androgen receptor activities in 200 pesticides by in vitro reporter gene assays using chinese hamster ovary cells. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 5, p. 524-531, 2004.

KOJIMA, H.; SATA, F.; TAKEUCHI, S.; SUEYOSHI, T.; NAGAI, T. Comparative study of human and mouse pregnane X receptor agonistic activity in 200 pesticides using in vitro reporter gene assays. **Toxicology**, v. 280, n. 3, p. 77-87, 2011.

KOJIMA, H.; TAKEUCHI, S.; NAGAI, T. Endocrine-disrupting potential of pesticides via nuclear receptors and aryl hydrocarbon receptor. **Journal of Health Science**, v. 56, n. 4, p. 374-386, 2010.

KORTENKAMP, A.; MARTIN, O.; FAUST, M.; EVANS, R.; MCKINLAY, R.; ORTON, F.; ROSIVATZ, E. **State of the art assessment of endocrine disrupters – Final Report**. 2011. Disponível em: <http://ec.europa.eu/environment/endocrine/documents/studies_en.htm>. Acesso em: 10 set. 2012.

LEMONICA, T.P.; GARRIDO DOS SANTOS, A.M.; BERNARDI, M.M. **Effect of administration of organochlorine pesticide (dicofol) during gestation on neurobehavioral development of rats**. European Teratology Society, 20th Annual Conference, 31 August – 3 September. *Teratology* 46, p. 25A 1992.

LIU, X.; ZHANG, G.; LI, J.; YU, L.; XU, Y.; LI, X.; KOBARA, Y.; JONES, K.C. Seasonal Patterns and Current Sources of DDTs, Chlordanes, Hexachlorobenzene, and Endosulfan in the Atmosphere of 37 Chinese Cities. **Environmental Science and Technology**, v. 43, n. 5, p. 1316–1321, 2009.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (Agrofit)**. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 16 fev. 2012.

MNIF, W.; HASSINE, A.I.H.; BOUAZIZ, A.; BARTEGI, A.; THOMAS, O.; ROIG, B. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, n. 6, p. 2265-2303, 2011.

MONQUERO, P.A.; INÁCIO, E.M.; SILVA, A.C. Levantamento de agrotóxicos e utilização de proteção individual entre os agricultores da região de Araras. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n.1, p.135-139, 2009.

MOURA, Nara Núbia. **Percepção de risco do uso de agrotóxicos: o caso dos produtores de São José de Ubá/ RJ**. 2005. 92 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento, Agricultura e Sociedade) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

NIGG, H.N.; STAMPER, J.H.; DESHMUKH, S.N.; QUEEN, R.M. 4,4'-dichlorobenzilic acid urinary excretion by dicofol pesticide applicators. **Chemosphere**, v. 22, n. 3-4, p. 365-373, 1991.

OECD 475. **Mammalian bone marrow chromosome aberration test**.1997. Disponível em: <http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788;jsessionid=81cvo0629uog.epsilon>. Acesso em: 10 ago. 2012.

OECD 414. **Prenatal developmental toxicity study**. 2001. Disponível em: <http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788;jsessionid=81cvo0629uog.epsilon>. Acesso em: 10 ago. 2012.

OKUBO, T.; YOKOYAMA, Y.; KANO, K.; SOYA, Y.; KANO, I. Estimation of estrogenic and antiestrogenic activities of selected pesticides by MCF-7 cell proliferation assay. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 46, n. 4, p. 445–453, 2004.

PEROBELLI, J.E.; MARTINEZ, M.F.; FRANCHI, C.A.S.; FERNANDEZ, C.D.B.; CAMARGO, J.L.V.; KEMPINAS, W.G. Decreased sperm motility in rats orally exposed to single or mixed pesticides. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 73, n. 13-14, p. 991–1002, 2010.

PHED. SURROGATE EXPOSURE GUIDE. **Estimates of worker exposure from the pesticide handler exposure database version 1.1**.1998. 92 p.

PETRI, J.L.; LEITE, G.B.; COUTO, M.; FRANCESCATTO, P. Avanços na cultura da macieira no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. Especial, n. -, p. 48-56, 2011.

PICON, P.D.; GADELHA, M.I.P.; BELTRAME, A. (Ed.). **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas – insuficiência adrenal primária – Doença de Addison - Portaria SAS/MS nº 15, de 15 de janeiro de 2010**. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/pcdt_insuf_adrenal_primaria_dca_addison_livro_2010.pdf>. Acesso em: 16 set. 2012.

PLUNKETT, L.M.; SINGH, P. **DICOFOL EDSP TEST ORDER: EDSP-010501101. Response to the U.S. Environmental Protection Agency Testing Order under the Endocrine Disruptor Screening Program (EDSP): Discussion of Other Scientifically Relevant Information (OSRI) for Dicofol**.2010. Disponível em: <<http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPA-HQ-OPP-2009-0634-0179>>. Acesso em: 13 maio 2012.

PREZA, D.L.C.; AUGUSTO, L.G.S. Vulnerabilidades de trabalhadores rurais frente ao uso de agrotóxicos na produção de hortaliças em região do Nordeste do Brasil. **Revista brasileira de Saúde ocupacional**, v. 37, n. 125, p. 89-98, 2012.

QIU, X.; ZHU, T. Using the o,p'-DDT/p,p'-DDT ratio to identify DDT sources in China. **Chemosphere**, v. 81, n. 8, p. 1033–1038, 2010.

QIU, X.; ZHU, T.; YAO, B.; HU, J.; HU, S. Contribution of dicofol to the current DDT pollution in China. **Environmental Science and Technology**, v. 39, n. 12, p. 4385-4390, 2005.

RECENA, M.C.P.; CALDAS, E.D.; PIRES, D.X.; PONTES, E.R.J.C. Pesticides exposure in Culturama, Brazil—Knowledge, attitudes, and practices. **Environmental Research**, v. 102, p. 230–236, 2006.

RECENA, M.C.P.; CALDAS, E.D. Percepção de risco, atitudes e práticas no uso de agrotóxicos entre agricultores de Culturama, MS. **Revista de Saúde Pública**, v. 42, n. 2, p. 294-301, 2008.

REYNOLDS, P.; BEHREN, J.V.; GUNIER, R.B.; GOLDBERG, D.E.; HARNLY, M.; HERTZ, A. Agricultural Pesticide Use and Childhood Cancer in California. **Epidemiology**, v. 16, n. 1, p. 93–100, 2005.

RIDER, C.V.; HARTIG, P.C.; CARDON, M.C.; LAMBRIGHT, C.R.; BOBSEINE, K.L.; GUILLETTE JR, L.J.; L. EARL GRAY JR.; WILSON, V.S. Differences in sensitivity but not selectivity of xenoestrogen binding to alligator versus human estrogen receptor alpha. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 9, p. 2064–2071, 2010.

ROBERTS, E.M.; ENGLISH, P.B.; GREYER, J.K.; WINDHAM, G.C.; SOMBERG, L.; WOLFF, C. Maternal residence near agricultural pesticide applications and autism spectrum disorders among children in the California Central Valley. **Environmental Health Perspectives**, v. 115, n. 10, p. 1482-1489, 2007.

ROSOL, T.J.; YARRINGTON, J.T.; LATENDRESSE, J.; CAPEN, C.C. Adrenal gland: structure, function, and mechanisms of toxicity. **Toxicologic Pathology**, v. 29, p. 41–48, 2001.

SANTOS, J.M.F. **Cenários da tecnologia de aplicação de agrotóxicos na agricultura brasileira**. *Biológico, São Paulo*, v.72, Suplemento 2, p.15-108, 2010.

SCIENCE ADVISORY COUNCIL FOR EXPOSURE. **Standard values for daily acres treated in agriculture**. Policy Number: 9.1. 2001.

SETTIMI, L.; MASINA, A.; ANDRION, A.; AXELSON, O. Prostate cancer and exposure to pesticides in agricultural settings. **International Journal of Cancer**, v. 104, n. 4, p. 458-461, 2003.

SHIMADA, N.; YAMAUCHI, K. Characteristics of 3,5,3'-triiodothyronine (T3)-uptake system of tadpole red blood cells: effect of endocrine-disrupting chemicals on cellular T3 response. **Journal of Endocrinology**, v. 183, n. 3, p. 627–637, 2004.

SUGIYAMA, S.; SHIMADA, N.; MIYOSHI, H.; YAMAUCHI, K. Detection of thyroid system-disrupting chemicals using *in vitro* and *in vivo* screening assays in *Xenopus laevis*. **Toxicological Sciences**, v. 88, n. 2, p. 367–374, 2005.

THIEL, A.; GUTH, S.; BÖHM, S.; EISENBRAND, G. Dicofol degradation to p,p-dichlorobenzophenone – a potential antiandrogen. **Toxicology**, v. 282, n. 3, p. 88–93, 2011.

TURGUT, C.; GOKBULUT, C.; CUTRIGHT, T.J. Contents and sources of DDT impurities in dicofol formulations in Turkey. **Environmental Sciences and Pollution Research International**, v. 16, n. 2, p. 214-217, 2009.

UNEP/FAO. **Technical work: review of notifications of final regulatory actions: dicofol**. 2011. UNEP/FAO/RC/CRC.8/4. Disponível em: <<http://www.pic.int/TheConvention/ChemicalReviewCommittee/Meetingsanddocuments/CRC8/tabid/2481/language/en-US/Default.aspx>>. Acesso em: 07 mai. 2012.

VAN DEN BERG, K.J.; VAN RAAIJ, A.G.M.; BRAGT, P.C.; NOTTEN, W.R.F. Interactions of halogenated industrial chemicals with transthyretin and effects on thyroid hormone levels in vivo. **Archives of Toxicology**, v. 65, n. 1, p. 15-19, 1991.

VINGGAARD, A.M.; BREINHOLT, V.; LARSEN, J.C. Screening of selected pesticides for oestrogen receptor activation in vitro. **Food Additives and Contaminants**, v. 16, n. 12, p. 533-542, 1999.

VINGGAARD, A.M.; HNIDA, C.; BREINHOLT, V.; LARSEN, J.C. Screening of selected pesticides for inhibition of CYP19 aromatase activity *in vitro*. **Toxicology in vitro**, v. 14, n. 3, p. 227-234, 2000.

VINGGAARD, A.M.; NIEMELÄ, J.; WEDEBYE, E.B.; JENSEN, G.E. Screening of 397 chemicals and development of a quantitative structure-activity relationship model for androgen receptor antagonism. **Chemical Research in Toxicology**, v. 21, n. 4, p.813-823, 2008.

WANG, N.; SHI, L.; KONG, D.; CAI, D.; CAO, Y.; LIU, Y.; PANG, G.; YU, R. Accumulation levels and characteristics of some pesticides in human adipose tissue samples from Southeast China. **Chemosphere**, v. 84, p. 964–971, 2011.

WHO/FAO. **Dicofol**. In: Pesticide residues in food – 1992. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Expert Group on Pesticide Residues. FAO Plant Production and Protection Paper 116. Disponível em: <<http://www.fao.org/agriculture/crops/core-themes/theme/pests/pm/jmpr/jmpr-rep/en/>>. Acesso em: 02 mai. 2012.

WHO/FAO. **WHO/FAO data sheets on pesticides No. 81 DICOFOL**. 1996.
Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/pds/pds/pest81_e.htm>. Acesso em: 02 out. 2011.

YANG, X.; WANG, S.; BIAN, Y.; CHEN, F.; YU, G.; GU, C.; JIANG, X. Dicofol application resulted in high DDTs residue in cotton fields from northern Jiangsu province, China. **Journal of Hazardous Materials**, v. 150, n. 1, p. 9298, 2008.