



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

Maria Eduarda Vieira Cerny

**ANÁLISE DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E DE DANO DE DNA EM UMA  
POPULAÇÃO DE AGRICULTORES DO ESTADO DE SANTA CATARINA  
EXPOSTA A PESTICIDAS**

Florianópolis

2021

Maria Eduarda Vieira Cerny

**ANÁLISE DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E DE DANO DE DNA EM UMA  
POPULAÇÃO DE AGRICULTORES DO ESTADO DE SANTA CATARINA  
EXPOSTA A PESTICIDAS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de mestre em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Sharbel Weidner Maluf

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Vieira Cerny, Maria Eduarda  
ANÁLISE DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E DE DANO DE DNA EM  
UMA POPULAÇÃO DE AGRICULTORES DO ESTADO DE SANTA CATARINA  
EXPOSTA A PESTICIDAS / Maria Eduarda Vieira Cerny ;  
orientador, Sharbel Weidner Maluf, 2021.  
64 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós  
Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Pesticidas. 3. Agricultores. 4. Danos  
de DNA. I. Weidner Maluf, Sharbel . II. Universidade  
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em  
Farmácia. III. Título.

Maria Eduarda Vieira Cerny

**Análise de parâmetros bioquímicos e de dano de DNA em uma população de agricultores do estado de Santa Catarina exposta a pesticidas**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Dra. Fabíola Branco Filippin  
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Miriam Falkenberg  
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Flávia Martinello  
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Farmácia.

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Prof. Dr. Sharbel Weidner Maluf  
Orientador

Florianópolis, 2021

Este trabalho é dedicado aos meus pais, irmã, filha, sobrinhos,  
avós e aos meus colegas de laboratório.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos agricultores de Santo Amaro da Imperatriz, a Secretaria de Saúde do Município de Santo Amaro da Imperatriz e aos voluntários do grupo controle que aceitaram participar deste estudo.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Sharbel Weidner Maluf, que me orientou ao longo do mestrado, com toda paciência, dedicação e apoio, com muita compreensão durante a pandemia, por ter me passado seu conhecimento e pela sua amizade.

Aos meus pais, Natércia e Luis Henrique, por sempre apoiarem as minhas decisões e por estarem ao meu lado em todos os momentos, sem eles, nada disso seria possível.

A minha filha, Antonela, tudo o que faço é por ela.

A minha irmã Marina por estar presente em todos os momentos e por torcer tanto pelo meu sucesso.

Aos meus amados sobrinhos/afilhados, Henrique e Lorena.

Aos meus queridos avós, Nanci e Osni, que foram tão presentes em minha vida, educação e formação.

Ao meu marido, Tiago, por todo carinho.

Ao meu cunhado, Daniel, por toda ajuda e apoio ao longo dessa jornada.

As minhas colegas, Natali, Maria Luiza por me ensinarem a realizar as técnicas, pela amizade e cumplicidade dentro da pesquisa.

As minhas colegas, Vitória e Bruna por todo apoio com a leitura das lâminas.

A equipe do laboratório de citogenética e mutagênese – HU/UFSC, pelo dia a dia leve, ambiente bom de trabalho e por me ajudarem sempre que necessário.

As minhas amigas, pelo incentivo e apoio, especialmente Thaís Santos e Luiza Dutra.

Ao laboratório de toxicologia do HU e a Professora Maria Claudia, pela parceria e análise das amostras.

Aos professores do programa de pós-graduação em farmácia (PGFAR).

Aos membros da banca examinadora.

Ao programa de Pós-Graduação em Farmácia (PGFAR).

Ao Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro concedido através da bolsa de mestrado.

E por fim, a toda minha família e amigos que estiveram presentes durante estes anos de pesquisa e estudos. Muito obrigada!

## RESUMO

Desde 2008, o Brasil está na primeira posição dos países que mais consomem pesticidas no mundo. Em Santa Catarina, segundo a Secretaria de Estado da Saúde, o consumo de pesticidas é crescente e, dentre as principais unidades da federação, representa o estado com a maior produtividade agrícola por área, sendo que entre 2005 e 2013, a taxa de consumo de pesticidas passou de 3,21 para 14,24 quilogramas por hectare. A exposição ocupacional a pesticidas tem sido relacionada ao aumento de dano de DNA nos agricultores, além da alteração de vários outros marcadores bioquímicos relacionados. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da exposição a pesticidas em marcadores de dano de DNA em uma população de agricultores altamente exposta a pesticidas do município de Santo Amaro da Imperatriz (SC). No presente estudo, foram avaliadas 61 amostras de sangue de agricultores expostos a pesticidas residentes no município de Santo Amaro da Imperatriz (SC), também foram avaliados 29 controles residentes em Florianópolis. Os testes realizados foram as análises de parâmetros bioquímicos, o ensaio Cometa e a técnica de Micronúcleos com Bloqueio da Citocinese (CBMN), para avaliação de danos genéticos. O ensaio Cometa realizado em sangue periférico do grupo exposto apresentou índice de dano ao DNA significativamente maior quando comparado aos controles ( $p < 0,0001$ ). A frequência de MN no grupo caso também se apresentou aumentada em relação ao grupo controle ( $p < 0,001$ ), assim como a frequência de NBUD ( $p < 0,001$ ) e NPNP ( $p < 0,001$ ). O grupo caso foi mais suscetível aos efeitos deletérios causado pela exposição e atividade laboral. Fatores como a idade não apresentaram ter influência significativa nos resultados obtidos. Conclui-se que os agricultores expostos aos pesticidas, que participaram deste estudo, apresentam uma probabilidade maior de ter danos genéticos e doenças relacionadas a esses danos, o que aponta a necessidade da redução do uso de pesticidas na agricultura brasileira.

**Palavras-chave:** Pesticidas. Agricultores. Dano de DNA.

## ABSTRACT

Since 2008, Brazil is in the first position of the countries that consume the most pesticides in the world. In Santa Catarina, according to the State Department of Health, pesticide consumption is growing and, among the main units of the federation, it represents the state with the highest agricultural productivity per area, and between 2005 and 2013, the consumption rate of pesticides went from 3.21 to 14.24 kilograms per hectare. Occupational exposure to pesticides has been linked to increased DNA damage in farmers, in addition to the alteration of several other related biochemical markers. The aim of this study is to evaluate the effects of pesticide exposure on DNA damage markers in a population of farmers highly exposed to pesticides in the municipality of Santo Amaro da Imperatriz (SC). In the present study, 61 blood samples from farmers exposed to pesticides residing in the municipality of Santo Amaro da Imperatriz (SC) were evaluated, and 29 controls residing in Florianópolis were also assessed. The tests performed were the analysis of biochemical parameters, the Comet assay and the Cytokinesis Blocking Micronucleus (CBMN) technique, for the evaluation of genetic damage. The Comet assay performed in peripheral blood of the exposed group showed a significantly higher DNA damage index when compared to controls ( $p < 0.0001$ ). The frequency of MN in the case group was also increased compared to the control group ( $p < 0.001$ ), as well as the frequency of NBUD ( $p < 0.001$ ) and NPNP ( $p < 0.001$ ). The case group is more susceptible to the deleterious effects caused by exposure and work activity. Factors such as age did not have a significant influence on the results obtained. It is concluded that farmers exposed to pesticides, who participated in this study, are more likely to have genetic data and diseases related to these damages, which suggests the need to reduce the use of pesticides in Brazilian agriculture.

**Keywords:** Pesticides. Farmers. DNA damage.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Dano de DNA.....	22
Figura 2 – Células submetidas ao ensaio Cometa coradas com solução de prata. ....	23
Figura 3 – Alterações encontradas pela técnica de Micronúcleo. ....	24
Figura 4 – Alterações encontradas pela técnica de Micronúcleo. ....	25
Figura 5. Total de dano de DNA obtido pelo ensaio Cometa nos grupos avaliados.....	34
Figura 6. Frequência de Micronúcleos nos grupos avaliados.....	35
Figura 7. Frequência de <i>Buds</i> nos grupos avaliados.....	36
Figura 8. Frequência de Pontes Nucleoplasmáticas nos grupos avaliados.....	37

## **LISTA DE QUADROS**

Gráfico 1: Volume comercializado de agrotóxicos em Santa Catarina (2009-2017).....20

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Mesorregiões Catarinenses: Estabelecimentos Agropecuários que utilizaram agrotóxicos em 2017.....	20
Tabela 2 – Resultados da técnica de micronúcleo com bloqueio da citocinese celular .....	35

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

EPI Equipamentos de proteção individual

DNA Ácido desoxirribonucleico

CBMN Micronúcleos com bloqueio de citocinese celular

IBAMA Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

ICMS Imposto sobre Circulação de Mercadorias e Serviços

CBMN Cometa e a técnica de Micronúcleos com Bloqueio da Citocinese Celular

MN Micronúcleos

NPBS Nucleoplasmáticas

NBUDS Buds nucleares

EDTA Ethylenediamine tetraacetic acid

NMP Normal Melting Point - agarose de ponto de fusão normal

LMP Low Melting Point - agarose de baixo ponto de fusão

ID Índice de dano

RPMI 1640

ROSWELL PARK MEMORIAL INSTITUT

EROs Espécies Reativas de Oxigênio

EO Estresse oxidativo

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>17</b>
2.1	Pesticidas .....	17
2.2	Agricultura familiar .....	19
2.3	Pesticidas em Santa Catarina.....	19
2.4	Pesticidas e danos de DNA.....	21
2.5	Parametros bioquímicos.....	25
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>26</b>
3.1	OBJETIVO GERAL.....	26
<b>3.1.1</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>26</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>27</b>
4.1	ASPECTOS ÉTICOS .....	27
4.2	CAUSUÍSTICA.....	27
<b>4.2.1</b>	<b>DESENHO AMOSTRAL.....</b>	<b>27</b>
4.3	Coletas, processamento e armazenamento das amostras.....	28
4.4	Ensaio cometa.....	28
<b>4.4.1</b>	<b>PREPARAÇÃO DE LÂMINAS.....</b>	<b>28</b>
<b>4.4.2</b>	<b>ELETROFORESE DE CÉLULA ÚNICA .....</b>	<b>29</b>
<b>4.4.3</b>	<b>COLORAÇÃO DAS LÂMINAS.....</b>	<b>29</b>
<b>4.4.4</b>	<b>LEITURA DAS LÂMINAS .....</b>	<b>30</b>
4.5	Micronúcleos com o Bloqueio da Citocinese Celular .....	30
<b>4.5.1</b>	<b>CULTURA CELULAR.....</b>	<b>30</b>
<b>4.5.2</b>	<b>PREPARAÇÃO DE LÂMINAS.....</b>	<b>30</b>
<b>4.5.3</b>	<b>LEITURA DE LÂMINAS.....</b>	<b>31</b>

<b>4.6</b>	<b>PARÂMETROS BIOQUÍMICOS</b> .....	<b>31</b>
<b>4.6.1</b>	<b>GLICOSE</b> .....	<b>31</b>
<b>4.6.2</b>	<b>BUTIRILCOLINESTERASE (BCHE) E ACETILCOLINESTERASE (ACHE)</b> .....	<b>32</b>
<b>4.6.3</b>	<b>T3 TOTAL</b> .....	<b>32</b>
<b>4.6.4</b>	<b>TESTOSTERONA</b> .....	<b>32</b>
<b>4.6.5</b>	<b>PEPTÍDEO C</b> .....	<b>32</b>
<b>4.7</b>	<b>Análise estatística</b> .....	<b>32</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>33</b>
<b>5.1</b>	<b>Caracterização da amostra</b> .....	<b>33</b>
<b>5.2</b>	<b>MARCADORES DE DANO DE DNA</b> .....	<b>33</b>
<b>5.2.1</b>	<b>ENSAIO COMETA</b> .....	<b>33</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Técnica de micronúcleos com bloqueio da citocinese celular</b> .....	<b>34</b>
<b>5.3</b>	<b>PARÂMETROS BIOQUÍMICOS</b> .....	<b>38</b>
<b>5.4</b>	<b>CORRELAÇÕES</b> .....	<b>38</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>39</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>42</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>44</b>
	<b>ANEXO I</b> .....	<b>49</b>
	<b>ANEXO II</b> .....	<b>51</b>
	<b>ANEXO III</b> .....	<b>62</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As mudanças nos processos produtivos, as diversas técnicas que foram criadas para aumentar e otimizar a produção agrícola fizeram com que o mundo tivesse a necessidade de expandir o desenvolvimento científico e tecnológico dos produtos agropecuários. Dentre esses métodos, o aumento de 100% da utilização de insumos químicos os anos 2000 e 2010, o que acarretou transformações do espaço rural. Durante anos a agricultura foi a fonte de renda de pequenos agricultores/agricultores familiares, porém sofreu interferência do agronegócio, que direcionou os produtores a buscar lucro incentivado pela necessidade de aumentar a produção devido ao crescimento da população mundial (NASCIMENTO, et al., 2021; GABOARDI, 2019; PIGNATI; MACHADO; CABRAL, 2007).

Existem inúmeras causas que alteram a produtividade das safras, variáveis como: o clima, tamanho da área plantada, o uso ou não de tecnologias, os custos envolvidos na produção em questão, comportamento da economia num geral e o uso ou não de pesticidas (TORESAN, L., *et al*, 2019). O desenvolvimento e uso dos pesticidas impactaram na produtividade agrícola, levando ao aumento da produção e redução de pragas, porém também afetou a saúde humana (NASCIMENTO, et al., 2021).

Atualmente, o Brasil possui grande parte da economia baseada na sua produção agrícola e exportação desses produtos, alcançando uma boa posição dentre os maiores produtores do agronegócio mundial. Para se manter nessa posição, o Brasil não ficou para trás no aumento da produção agropecuária, na introdução de novas tecnologias e no consumo e comercialização de pesticidas, negligenciando as quantidades utilizadas, os usos de equipamentos de proteção individual (EPI), composições de misturas e áreas pulverizadas perto de comunidades (NASCIMENTO, et al., 2021).

O país é o maior consumidor de insumos químicos do mundo desde 2008, sendo responsável por 20% desse consumo mundial e de 190% da expansão do mercado de insumos químicos (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018). Em um intervalo de tempo de 30 anos (1985 – 2015) o consumo de pesticidas aumentou 700% no país, porém a área agrícola com culturas aumentou apenas 78% (GABOARDI, 2019; PIGNATI et al., 2017; PIGNATI; MACHADO; CABRAL, 2007).

O estado de Santa Catarina se destaca no cenário nacional pela sua diversidade na produção agrícola/agropecuária; entre elas estão os cereais, leguminosas, oleaginosas, soja, milho, maçã entre outros, representando a maior produtividade por área plantada e

consequentemente é um dos estados que mais consome pesticidas, ocupando o significativo ranking dos dez maiores consumidores nacionais. Porém esse tema ainda é pouco discutido nas pesquisas. Além disso, Santa Catarina é o estado com o 9º maior faturamento nacional na produção agrícola (GABOARDI, 2019; SANTA CATARINA, 2019).

Santa Catarina totaliza cerca de 183.062 de propriedades agropecuárias com 502 mil pessoas empregadas no setor. No estado há predominância da agricultura familiar e de pequenas propriedades, totalizando 78% das propriedades agrícolas nesse modelo. A agricultura familiar do estado, emprega cerca de 364 mil pessoas, além de possuir o quinto maior valor de produção do país. Essas atividades possuem importância econômica e social para o Estado, uma vez que há diversas famílias que trabalham e vivem da agricultura. Além disso, Santa Catarina também é o estado que possui o maior número de propriedades rurais que utiliza pesticidas, 129,3 mil propriedades agropecuárias, que representa 70,7% dos estabelecimentos, o que declaram o uso dessas substâncias (EPAGRI, 2018; SANTA CATARINA, 2019).

A exposição a pesticidas pode levar a modificações na estrutura do DNA (ácido desoxirribonucleico), gerando um dano. Danos que podem ser avaliados através de duas ferramentas que são as mais utilizadas no biomonitoramento da instabilidade genômica. Sendo uma delas a técnica de cometa, pela qual se podem detectar quebras de fitas simples ou duplas, *crosslinks* DNA-DNA, *crosslinks* DNA-proteínas e formações de sítios alcalilábeis passíveis de reparo ao longo do ciclo celular (BURLINSON et al., 2007) .

Já na técnica de micronúcleos com bloqueio de citocinese celular (CBMN), o dano pode ser estabelecido após a atuação do sistema de reparo, onde quantifica-se quebras ou perdas cromossômicas devido a lesões do DNA não reparadas, reparos incorretos ou de erros durante o fuso mitótico com separação malsucedida dos cromossomos; e produtos da eliminação de DNA amplificado ou complexos de DNA reparado (FENECH, 2007; FENECH et al., 2016).

A exposição a pesticidas pode gerar uma instabilidade genômica nestes indivíduos expostos, tornando-os mais vulneráveis e susceptíveis a desenvolver doenças consequente dos efeitos citogenéticos dos pesticidas, como alguns tipos de câncer (DA SILVA, et al, 2008; HILGERT JACOBSEN-PEREIRA et al., 2018; TOMIAZZI et al., 2018). Nesse sentido, a avaliação proposta no estudo, assim como já foi feito por nosso grupo de pesquisa no ano de 2018, na cidade de Antônio Carlos – SC, foi de analisar os efeitos da exposição a pesticidas e danos de DNA e como eles podem contribuir para o conhecimento dos efeitos

danosos que os pesticidas causam nas células humanas, possibilitando obter informações científicas relevantes sobre o tema, além da obtenção de dados referente a agricultores do estado Santa Catarina, a obtenção de indicadores biológicos de exposição e de efeito em agricultores em atividade laboral. O estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da exposição a pesticidas em marcadores de dano de DNA em uma população de agricultores expostos a misturas de pesticidas do município de Santo Amaro da Imperatriz.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PESTICIDAS

Os pesticidas são um grupo de produtos químicos amplamente utilizados na agricultura mundial. Neles estão incluídos os inseticidas, herbicidas e fungicidas, com as funções de prevenção, controle ou eliminação de fungos, insetos, animais ou plantas que atacam de alguma forma as lavouras e assim contribuem com o aumento da produção, devido a eficácia de eliminar os fatores indesejáveis e prejudiciais ao desenvolvimento da cultura, o que traz benefícios principalmente para os países em desenvolvimento, como o Brasil. Porém pode afetar também organismos não-alvo, torna-se prejudicial ao meio ambiente e um risco a saúde humana (GROVER et al., 2003; KAUR *et al.* 2011; KAPKA-SKRZYPCZAK et al., 2019; PIGNATI; MACHADO; CABRAL, 2007; TOMIAZZI et al., 2018).

Segundo o Ministério da Saúde e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), o Brasil é o país que mais consome pesticidas no mundo desde 2008 e em 2014 em diante passou a utilizar mais de 500 toneladas de pesticidas/ano (BRASIL, 2017). O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento no ano de 2019 publicou dados de que no período de 2005 a 2019 foram liberados mais de 2.500 novos pesticidas no país, sendo que dos 50 pesticidas mais utilizados, 22 deles são proibidos na união Europeia.. (FERNANDES et al., 2020; PIGNATI et al., 2017; PIGNATI; MACHADO; CABRAL, 2007).

O entendimento de que o uso dos pesticidas tem se tornado um problema ambiental e de saúde pública no Brasil vem crescendo, assim como o aumento do uso nacional e ampliação de evidências dos impactos que podem causar no meio ambiente, na saúde das

pessoas expostas e de quem consome os produtos. Os danos relacionados ao agronegócio são muitos, destacando-se as contaminações (ambiente e humanos) e os impactos negativos a saúde dos trabalhadores, sendo os mais afetados, os trabalhadores rurais e suas famílias, por estarem em contato com os produtos químicos diretamente, acabam por possuir maior exposição, os moradores das redondezas e os consumidores dos alimentos e água contaminadas também sofrem os efeitos dos pesticidas. (ASHER et al., 2015; GABOARDI, 2019; PIGNATI; MACHADO; CABRAL, 2007; DA SILVA, et al, 2008).

O aumento de monoculturas torna o sistema ambiental desequilibrado, levando a dependência do uso de pesticidas para tornar a cultura viável e produtiva, eliminando os fatores que possam alterar a sua produtividade, além de contaminar o solo, o ar, a água e afetar a diversidade biológica do local. (DA SILVA, et al, 2008; GABOARDI, 2019). Além disso, o aumento de registro de pesticidas no país, deve contribuir para fragilização da entrada de produtos brasileiros em outros países, com o aumento das barreiras sanitárias devido a presença de resíduos acima dos limites permitidos nos países compradores (GABOARDI, 2019).

Os pesticidas são classificados da seguinte maneira: Inseticidas (insetos), herbicidas (ervas daninhas), fungicidas (fungos), raticidas (roedores), bactericidas (bactérias), nematocidas (nematóides, vermes), larvicidas (larvas), cupinicidas (cupins), formicidas (formigas), pulguicidas (pulgas), piolhicidas (piolhos), carrapaticidas (carrapatos), acaricidas (ácaros), moluscicidas (moluscos), avicidas (aves) e columbicidas (pombos) (ANVISA, 2016).

Alguns dos pesticidas mais usados e conhecidos são os organofosforados, utilizados para o controle e eliminação dos insetos que atacam as culturas (NAEHER *et al.*, 2010; MUÑOZ-QUEZADA *et al.*, 2012; MUÑOZ-QUEZADA *et al.*, 2013). Os carbamatos, utilizados como inseticidas e fungicidas no setor agrícola. Outra classe usada na agricultura, são os piretroides, utilizadas no controle de mosquitos (KANEKO, 2011). Fungicidas como triazóis também são usados com frequência na agricultura (SAXENA *et al.*, 2015). O paraquat, um herbicida do grupo químico bipyridílios é bastante utilizado nas culturas (MARTINS, 2013). Além desses já citados, também se destaca o uso de glifosatos, os mais utilizados mundialmente, já proibido o uso na Europa, mas seguem sendo comercializados no Brasil e Santa Catarina (SANTA CATARINA, 2013).

## 2.2 AGRICULTURA FAMILIAR

A agricultura familiar é baseada na Lei Federal nº 11.326, de 24 de julho de 2006, onde são citadas as características preponderantes para enquadrar os agricultores na categoria familiar, são elas: (i) não possuir área maior do que quatro módulos fiscais; (ii) a mão de obra utilizada nas atividades econômicas ser predominantemente familiar e (iii) o maior percentual da renda ser obtido das atividades econômicas do estabelecimento. Além disso, os equipamentos e maquinários devem ser de escalas menores, matéria prima própria e mão de obra familiar (BEZERRA, J. G.; SCHLINDWEIN, M. M., 2017; CRUZ, F. T., 2020).

Atualmente é responsável por parte da produção e comercialização de produtos agropecuários e de matéria prima em âmbito nacional. Além disso, a agricultura familiar está sendo cada vez mais valorizada e com isso vem aumentando a sua produção, inovando nas tecnologias e diversificando os produtos produzidos e comercializados (BRASÍLIA, 2013). Com isso, no Brasil, esse setor já atua com 38% do valor bruto da produção nacional (BEZERRA, J. G.; SCHLINDWEIN, M. M., 2017).

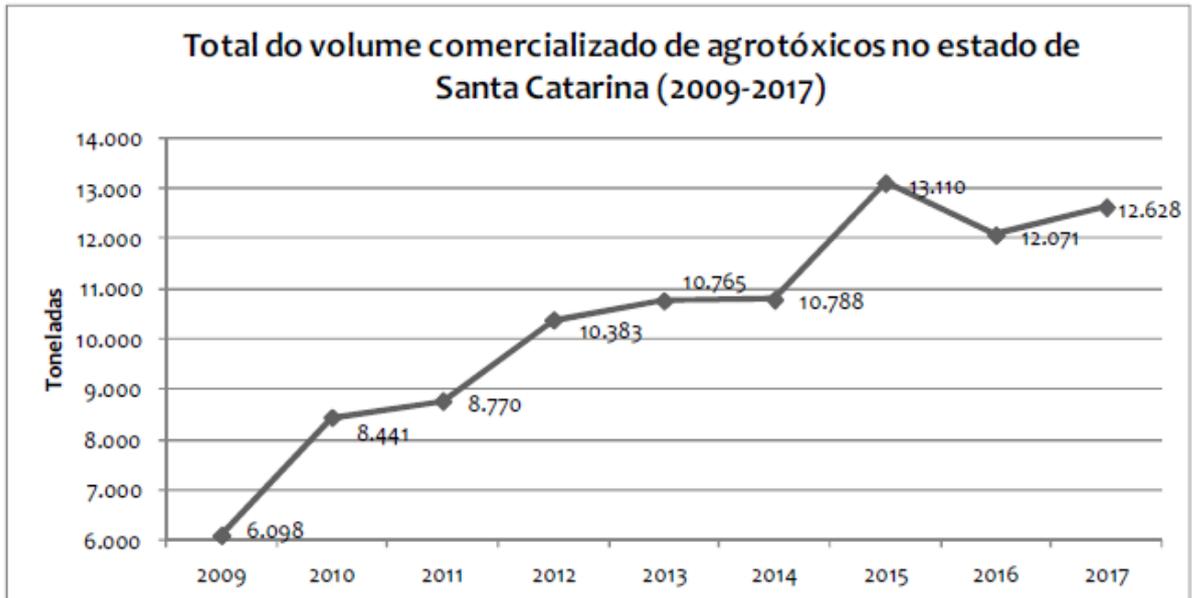
O setor ainda carece de atenção devido a problemas que enfrenta como a falta de recursos financeiros, pouca assistência técnica, a falta de regulamentação dentro do segmento e dificuldades de comercialização e acesso ao mercado. Essas questões acarretam problemas que acabam por limitar o desenvolvimento da agricultura familiar e a torna menos competitivas no mercado (BEZERRA, J. G.; SCHLINDWEIN, M. M., 2017).

## 2.3 PESTICIDAS EM SANTA CATARINA

O estado de Santa Catarina representa 1,12% de todo o território nacional, e mesmo assim, representa a 6ª maior economia agrícola do país (EPAGRI, 2020). A realidade em relação ao crescente uso de pesticidas no Brasil é acompanhado pelo estado de Santa Catarina, visto que houve aumento na taxa de consumo de pesticidas sem o aumento de áreas plantadas (Gráfico 1). O estado de Santa Catarina é o 10º estado brasileiro em consumo de pesticidas, com 1,481,843 hectares de área plantada e 23.918.055 litros de consumo de pesticidas além de não possuir monitoramento adequado do uso dos defensivos por município e o Estado não demonstra interesse em monitorar as consequências do uso desses pesticidas (GABOARDI, 2019; PIGNATI et al., 2017). Porém, o governo do Estado vem

realizando alterações na tributação dos pesticidas. Em relação ao Brasil, foi estipulado que no ano de 2020 o ICMS (Imposto sobre Circulação de Mercadorias e Serviços) para os defensivos comece a ser cobrado em relação da toxicidade dos mesmos, com a intenção de reduzir o uso (FERNANDES et al., 2020).

Gráfico 1: Volume comercializado de agrotóxicos em Santa Catarina (2009-2017).



Fonte: IBAMA, 2018. Adaptado de GABOARDI, 2019.

Em Santa Catarina, cerca de 70% dos estabelecimentos agropecuários usam pesticidas em suas culturas, sendo a região Oeste a que possui maior número de estabelecimentos que utilizam os insumos químicos, seguida do Vale do Itajaí seguido pela região Norte do estado. Já as regiões Sul, Serrana e Grande Florianópolis utilizam menor quantidade de pesticidas (Tabela 1) (GABOARDI, 2019).

Tabela 1. Mesorregiões Catarinenses: Estabelecimentos Agropecuários que utilizaram agrotóxicos em 2017

Mesorregião Catarinense	Número de estabelecimentos agropecuários que utilizaram agrotóxicos
Oeste	60.921
Vale do Itajaí	20.483
Norte	18.308
Sul	14.377
Serrana	11.901
Grande Florianópolis	5.945
<b>Total</b>	<b>131.935</b>

Fonte: Censo Agropecuário – IBGE (2017). Adaptado de GABOARDI, 2019.

A agricultura familiar é uma atividade econômica importante em diversas cidades do estado, inclusive em Santo Amaro da Imperatriz, onde os principais cultivos são feijão, mandioca, arroz, milho, tomate, dentre outros (IBGE, 2019; SEBRAE/SC, 2013). Essas culturas utilizam altas doses de pesticidas em aplicações repetidas o que eleva as quantidades de pesticidas usados para manutenção das plantações. Existe uma facilidade no acesso a esses produtos químicos e a utilização nem sempre é realizada com todos os cuidados necessários para a manipulação/uso desses químicos como o uso de Equipamentos de Proteção Individual pelos agricultores, aumentando o risco de intoxicação desses trabalhadores (SEBRAE/SC, 2013).

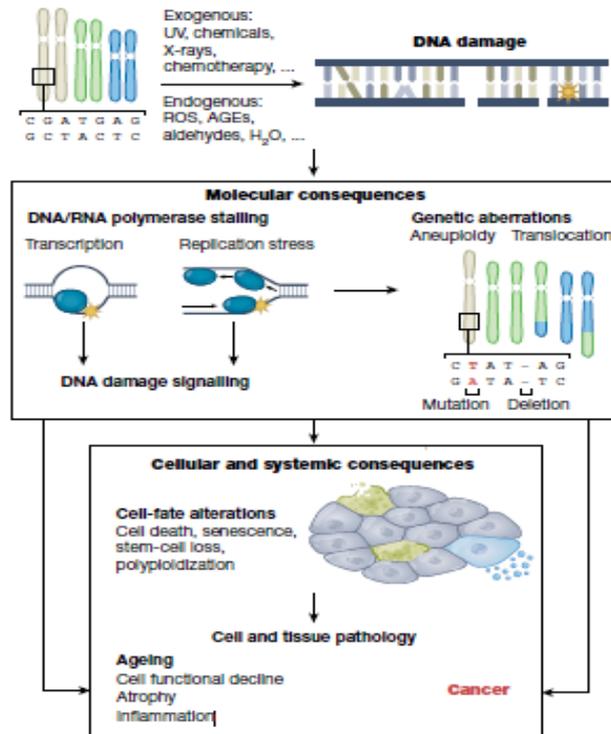
Segundo dados coletados em IBGE, 2017, o perfil dos agricultores catarinenses apresenta predominância masculina, sendo 162.580 trabalhadores e 18.757 trabalhadoras. Desses, 60.759 tinham mais de 60 anos de idade, 113.592 tinham entre 30 e 60 anos e 6.986 tinham menos de 30 anos de idade. Uma parcela predominante mora na propriedade rural onde trabalha, 149.799 trabalhadores e 33.183 não moram na propriedade agrícola.

O município de Santo Amaro da Imperatriz está na região metropolitana de Florianópolis, e está localizado a aproximadamente 33 km da capital do estado de Santa Catarina, com as coordenadas 27° 41' 17" S e 48° 46' 43" W. A cidade de Santo Amaro da Imperatriz possuía uma população de 19.823 pessoas, de acordo com o último censo realizado em 2010 pelo IBGE, com população estimada para o ano de 2020 de 23.579 pessoas (IBGE, 2019; SEBRAE/SC, 2013).

#### 2.4 PESTICIDAS E DANOS DE DNA

Os danos ao DNA acarretam problemas moleculares ao homem, podendo ser, genômicos, teloméricos, epigenéticos, entre outros. Uma das consequências é a instabilidade genômica que se deve a possibilidade em sofrer mutações. Elas, por sua vez, possuem efeitos maléficos e já se sabe que são causas de ocorrência de doenças, inclusive as genéticas. Os danos são causados diariamente às células humanas, por agentes endógenos ou exógenos, porém, esses, em sua maioria, são detectados e removidos pelo sistema de reparo; alguns podem ser irreparáveis, reparados de forma errônea ou ainda reparados muito tarde, então esses danos se acumulam com o passar do tempo podendo até ocasionar doenças (FIGURA 1) (SCHUMACHER, et al, 2021).

Figura 1 – Dano de DNA.



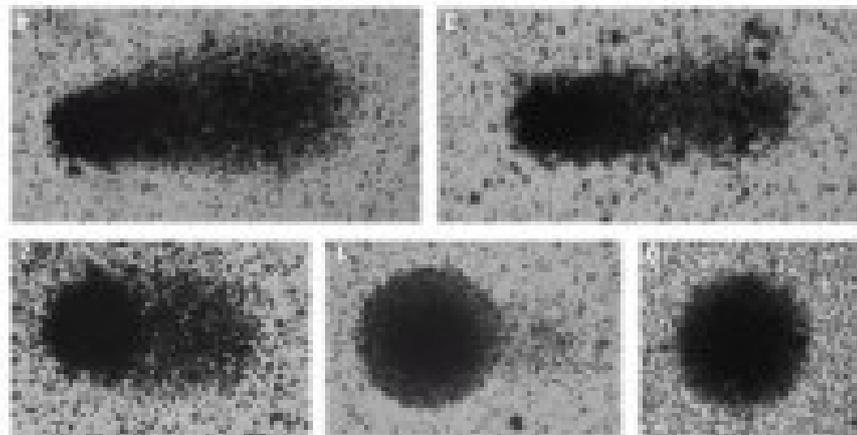
Fonte: Adaptado de SCHUMACHER; POTHOF; VIJG; HOEIJMAKERS, 2021. A figura demonstra fatores exógenos e endógenos atuando sob as células e levando a consequências moleculares, quando não detectado e removidos pelo sistema de reparo, o que leva ao declínio funcional, envelhecimento, inflamação e pode levar a doenças como câncer

A exposição ocupacional e contato a agentes genotóxicos pode causar danos ao organismo humano (BRUM, et al, 2020). Alguns estudos já realizados, apontaram propriedades mutagênicas em pesticidas, sendo considerados potencialmente genotóxicos, principalmente de trabalhadores rurais que utilizam os mesmos em sua produção. Trabalhadores expostos que não fazem o uso dos EPI tornam-se mais vulneráveis devido a inalação ou exposição dérmica aos agentes tóxicos, tornando-se propensos a desenvolver doenças devido aos efeitos citogenéticos dos pesticidas, como alguns tipos de câncer (mama, cólon, cérebro, pele, esôfago, pulmão, rim, bexiga, próstata, testículos, tireoide, colo do útero, reto, tecidos moles, leucemia e linfoma não-Hodgkin), diabetes, distúrbios cardiovasculares e neurológicos, doenças hematológicas e autoimunes, transtornos depressivos e infertilidade masculina (DA SILVA et al, 2008; K AUR *et al.* 2011; HILGERT JACOBSEN-PEREIRA et al., 2018; TOMIAZZI et al., 2018; KAHL et al, 2018b; BRUM, et al, 2020; NASCIMENTO *et al.*, 2021).

Atualmente, há duas ferramentas que são mais utilizadas no biomonitoramento da instabilidade genômica e são úteis para avaliar a genotoxicidade dos pesticidas são o ensaio Cometa e a técnica de Micronúcleos com Bloqueio da Citocinese Celular (Técnica Cítoma - CBMN). Visto que, ambas as técnicas permitem elucidar prováveis efeitos deletérios no DNA que podem ocorrer devido a exposição consecutiva dos trabalhadores (BURLINSON et al., 2007; FENECH, 2007).

O ensaio de Cometa é um teste que avalia quantitativamente e qualitativamente os danos de DNA esses danos ocorrem devido a lesões do DNA ainda passíveis de reparo que ocorrem devido às quebras de fitas simples ou duplas, *crosslinks* DNA-DNA, *crosslinks* DNA-proteínas e formações de sítios álcali-lábeis (BURLINSON et al., 2007). O ensaio Cometa é uma técnica baseada em eletroforese de célula única, onde o DNA com dano migra para o anodo após a eletroforese. Os danos visualizados na corrida eletroforética são medidos através da intensidade da migração, classificados em 5 classes de 0 a 4, sendo ausência de dano, dano mínimo, dano médio, dano intenso e dano máximo, respectivamente (Figura 2) (OLIVE; BANÁTH, 2006).

Figura 2 – Células submetidas ao ensaio Cometa coradas com solução de prata.



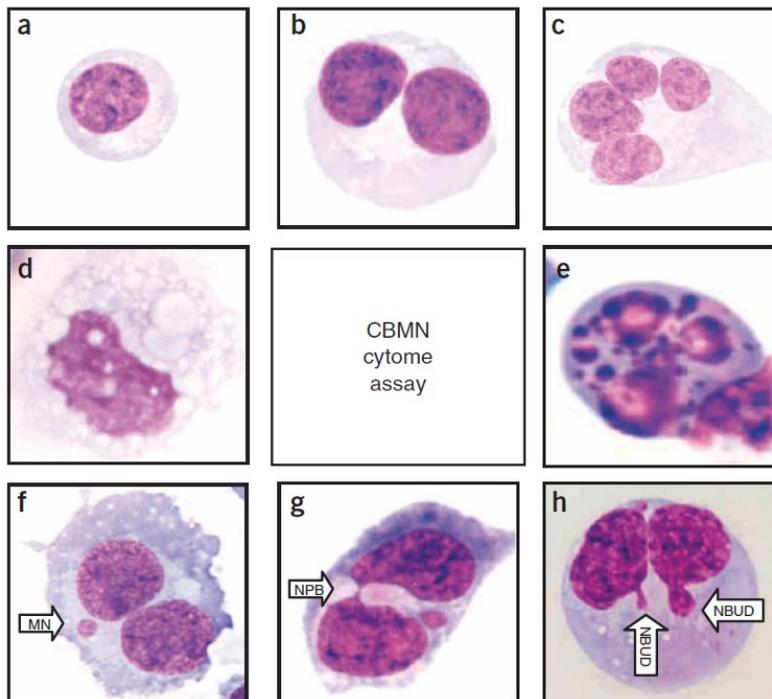
Fonte: Adaptado de Maluf S. W., 2011.

A figura demonstra as classes de dano de DNA, após a corrida eletroforética e coloração com prata do ensaio cometa. A classificação é feita como 0 para as células sem danos, 1 para as células com dano mínimo, 2 para células com dano médio, 3 para células com dano intenso e 4 para células com dano máximo.

A outra ferramenta utilizada no biomonitoramento da instabilidade genômica é a técnica de micronúcleos com bloqueio de citocinese celular (CBMN) em linfócitos de sangue periférico. A técnica de CBMN avalia o dano ao DNA após a atuação do sistema de reparo, essa técnica possibilita a avaliação da presença de micronúcleos (MN) que se dá devido a fragmentos cromossômicos ou de cromossomos inteiros que não tenham sido

incluídos no núcleo da célula filha durante a divisão celular. A formação de MN nas células em divisão é resultado de quebras ou perdas cromossômicas devido a lesões do DNA não reparadas; pontes nucleoplasmáticas (NPBs), reparos incorretos ou de erros durante o fuso mitótico com separação malsucedida dos cromossomos; e *buds* nucleares (BUDs), que são produtos da eliminação de DNA amplificado ou complexos de DNA reparado (Figura 3). Além disto, a técnica de MN possibilita a avaliação do índice mitótico, através da presença de células mononucleadas, binucleadas, trinucleadas e tetranucleadas e o nível de viabilidade celular, células em apoptose ou necrose. (Figura 4) (FENECH, 2007; FENECH et al., 2016).

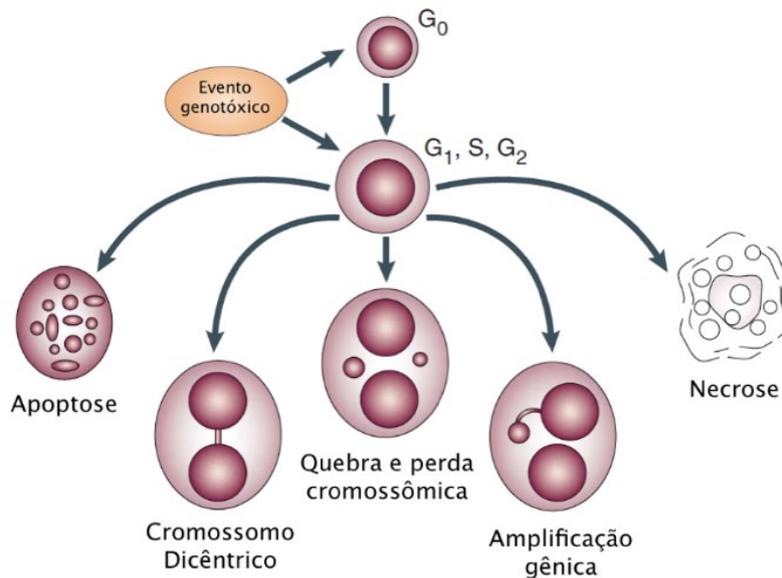
Figura 3 – Alterações encontradas pela técnica de Micronúcleo.



Fonte: Adaptado de Fenech *et. al.*, 2007

- a) célula mononucleada;
- b) célula binucleada;
- c) célula multinucleada;
- d) célula em necrose;
- e) célula em apoptose;
- f) célula com um micronúcleo;
- g) célula com um micronúcleo e uma ponte nucleoplasmática (NPB);
- h) célula apresentando dois *Buds*.

Figura 4 – Alterações encontradas pela técnica de Micronúcleo.



Fonte: Adaptado de Fenech *et. al.*, 2007

A Figura 4 demonstra os eventos gerados por eventos citotóxicos visualizados através da técnica de micronúcleo com bloqueio de citocinese celular. Pode-se observar os eventos de apoptose, necrose, e a formação de micronúcleo através de quebras e perdas cromossômicas, *buds* através da amplificação gênica e ponte a partir de cromossomos dicêntricos.

## 2.5 PARAMETROS BIOQUÍMICOS

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), entre outras espécies reativas, é parte integrante do metabolismo humano e é observada em diversas condições fisiológicas. ERO tem importante função biológica, como fagocitose, fenômeno em que essas espécies são produzidas para eliminar o agente agressor. Por outro lado, quando sua produção é exarcebada, o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante que consegue controlar e restabelecer o equilíbrio, após o estresse oxidativo (EO). Este é caracterizado pelo desequilíbrio entre as moléculas pró e antioxidantes, com predomínio daquelas pró-oxidantes, resultando na indução de danos celulares (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1995).

Tais danos podem atingir todos os tipos de moléculas, incluindo DNA, lipídeos, proteínas e carboidratos. Portanto, o EO pode estar envolvido em processos tais como

mutagênese, peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e danos a carboidratos, podendo ser consequências da depleção dos níveis de antioxidantes, ou do aumento da formação de EROs, contribuindo para os processos de envelhecimento e diferentes doenças (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1995).

Por mais que as respostas bioquímicas possam ser usadas como marcadores de exposição, nem todas as alterações bioquímicas levam a sintomas reconhecíveis dentro da clínica. Parâmetros bioquímicos vem sendo utilizados para monitorar os efeitos a exposição a pesticidas, sendo, uma delas, as colinesterases sanguíneas, utilizadas para o monitoramento de exposição a pesticidas organofosforados e carbamatos (REMOR, et al, 2009; BERNIERI, et. al., 2019).

A colinesterase é também conhecida como acetil colinesterase (AChE), é encontrada nos tecidos neurais e nos eritrócitos. Já a colinesterase presente no soro sanguíneo e sintetizada pelo fígado é chamada de pseudo ou butirilcolinesterase (BChE) (REMOR, et al, 2009; BERNIERI, et. al., 2019).

Estudos apontam para a associação entre a exposição aos pesticidas e a significativa redução de colinesterase nessas populações, sendo a AChE considerada um biomarcador para a exposição crônica aos pesticidas e BChE pode ser usada para a avaliação da exposição (BERNIERI, et. al., 2019). Por isso, esses parâmetros estão sendo considerados biomarcadores para análise dos riscos que a exposição aos pesticidas causa na saúde dos trabalhadores rurais (REMOR, et al, 2009; BERNIERI, et. al., 2019).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar os efeitos da exposição a pesticidas em marcadores de dano de DNA e parâmetros bioquímicos em uma população de agricultores expostos a misturas de pesticidas do município de Santo Amaro da Imperatriz/SC.

##### **3.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar os níveis de dano de DNA por meio da Técnica do Cometa em agricultores expostos a pesticidas;

- Avaliar a frequência de micronúcleos, de pontes nucleoplasmáticas, de brotos nucleares (“BUDs”), de células apoptóticas e necróticas e o índice mitótico através da Técnica do Citoma - MN em agricultores expostos a pesticidas;
- Avaliar os parâmetros bioquímicos: atividades de Butirilcolinesterase, Acetilcolinesterase e concentrações de Glicemia, Hemoglobina glicada, Peptídeo C, TSH, T3 total e Testosterona;
- Comparar os resultados obtidos com um grupo controle residente em Florianópolis;

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 ASPECTOS ÉTICOS**

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o número do parecer 507.310 (ANEXO III).

No contato com os participantes, foram oferecidos esclarecimentos a respeito do projeto e, nos casos de aceite, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO I) foi aplicado. Em seguida, os participantes responderam a um questionário (ANEXO II) contendo perguntas a respeito dos dados sociodemográficos, exposição a agentes químicos, história ocupacional, história clínica (câncer, diabetes, hipotireoidismo, problemas de audição, depressão e ansiedade), consumo de álcool e tabaco, procedência de alimentos e água, além do uso de medicamentos.

### **4.2 CAUSUÍSTICA**

#### **4.2.1 DESENHO AMOSTRAL**

Trata-se de um estudo de coorte retrospectiva onde foram avaliadas 61 amostras de agricultores expostos a pesticidas, entre 18 e 76 anos de idade, do município de Santo Amaro da Imperatriz, e 29 controles, sem histórico de exposição a pesticidas da cidade de Florianópolis. As amostras foram analisadas quanto a marcadores genéticos e bioquímicos.

Os 61 participantes foram avaliados levando-se em consideração a idade e o tempo de trabalho.

Foram incluídos, no grupo exposto, indivíduos com histórico de exposição a pesticidas como atividade laboral nos últimos 5 anos. A seleção dos agricultores contou com o apoio da Secretaria de Saúde do Município de Santo Amaro da Imperatriz a partir de uma pré-seleção dos indivíduos, realizada por uma agente de saúde do local.

#### 4.3 COLETAS, PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras de sangue periférico foram coletadas por profissionais treinados para coleta de sangue por punção venosa. Foram coletados 16 mL de sangue: 1 tubo com heparina e 3 tubos com EDTA (Ethylenediamine tetraacetic acid), cada tubo com 4 mL, que foram distribuídos para os laboratórios para a análise dos diferentes marcadores, cujas técnicas estão descritas abaixo.

As amostras de sangue total foram armazenadas a 4°C e processadas conforme as técnicas do ensaio cometa e micronúcleo com bloqueio da citocinese celular.

#### 4.4 ENSAIO COMETA

A técnica do cometa foi aplicada em sangue heparinizado. O protocolo utilizado para o Ensaio Cometa estava de acordo com o reportado por Singh e colaboradores, 1988 e Nadin e colaboradores, 2001. O teste foi realizado em concordância com o ensaio para amostras in vivo (TICE et al., 2000; HARTMANN et al., 2003).

##### 4.4.1 PREPARAÇÃO DE LÂMINAS

Para iniciar a técnica, a agarose de ponto de fusão normal (*Normal Melting Point* ou NMP), foi diluída em água, aquecida em forno de micro-ondas e colocada em cubas onde as lâminas lavadas e secas foram mergulhadas e um dos lados foi limpo com papel absorvente e levadas a estufa por 50 °C por 2 horas ou deixadas em temperatura ambiente por 12 horas, após este período as lâminas foram armazenadas em local seco.

No ensaio cometa, utilizou-se amostras de sangue heparinizados (5 µL) misturadas com agarose de baixo ponto de fusão (*Low Melting Point* ou LMP) (95 µL), espalhadas em

lâminas pré-cobertas com agarose de NMP, cobertas delicadamente com uma lamínula e depositadas em câmara fria, horizontalmente para endurecimento da agarose por 5 minutos, então retira-se cuidadosamente a lamínula. Foram confeccionadas duas lâminas por amostra.

Após essa etapa, as lâminas foram colocadas em solução de lise (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, pH 10,2, na qual 1% Triton X-100 e 10% DMSO foram adicionados) por um período de no mínimo 2 horas e no máximo 14 dias, sob refrigeração.

Após esse tempo na lise, as lâminas foram diretamente encaminhadas para a eletroforese.

#### **4.4.2 ELETROFORESE DE CÉLULA ÚNICA**

Para o processo da eletroforese, transfere-se as lâminas para a cuba de eletroforese, elas foram posicionadas de forma que não deixem brechas entre elas e então preparou-se um tampão (NaOH, EDTA 200 mM e água destilada em pH 10) que estava a 4 °C no momento do uso. As lâminas foram expostas a essa solução por 20 minutos, para possibilitar o desenovelamento do DNA e permitir a expressão dos sítios alcali-lábeis e das quebras de fita única. O DNA foi então submetido à eletroforese por 20 minutos (25 V; 300 mA; 0,9 V/cm). As lâminas foram removidas da cuba, limpas, lavadas cuidadosamente três vezes com solução neutralizadora (0,4 M Tris, pH 7,5) com 5 minutos entre cada lavagem e então foram lavadas três vezes com água destilada e deixadas secar por no mínimo 2 horas a 37 °C.

As lâminas foram fixadas, para isso, foram mergulhadas por 10 minutos em solução fixadora (ácido tricloroacético 15%, sulfato de zinco heptahidratado 5% e glicerol 5%), lavadas 3 vezes com água destilada e colocadas para secar por no mínimo 2 horas a 37 °C.

#### **4.4.3 COLORAÇÃO DAS LÂMINAS**

Então as lâminas passam pelo processo de coloração com uso da solução de prata (soluções A - carbonato de sódio 5% e B - nitrato de amônio 0,02%, nitrato de prata 0,02%, ácido tungstosilícico 0,1% e formaldeído 0,05%) e colocadas em cubetas contendo a solução de corante A+B por aproximadamente 30 minutos foram agitadas de tempo em tempo até atingirem uma coloração acinzentada. Então foram lavadas com água destilada e colocadas em solução de parada (ácido acético 1%) por 5 minutos e em seguida foram lavadas com água destilada e deixadas para secar em temperatura ambiente.

#### **4.4.4 LEITURA DAS LÂMINAS**

De acordo com Nadin e colaboradores (2001), para a avaliação de dano de DNA, uma lâmina de controle positivo foi colocada em cada eletroforese. A leitura das lâminas se deu por, 100 células por amostra foram analisadas, sendo 50 células por lâmina, sob aumento de 200x em microscópio óptico. As células foram classificadas de 0 (sem migração) a 4 (migração máxima), de acordo com a intensidade da cauda (tamanho e formato). Logo, o somatório total (índice de dano ou ID) para 100 células vai de 0 (todas as células sem migração) a 400 (todas as células com máxima migração).

#### **4.5 MICRONÚCLEOS COM O BLOQUEIO DA CITOCINESE CELULAR**

Esta técnica foi adaptada do protocolo publicado por Fenech em 2007.

##### **4.5.1 CULTURA CELULAR**

A técnica de micronúcleos foi aplicada nas amostras de sangue heparinizado. As amostras de sangue (10 gotas) foram colocadas em cultura contendo 5 mL de RPMI 1640 (ROSWELL PARK MEMORIAL INSTITUT) suplementado com 20% de soro bovino fetal e 0,2% de fito-hemaglutinina, a partir de 0,5 mL da amostra. Os frascos de cultura foram deixados em uma estufa a 37 °C por 44 h, após esse período, foi adicionado 4,5 g/mL de citocalasina B (Cyt B, Sigma), de acordo com o método descrito por (FENECH and MORLEY, 1985). A suspensão de células foi fixada em solução 3:1 de metanol e ácido acético, após tratamento hipotônico com KCL, e pingadas em lâminas limpas. Posteriormente as mesmas foram coradas com Giemsa.

##### **4.5.2 PREPARAÇÃO DE LÂMINAS**

As lâminas foram confeccionadas a partir da lavagem das hemácias, centrifugações e adições de solução fixadora até o momento que o sobrenadante ficou límpido. No momento do último descarte, cerca de 1 ml do sobrenadante, resultante das lavagens, foi mantido no falcon e ressuspendido.

Em seguida, duas a quatro gotas do material foram pingadas em uma lâmina. As lâminas foram lavadas com álcool 70% e mantidas em congelador por alguns minutos, antes do processo de confecção das lâminas, para formar uma camada fina de gelo e permitir que o material se espalhe pela superfície da lâmina.

Foram confeccionadas duas lâminas por indivíduo. As lâminas foram secas em temperatura ambiente e então foram coradas com solução giemsa 10% por oito minutos.

#### **4.5.3 LEITURA DE LÂMINAS**

As lâminas foram analisadas em duplicata no microscópio óptico, cotando 500 células por amostra para determinar o índice mitótico, foram contadas células mononucleadas, binucleadas, trinucleadas, tetranucleadas, células apoptóticas e necróticas. Foram analisadas as frequências de micronúcleos, pontes nucleoplasmáticas e “buds nucleares” em 2000 linfócitos binucleados, por indivíduo.

#### **4.6 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS**

Para avaliar os efeitos da exposição laboral a pesticidas em trabalhadores agrícolas, avaliamos as atividades dos seguintes parâmetros: Butirilcolinesterase, Acetilcolinesterase, Glicemia, Hemoglobina glicada, Peptídeo C, TSH, T3 total e Testosterona, realizados pelo setor de Toxicologia do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago.

Os ensaios bioquímicos foram realizados usando os kits da SIEMENS Dimension® clinical chemistry system, ADVIA Centaur®, ADVIA Centaur XP e ADVIA Centaur XPT.

##### **4.6.1 GLICOSE**

O método GLUC foi aplicado em soro sanguíneo, no sistema de química clínica Dimension® para determinação de glicose.

Foi utilizado o método GLUC utilizado no sistema de química clínica Dimension. Segundo Kunt e colaboradores 2008, esse é um método laboratorial clínico geral, uma adaptação do método hexoquinase-glicose-6-fosfato desidrogenase.

#### **4.6.2 BUTIRILCOLINESTERASE (BCHE) E ACETILCOLINESTERASE (ACHE)**

O método PCHE foi aplicado em soro sanguíneo, utilizando o sistema de química clínica Dimension® para determinação de Butirilcolinesterase e Acetilcolinesterase.

O método da pseudocolinesterase, descrita por Gal e Roth, (1957) baseia-se na reação do indicador de oxidação-redução acoplada.

#### **4.6.3 T3 TOTAL**

A determinação de T3 total foi realizada em amostra de soro do grupo caso. Para a determinação desse parâmetro, foi utilizado o ensaio ADVIA Centaur® T3, nos sistemas ADVIA Centaur® XP e ADVIA Centaur® XPT. O conjunto consiste em um imunoenensaio competitivo que utiliza tecnologia quimioluminescente direta.

#### **4.6.4 TESTOSTERONA**

O ensaio ADVIA Centaur® Testosterone II (TSTII) é utilizado na determinação quantitativa da testosterona total (ligada e não ligada), foi realizado em amostra de soro e plasma humanos. Para a determinação de testosterona foram utilizados os sistemas ADVIA Centaur, ADVIA Centaur XP e ADVIA Centaur XPT.

#### **4.6.5 PEPTÍDEO C**

Para a determinação de peptídeo C foram utilizadas amostras de soro, com o uso dos sistemas ADVIA Centaur® XP e ADVIA Centaur® XP, no ensaio ADVIA Centaur® C-peptide é um imunoenensaio que consiste na tecnologia de quimioluminescente direta para determinação quantitativa de peptídeo C.

#### **4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados foram analisados no programa SPSS, versão 21.0, utilizando-se Teste U de Mann-Whitney para comparações entre os grupos dos índices encontrados e correlações

de Sperman, para relacionar os dados avaliados com outros valores quantitativos. Para análise da distribuição das variáveis, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Será considerado significativo um nível de significância  $p \leq 0,05$ .

## **5 RESULTADOS**

Os dados apresentados adiante são referentes ao perfil da população estudada, marcadores de dano de DNA, alterações nucleares, índices mitóticos e suas associações com a exposição laboral a pesticidas.

### **5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA**

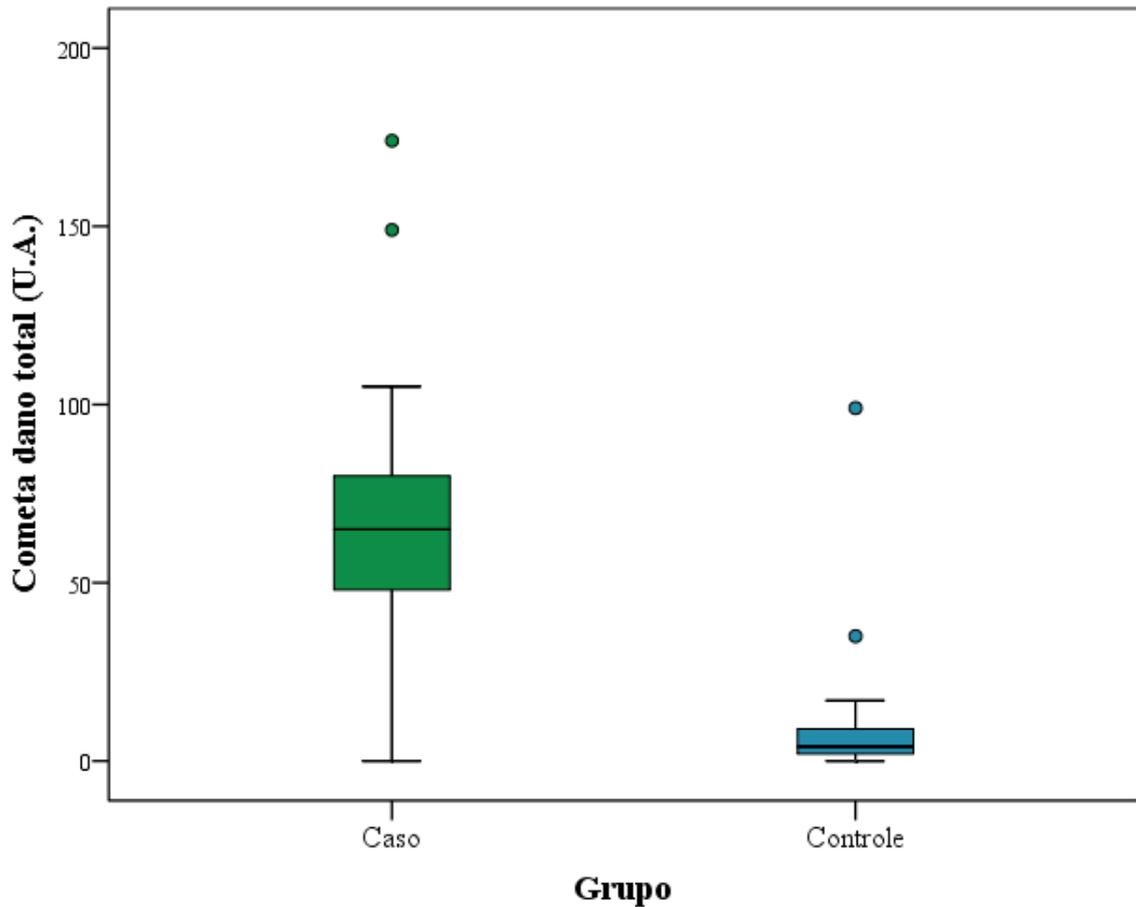
O perfil da população estudada foi determinada através de questionário respondido pelos participantes expostos a pesticidas (grupo caso) e pelos não expostos a pesticidas (grupo controle). No grupo caso, foram avaliadas 61 amostras, sendo 31 (50,82%) do sexo masculino e 29 (47,54%) do sexo feminino. O grupo controle foi composto de 29 amostras, sendo 14 (50%) do gênero masculino e 14 (50%) feminino. Já a idade média dos grupos foram  $50,64 \pm 12,39$  anos, com idade mínima de 19 e máxima de 76 e  $27,45 \pm 10,42$  anos, sendo 18 a idade mínima e 54 a máxima, nos grupos caso e controle, respectivamente.

### **5.2 MARCADORES DE DANO DE DNA**

#### **5.2.1 ENSAIO COMETA**

O índice de dano de DNA analisado através da técnica do cometa no grupo de agricultores teve média de  $63,33 \pm 32,83$ ; enquanto os controles apresentaram média de  $9,62 \pm 18,56$  (Tabela 2). A figura 5 mostra o aumento significativo do índice de dano do ensaio cometa no grupo exposto em comparação ao grupo controle.

**Figura 5.** Total de dano de DNA obtido pelo ensaio Cometa nos grupos avaliados.



Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: Os valores de Cometa dano total estão expressos em unidades arbitrárias. As linhas horizontais internas em cada grupo representam as medianas; *boxes e whiskers* representam os interquartis e valores mínimos e máximos respectivamente. O teste não paramétrico utilizado Shapiro Wilk para variáveis independentes  $p < 0,001$ . Grupo controle:  $n = 29$ ; grupo caso:  $n = 61$ .

### 5.2.2 Técnica de micronúcleos com bloqueio da citocinese celular

A frequência de MN no grupo caso apresentou-se aumentada em relação ao grupo controle ( $p < 0,001$ ), assim como a frequência de NBUD ( $p < 0,001$ ) e NPNP ( $p < 0,001$ ) (Tabela 2).

Tabela 2 – Resultados da técnica de micronúcleo com bloqueio da citocinese celular

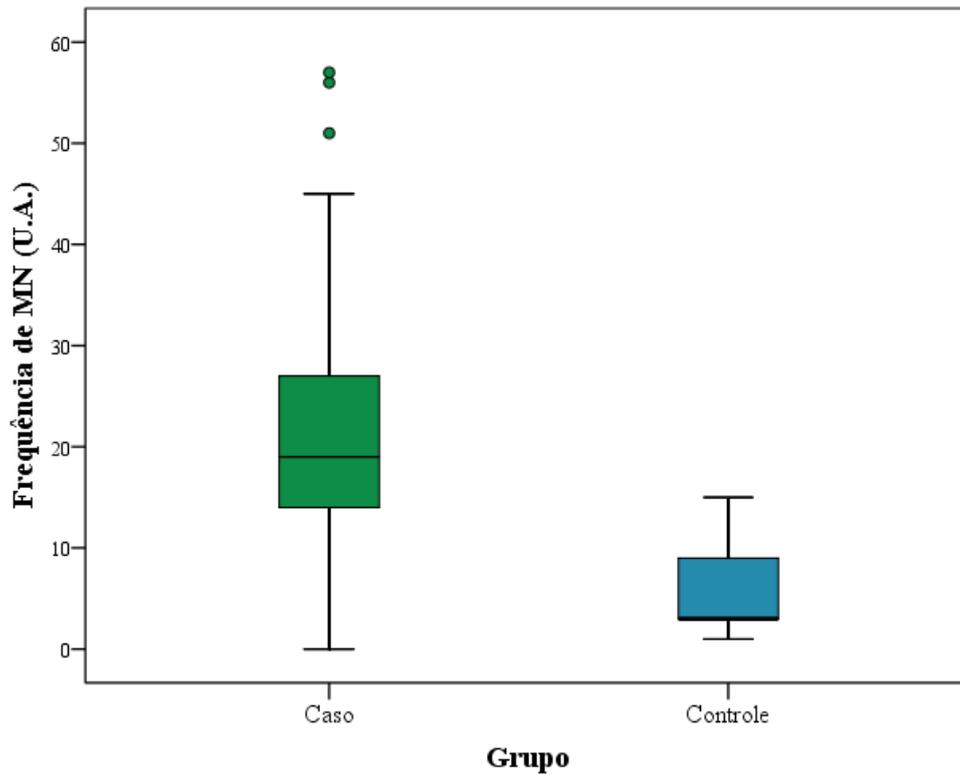
	<b>Grupo caso (n: 61)</b>	<b>Grupo controle (n: 29)</b>	<b>p**</b>
<b>MN</b> (média ± DP*) (mínimo – máximo)	21,11 ± 12,84 (0 -57)	5,62 ± 4,26 (1 -15)	p < 0,001
<b>BUD</b> (média ± DP*) (mínimo – máximo)	10,70 ± 10,62 (8 – 52)	2,14 ± 1,59 (0 – 5)	p < 0,001
<b>PNP</b> (média ± DP*) (mínimo – máximo)	13,62 ± 22,82 (0 – 168)	0,28 ± 0,75 (0 – 3)	p < 0,001
<b>IDN</b> (média ± DP*) (mínimo – máximo)	1,37 ± 0,33 (0 – 1,79)	1,76 ± 0,35 (1,14 – 2,8)	p < 0,001
<b>Cometa</b> (média ± DP*) (mínimo – máximo)	63,33 ± 32,83 (0 – 172)	9,62 ± 18,56 (0 – 99)	p < 0,001

Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: Os resultados foram expressos como unidades arbitrárias. Os valores estão representados como mediana seguida dos valores mínimo e máximo. MN: micronúcleos; BUD: *buds* nucleares; PNP: pontes nucleoplasmáticas; IDN: índice de divisão nuclear. O valor de p foi calculado mediante os testes *U* de Mann-Withney, de acordo com a distribuição da variável.

A Figura 6 mostra o aumento significativo da frequência de MN no grupo exposto em comparação ao grupo controle (Tabela 2).

**Figura 6.** Frequência de Micronúcleos nos grupos avaliados.

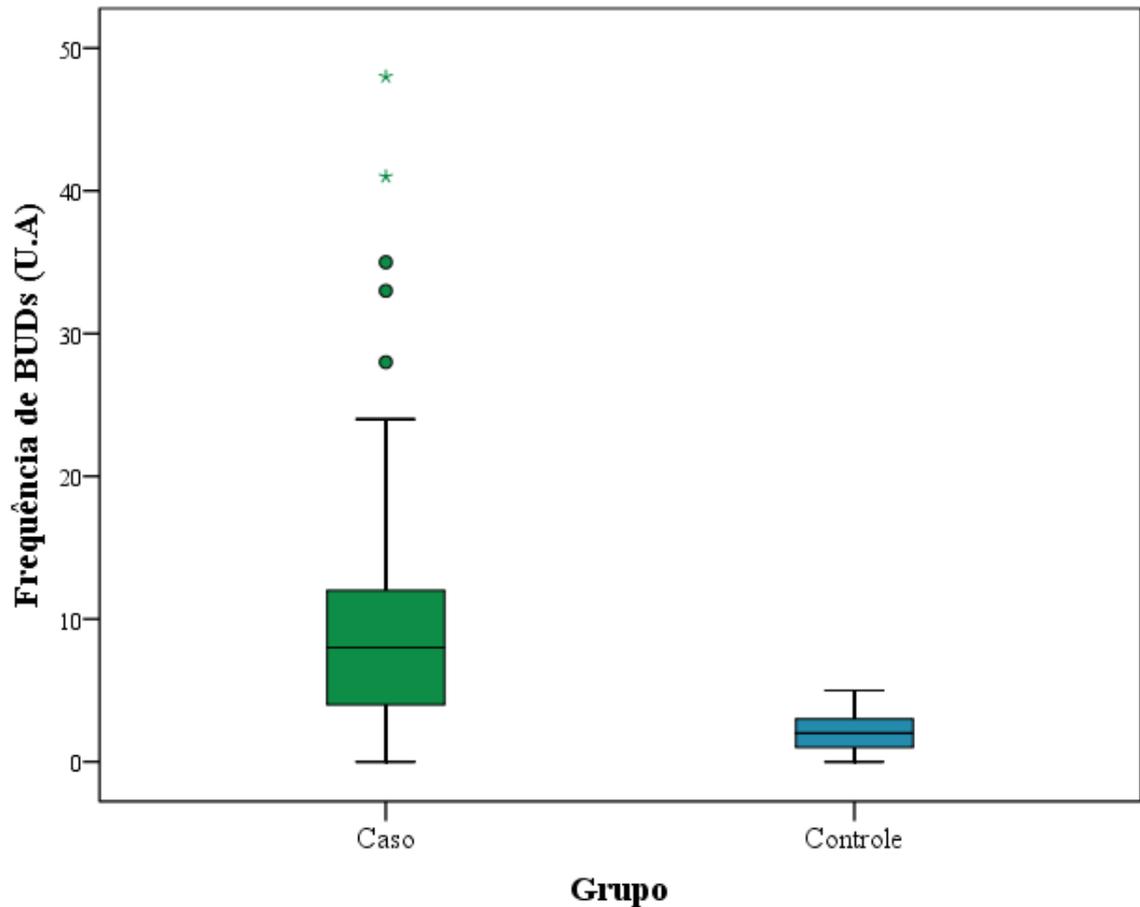


Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: Os valores de MN estão expressos em unidades arbitrárias. As linhas horizontais internas em cada grupo representam as medianas; *boxes e whiskers* representam os interquartis e valores mínimos e máximos respectivamente. O teste não paramétrico utilizado Shapiro Wilk para variáveis independentes  $p < 0,001$ . Grupo controle:  $n = 29$ ; grupo caso:  $n = 61$ .

A Figura 7 mostra o aumento significativo da frequência de *Buds* no grupo Exposto em comparação aos grupos controle (Tabela 2).

**Figura 7.** Frequência de *Buds* nos grupos avaliados.

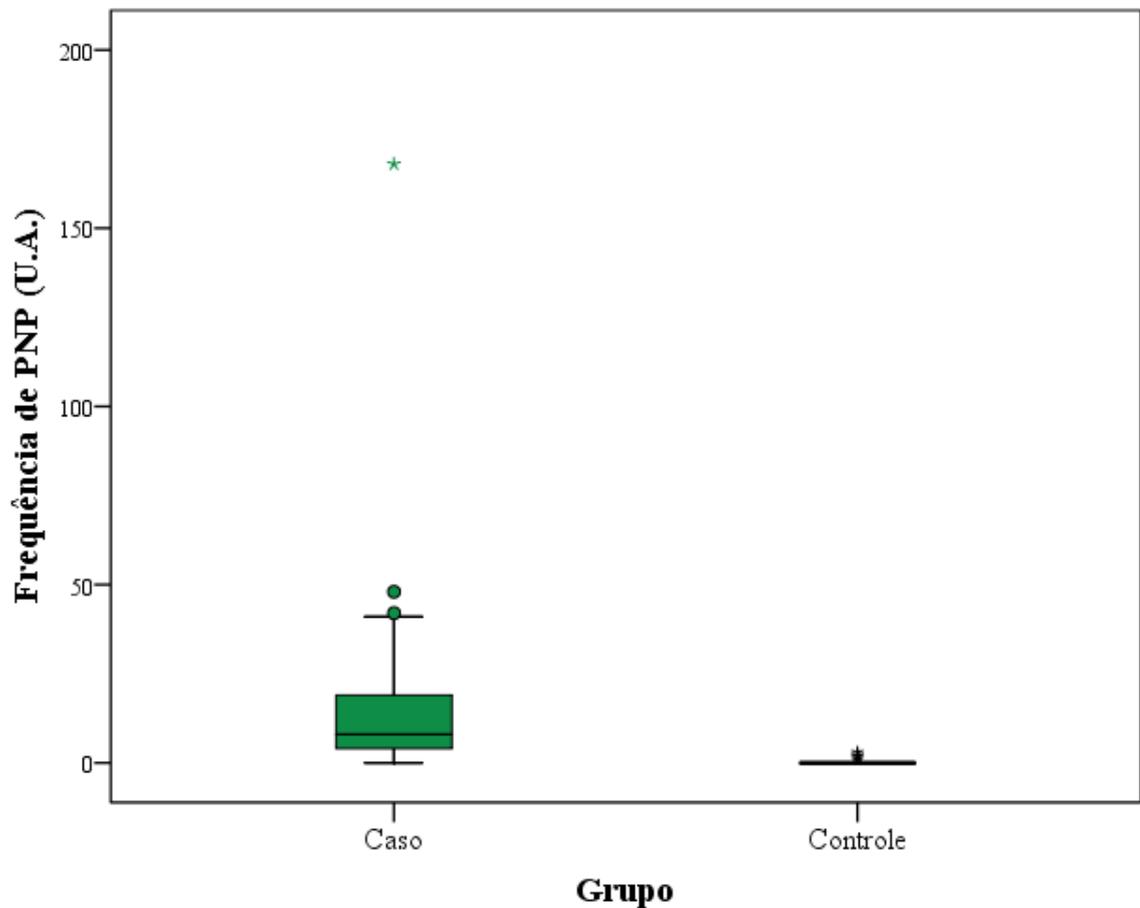


Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: Os valores de *Buds* estão expressos em unidades arbitrárias. As linhas horizontais internas em cada grupo representam as medianas; *boxes e whiskers* representam os interquartis e valores mínimos e máximos respectivamente. O teste não paramétrico utilizado Shapiro Wilk para variáveis independentes  $p < 0,001$ . Grupo controle:  $n = 29$ ; grupo caso:  $n = 61$ .

A Figura 8 mostra o aumento significativo da frequência de PNP no grupo Exposto em comparação aos grupos controle (Tabela 2).

**Figura 8.** Frequência de Pontes Nucleoplasmáticas nos grupos avaliados.



Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: Os valores de *PNP* estão expressos em unidades arbitrárias. As linhas horizontais internas em cada grupo representam as medianas; *boxes* e *whiskers* representam os interquartis e valores mínimos e máximos respectivamente. O teste não paramétrico utilizado Shapiro Wilk para variáveis independentes  $p < 0,001$ . Grupo controle:  $n = 29$ ; grupo caso:  $n = 61$ .

### 5.3 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Os valores de glicemia, hemoglobina glicada e peptídeo C apresentaram-se aumentados no grupo caso ( $p < 0,001$ ).

### 5.4 CORRELAÇÕES

Os dados quantitativos foram correlacionados utilizando o teste de correlação de Spearman. Foi observado correlação positiva entre idade e glicemia, idade e hemoglobina glicada, MN e BUD, PNP e BUD, PNP e apoptose, PNP e necrose, BUD e necrose, apoptose e necrose, apoptose e glicemia, necrose e peptídeo C, butirricolinesterase com testosterona,

glicemia e hemoglobina glicada, glicemia e peptídeo C, hemoglobina glicada e peptídeo C e hemoglobina glicada com testosterona.

A idade apresentou correlação positiva com Glicemia ( $p = 0,042$ ,  $\rho: 0,268$ ) e Hemoglobina glicada ( $p < 0,001$ ,  $\rho:0,463$ ). Em relação a Hemoglobina glicada, foi constatada correlação negativa com Testosterona ( $p = 0,024$ ,  $\rho:-0,290$ ) e positiva com Peptídeo C ( $p = 0,02$ ,  $\rho:0,399$ ). A frequência de MN está positivamente correlacionada com a frequência de BUD ( $p = 0,005$ ,  $\rho:0,359$ ) enquanto a frequência de BUD está positivamente correlacionada com necrose ( $p < 0,001$ ,  $\rho:0,414$ ) e houve uma correlação positiva entre PNP, BUD ( $p < 0,001$ ,  $\rho:0,632$ ), apoptose ( $p < 0,001$ ,  $\rho:0,454$ ) e necrose ( $p < 0,001$ ,  $\rho:0,467$ ). No que se refere a frequência de células em apoptose, houve uma correlação positiva na frequência de células em necrose ( $p < 0,001$ ,  $\rho:0,438$ ) e valores de glicemia ( $p = 0,002$ ,  $\rho:0,394$ ). A frequência de células em necrose apresentaram relação positiva com peptídeo C ( $p = 0,021$ ,  $\rho:0,298$ ), enquanto a glicemia teve correlação positiva com hemoglobina glicada ( $p < 0,001$ ,  $\rho:0,489$ ) e peptídeo C ( $p < 0,001$ ,  $\rho:0,438$ ). Também houve correlação positiva entre butiricol e testosterona ( $p = 0,006$ ,  $\rho:0,349$ ).

## 6 DISCUSSÃO

Os pesticidas são utilizados em grande escala na agricultura mundial, com intuito de prevenir, controlar ou matar as pragas que acometem as lavouras e assim elevar a produção agrícola, mas acabam representando um risco aos trabalhadores expostos, ao meio ambiente e à sociedade em geral (PIGNATI; MACHADO; CABRAL, 2007; KAUR et al., 2011). Atualmente, o mais comum de encontrar nas lavouras é a utilização de misturas de pesticidas e não apenas o uso de um único químico. O perigo do uso dessas formulações com múltiplos pesticidas é agravado por alguns ingredientes, como solventes e surfactantes, além do uso inadequado ou inexistente dos EPI. (KAHL et al., 2018a; NASCIMENTO, et al., 2021). Os efeitos desses pesticidas na saúde humana vem sendo investigados, por possuírem potencial tóxico, podendo acarretar mais riscos às populações expostas, como o aparecimento de alguns tipos de cânceres, doenças autoimunes, hematológicas, transtornos depressivos e infertilidade em homens (NASCIMENTO et al, 2021; KAHL et al., 2018 a; KAHL et al, 2018b; KAUR et al., 2011).

Alguns estudos já foram realizados analisando a genotoxicidade dos pesticidas, que resultaram em potencialmente mutagênicos, com elevadas frequências de danos de DNA

(KAUR *et al.* 2011; KAHL *et al.*, 2018 a). No presente estudo, os resultados demonstram aumento de danos ao DNA em trabalhadores expostos quando comparados ao grupo controle. Pode-se avaliar que os agricultores faziam o uso combinado de pesticidas, o que pode estar contribuindo para efeitos negativos, além de poucos agricultores usarem os EPI's, o que sugere que esses fatores combinados, estão relacionados as altas frequências de danos ao DNA nessas populações (KAUR *et al.* 2011). Em um estudo realizado por Piperakis e colaboradores em 2006, foram analisados os efeitos das misturas de pesticidas em trabalhadores agrícolas expostos, não foi observado aumento significativo nos danos ao DNA desses trabalhadores, quando comparados ao grupo controle, isso pode ser devido ao uso correto de EPI e exposição variável aos pesticidas. As diferenças que se observam quanto às condições de segurança dos trabalhadores, nos diferentes países estudados podem explicar as discrepâncias entre os resultados.

O DNA é suscetível a danos que podem ser causados por agentes endógenos ou exógenos (SCHUMACHER, *et al.*, 2021). As lesões ao DNA, que ainda possuem a possibilidade de reparo, representadas por quebras de fitas simples ou duplas, *crosslinks* DNA-DNA, *crosslinks* DNA-proteínas e alterações álcali-lábeis são avaliados pelo ensaio cometa (BURLINSON, *et al.*, 2007). Já quando os danos não são reparados ou são reparados de forma errônea, eles tendem a acumular-se no organismo e o acúmulo desses danos levam a mutações (LINDAHL; BARNES, 2000; BENEDETTI *et al.*; 2013). Os efeitos dessas exposições – endógenas e exógenas – podem ser medidas por parâmetros como: MN, PNP e *buds* que são danos que se apresentam em células que completaram a divisão nuclear (KAHL *et al.*, 2018b). As duas técnicas permitem a visualização de possíveis efeitos negativos no DNA, que nesse estudo em questão, podem ocorrer devido a exposição diária dos agricultores (BURLINSON *et al.*, 2007; FENECH, 2007).

Neste estudo, observamos que os agricultores expostos aos pesticidas, com atividade laboral por mais de 5 anos, apresentaram efeitos genotóxicos e mutagênicos, com o aumento dos danos ao DNA, que foi possível observar devido à alta instabilidade genômica se comparados aos indivíduos do grupo controle. Esses resultados já foram visualizados em outros estudos em trabalhadores expostos a pesticidas, como em Bernieri e colaboradores (2019), Godoy e colaboradores (2019) e Marcelino e colaboradores (2019). Foi encontrado um aumento importante no índice de dano de DNA nas células do grupo caso que foram submetidas aos dois tipos de ensaio, Cometa e a técnica de CBMN, assim como no estudo realizado por Jacobsen-Pereira e colaboradores (2018). Além desses, outros estudos também

relacionam a exposição laboral a pesticidas com efeitos genotóxicos e mutagênicos (REMOR, A. P., et al, 2009; BENEDETTI, D. et. al., 2013; KHAYAT, C. B., 2013; DA SILVA, et. al., 2014; ALVES, et. al., 2016; BENEDETTI, et. al., 2017; JACOBSEN-PEREIRA, et. al., 2018; KAHL, et al, 2018; BERNIERI, et al, 2019).

Em um estudo anterior de nosso grupo de pesquisa já havíamos detectado uma situação de risco em outra cidade de Santa Catarina (Antônio Carlos), onde tanto os agricultores, como moradores da área mais urbana mostraram marcadores de dano de DNA e alterações nucleares aumentados, com uma correlação positiva entre dois marcadores de dano genético: MN e *buds* (JACOBSEN-PEREIRA, et. al., 2018) e uma correlação positiva de PNP com apoptose e necrose. No presente estudo, a idade dos indivíduos demonstrou ter influência no aumento de glicemia e hemoglobina glicada, apresentando uma correlação positiva entre eles, também houve correlação positiva de glicemia, tanto com a hemoglobina glicada quanto com o peptídeo C. Este resultado é corroborado por outro estudo (PEREIRA, C., et al., 2013) que avaliou a relação entre hemoglobina glicada, parâmetros antropométricos, danos ao DNA e a citotoxicidade através de CBMN, utilizando como grupo caso pessoas com risco de desenvolver diabetes.

Encontrou-se uma correlação positiva entre os valores de glicemia e a frequência de apoptose, além de uma correlação entre glicemia e hemoglobina glicada. Essas correlações também foram visualizadas em estudo feito por Pereira e colaboradores (2013), onde foi demonstrado que há relação entre a hemoglobina glicada e glicemia, com dano ao DNA e citotoxicidade. Foram sugeridas duas possibilidades para a correlação entre citotoxicidade em Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), descrita por Franke, e colaboradores, em 2013: a primeira delas seria que a glicose se auto oxida, podendo causar morte celular; a segunda é a possibilidade de o ferro participar de diversas reações, que também pode levar a morte celular, sendo que o aumento da glicose no sangue (hiperglicemia) está associado a morte celular. Apesar de ainda ser um tema controverso, estudos demonstraram que a diabetes está associada ao aumento de danos de DNA e que elevadas taxas de hemoglobina glicada são preditores de complicações do diabetes (PEREIRA, C., et al., 2013; FRANKE *et al.*, 2013). Também foi encontrada correlação positiva do peptídeo C, com a glicemia e com a hemoglobina glicada, o que pode ser um indicativo de que o peptídeo C está elevado devido ao aumento de glicemia, onde altas contrações de glicemia e DM2 estão correlacionadas com inflamação e estresse oxidativo, podendo assim levar a morte celular. Esse resultado também foi relatado por Chen e colaboradores (2016), onde essa correlação foi observada

nos indivíduos com glicemia aumentada, como nos casos de DM2, no qual a insulina é produzida, mas sua ação é ineficiente devido à resistência a sua ação.

Foram avaliados, ainda, outros parâmetros bioquímicos, tais como Butirilcolinesterase, Aceticolinesterase, TSH, T3 total e Testosterona, mas, neste estudo, nenhum desses parâmetros mostrou ter influência nos marcadores de dano genético.

A soma da exposição aos pesticidas, o uso incorreto ou ausência de uso dos EPI, a falta de fiscalização e uso indiscriminado desses químicos têm evidenciado o quanto as populações expostas estão vulneráveis e em perigo constante de sofrerem danos à saúde. Estudos recentes têm indicado a importância do uso de EPI, como forma de proteção aos trabalhadores. A necessidade de programas educacionais para trabalhadores da área, novas políticas para fiscalização do uso de pesticidas, novas políticas para maior controle na liberação e da dependência que a agricultura brasileira tem deles, para assim, reduzir a cultura do uso de químicos nas lavouras (PINTO, et al., 2020; FERNANDES et al., 2020; PIGNATI et al., 2017; KAUR *et al.* 2011; PIGNATI; MACHADO; CABRAL, 2007).

## **7 CONCLUSÃO**

Os agricultores expostos aos pesticidas de forma laboral apresentaram aumento da frequência de MN, *Buds* e PNP se comparados aos indivíduos não expostos. No ensaio Cometa o índice de dano avaliado também foi maior no grupo exposto, demonstrando então o aumento dos danos ao DNA antes e após os mecanismos de reparo. Fatores como a idade não apresentaram ter influência significativa nos resultados obtidos.

Com isso, pode-se concluir que os agricultores expostos aos pesticidas, que participaram deste estudo, possuem uma probabilidade maior de ter danos genéticos e doenças relacionadas a esses danos, o que aponta a necessidade da redução do uso de pesticidas na agricultura brasileira.

## **8 PERSPECTIVAS**

Com esses resultados obtivemos uma perspectiva de realizar novos monitoramentos periódicos, após o retorno aos agricultores com os resultados da pesquisa inicial, para dessa forma buscar melhoras nos hábitos de uso dos pesticidas pelos trabalhadores rurais, além do uso correto e diário dos EPIs.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES JS, SILVA FRD, SILVA GFD, SALVADOR M, KVITKO K, ROHR P, SILVA JD (2016) **Investigation of potential biomarkers for the early diagnosis of cellular stability after the exposure of agricultural workers to pesticides.** Anais Da Academia Brasileira de Ciências 88(1):349-360.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Critérios para a classificação Toxicológica, 2016. Disponível em: <<http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/vz>. Acesso em: 05 mai. 2016.

ASHER, G. et al. **dossiê ABRASCO, um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde.** Escola Pol v. 161, 2015.

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

BENEDETTI D, LOPES BA, DE SOUZA CT, FERRAZ JD, Niekraszewicz L, CAPPETTA M, DA SILVA J (2017) **DNA damage and epigenetic alteration in soybean farmers exposed to complex mixture of pesticides.** *Mutagenesis* 33(1):87-95.

BERNIERI, T.; MORAES, M. F.; ARDENGHI, P. G.; BASSO DA SILVA, L. **Assessment of DNA damage and cholinesterase activity in soybean farmers in southern Brazil: High versus low pesticide exposure.** *Journal of Environmental Science and Health* 2019; 23: 1-6.

BEZERRA, J. G.; SCHLINDWEIN, M. M., Agricultura familiar como geração de renda e desenvolvimento local: uma análise para Dourados, MS, Brasil. **INTERAÇÕES**, v. 18, n. 1, p. 3-15, jan./mar. 2017.

BRASIL. **Saúde Brasil 2017: uma análise da situação de saúde e os desafios para o alcance dos objetivos de desenvolvimento sustentável.** 2017.

BRASÍLIA. Estratégias de acesso a mercados para agricultura familiar. **Unicafes.** 2013.

BRUM, E. S. *et al.* DNA damage and inflammatory response in workers exposed to fuels and paints. **Archives Of Environmental & Occupational Health**, p. 1-11. jun. 2020.

BURLINSON, B. et al. Fourth International Workgroup on Genotoxicity testing: Results of the in vivo Comet assay workgroup. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 627, n. 1, p. 31–35, 2007.

CHAVES, Tatiana Vieira Souza *et al.* Occupational and life-style factors-acquired mutagenicity in agric-workers of northeastern Brazil. **Environmental Science And Pollution Research.** Piaui, p. 1-8. abr. 2017.

CHEN, Chunye *et al.* Therapeutic effects of soluble dietary fiber consumption on type 2 diabetes mellitus. **Experimental And Therapeutic Medicine**. p. 1232-1242. maio 2016.  
 CRUZ, F. T., Agricultura familiar, processamento de alimentos e avanços e retrocessos na regulamentação de alimentos tradicionais e artesanais. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, 58(2), e 190965, 2020.

DA SILVA, FR, Kvitko K, Rohr P, Abreu MB, Thiesen FV, Da Silva J (2014) **Genotoxic assessment in tobacco farmers at different crop times**. Science of The Total Environment 490:334-341.

EPAGRI. Agropecuária Catarinense. Florianópolis: **Epagri**, v. 33, n. 3, 2020.

FRANKE, Silvia Isabel Rech *et al.* Vitamin C Intake Reduces the Cytotoxicity Associated with Hyperglycemia in Prediabetes and Type 2 Diabetes. **Biomed Research International**. Porto Alegre, p. 1-7. jun. 2013.

FENECH, M.; MORLEY, A. A.; Solutions to the kinetic problem in the micronucleus assay. **Cytobios**, v. 43, p. 233-246, 1985.

FENECH, M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. **Nature Protocols**, v. 2, n. 5, p. 1084–1104, 2007.

FENECH, M. et al. Molecular mechanisms by which in vivo exposure to exogenous chemical genotoxic agents can lead to micronucleus formation in lymphocytes in vivo and ex vivo in humans. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 770, p. 12–25, 2016.

FERNANDES, C. L. F. et al. Distribution of pesticides in agricultural and urban soils of Brazil: A critical review. **Environmental Science: Processes and Impacts**, v. 22, n. 2, p. 256–270, 2020.

GABOARDI S. C. Notas sobre a utilização de agrotóxicos em Santa Catarina e no Brasil. (2009-2017). Francisco Beltrão - Paraná: **Ambientes: Revista de Geografia e Ecologia Política**, v. 1, 2019.

GODOY, F. R.; NUNES, H. F.; ALVES, A. A.; CARVALHO, W. F.; FRANCO, F. C.; PEREIRA, R. R.; DE MELO E SILVA, D. **Increased DNA damage is not associated to polymorphisms in OGG1 DNA repair gene, CYP2E1 detoxification gene, and biochemical and hematological findings in soybeans farmers from Central Brazil**. Environmental Science and Pollution Research 2019; 26 (6): 26553 - 26562.

GROVER, P. et al. Evaluation of genetic damage in workers employed in pesticide production utilizing the Comet assay resulting in the need for increased production of pesticides . potential carcinogens . Therefore , in the current study pesticides of Indian pesticide produ. **Mutagenesis**, v. 18, n. 2, p. 201–205, 2003.

HARTMANN, A. et al. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. **Mutagenesis**, v. 18, p. 45-51, 2003.

HALLIWELL B; GUTTERIDGE, John. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. **Free Radical Biology And Medicine**, v. 18, n. 1, p. 125-126, 1995.

HILGERT JACOBSEN-PEREIRA, C. et al. Markers of genotoxicity and oxidative stress in farmers exposed to pesticides. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 148, n. September 2017, p. 177–183, 2018.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2019. Resultado dos Dados Cidades e Estados – 2019. [www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/sc/santo-amaro-da-imperatriz.html](http://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/sc/santo-amaro-da-imperatriz.html)

KAHL a, Vivian Francilia Silva *et al.* Base excision repair (OGG1 and XRCC1) and metabolism (PON1) gene polymorphisms act on modulation of DNA damage and immune parameters in tobacco farmers. **Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis**, p. 9-18. dez. 2018.

KAHL b, Vivian F. Silva *et al.* Occupational Exposure to Pesticides in Tobacco Fields: The Integrated Evaluation of Nutritional Intake and Susceptibility on Genomic and Epigenetic Instability. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, p. 01-13. jun. 2018.

KANEKO, H. Pyrethroids: Mammalian Metabolism and Toxicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (2011), 59, 2786–2791.

KAPKA-SKRZYPCZAK, L. et al. Assessment of DNA damage in Polish children environmentally exposed to pesticides. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 843, n. December 2018, p. 52–56, 2019.

KAUR, R., KAUR, S., LATA, M. Evaluation of DNA damage in agricultural workers exposed to pesticides using single cell gel electrophoresis (comet) assay. *Indian Journal of Human Genetics*. 17.3 (September-December 2011), 179.

KHAYAT, Carolinne Borges *et al.* Assessment of DNA damage in Brazilian workers occupationally exposed to pesticides: a study from central Brazil. **Environmental Science And Pollution Research**, [S.L.], v. 20, n. 10, p. 7334-7340, 3 maio 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-013-1747-1>.

LINDAHL, T.; BARNES, D. E. Repair of endogenous DNA damage. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 65, p. 127–133, 2000.

LOPES, Carla Vanessa Alves; ALBUQUERQUE, Guilherme Souza Cavalcanti de. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em Debate**, [S.L.], v. 42, n. 117, p. 518-534, jun. 2018. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0103-1104201811714>.

MALUF, Sharbel Weidner. **Citogenética Humana**. Florianópolis: Artmed, 2011.

MUÑOZ-QUEZADA, M.T., *et al.* Neurodevelopmental effects in children associated with

exposure to organophosphate pesticides: A systematic review. *NeuroToxicology* 39 (2013), 158–168.

MUÑOZ-QUEZADA, M.T., *ET AL.* PREDICTOR OF EXPOSURE TO ORGANOPHOSPHATE PESTICIDES IN SCHOOLCHILDREN IN THE PROVINCE OF TALCA, CHILE. *ENVIRONMENTAL INTERNACIONAL* (2012), 47:28–36.

MARCELINO, A.; WACHTEL, C.; GHISI, N. **Are Our Farm Workers in Danger? Genetic Damage in Farmers Exposed to Pesticides.** *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2019; 16 (3): 358.

MARTINS, T. *Herbicide paraquat: concepts, mode of action and related diseases.* *Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina*, (2013), v. 34, n. 2, 175-186.

NADIN, S. B. VARGAS-ROIG, L. M. CIOCCA, D. R. A silver staining method for single-cell gel assay. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry.** v. 49 p. 1183-1186. 2001.

NAEHER, L., *ET AL.* ORGANOPHOSPHORUS AND PYRETHROID INSECTICIDE URINARY METABOLITE CONCENTRATIONS IN YOUNG CHILDREN LIVING IN A SOUTHEASTERN UNITED STATE CITY. *SCIENCE OF TOTAL ENVIRONMENT* (2010), 408: 1145–53.

NASCIMENTO, Felipe de Araújo *et al.* Farmers exposed to pesticides have almost five times more DNA damage: a meta-analysis study. **Environmental Science And Pollution Research.** Goiânia, p. 1-12. jul. 2021.

OLIVE, P. L.; BANÁTH, J. P. The comet assay: A method to measure DNA damage in individual cells. **Nature Protocols**, v. 1, n. 1, p. 23–29, 2006.

PEREIRA, Camila Schreiner *et al.* DNA damage and cytotoxicity in adult subjects with prediabetes. **Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis.** Porto Alegre, p. 76-81. fev. 2013.

PIGNATI, W. A. et al. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: Uma ferramenta para a vigilância em saúde. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 22, n. 10, p. 3281–3293, 2017.

PIGNATI, W. A.; MACHADO, J. M. H.; CABRAL, J. F. Acidente rural ampliado: O caso das “chuvas” de agrotóxicos sobre a cidade de Lucas do Rio Verde - MT. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 105–114, 2007.

PINTO, Bruna Gabriele Silva *et al.* Occupational exposure to pesticides: Genetic danger to farmworkers and manufacturing workers - A meta-analytical review. **Science Of The Total**

**Environment.** Paraná, p. 1-14. dez. 2020.

Piperakis SM, Kontogianni K, Siffel C, Piperakis MM. Measuring the effects of pesticides on occupationally exposed humans with the comet assay. *Environ Toxicol.* 2006;21(Suppl 4):355–9.

REMOR, Aline Pértile *et al.* Occupational exposure of farm workers to pesticides: Biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. **Environment Internationa**, p. 273-278. ago. 2009.

SANTA CATARINA- Secretaria de Estado da Saúde de Santa Catarina. *Proposta de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos em Santa Catarina.* Florianópolis, 2013

SANTA CATARINA- Secretaria de Estado da Agricultura, da Pesca e do Desenvolvimento Rural. Florianópolis, 2019.

SAXENA, A.K. *et al.* Modelling inhibition of avian aromatase by azole pesticides. *Environmental Research*, 2015 Sep 2; 26(7-9): 757–782.

SCHUMACHER, B.; POTHOF, J.; VIJG, J.; HOEIJMAKERS, J. H. J.. The central role of DNA damage in the ageing process. **Nature**, [S.L.], v. 592, n. 7856, p. 695-703, 28 abr. 2021.

SEBRAE/SC. Santa Catarina em números: Santo Amaro da Imperatriz/Sebrae/SC. Florianópolis: Sebrae/SC, 2013.

SINGH, Narendra P.; MCCOY, Michael T.; TICE, Raymond R.; SCHNEIDER, Edward L.. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Experimental Cell Research**, [S.L.], v. 175, n. 1, p. 184-191, mar. 1988. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](http://dx.doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0).

TICE, R., *et al.* Single cell gel/comet assay: Guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis** v. 35 p. 206-221, 2000.

TOMIAZZI, J. S. *et al.* Evaluation of genotoxic effects in Brazilian agricultural workers exposed to pesticides and cigarette smoke using machine-learning algorithms. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 2, p. 1259–1269, 2018.

TORESAN, L.; PADRÃO, G. A.; GOULART JUNIOR, R.; ALVES, J. R.; MONDARDO, M. **Indicadores de desempenho da agropecuária e do agronegócio de Santa Catarina: 2018 e 2019.** Florianópolis, SC: Epagri, 2019. 67p. (Boletim Técnico, nº 191)

## ANEXO I

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Universidade Federal de Santa Catarina  
 Centro de Ciências da Saúde  
 Departamento de Patologia

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU LEGAL RESPONSÁVEL**

1. Nome do Paciente: \_\_\_\_\_  
 Telefone \_\_\_\_\_
2. Nome da mãe: \_\_\_\_\_
3. Sexo: ( ) M      ( ) F      Data de  
 Nascimento:...../...../.....

**II – DADOS SOBRE A PESQUISA**

**1. Título do Protocolo de Pesquisa:** Estudo de população exposta ocupacionalmente a agrotóxicos

**2. Pesquisador Principal:** Claudia Regina dos Santos      **Cargo/Função:** Professor Adjunto IV

**Departamento da UFSC:** Departamento de Patologia

**III – EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA:**

1. Este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos dos agrotóxicos na sua saúde. Esclarecemos ainda que somente serão analisados os pontos descritos, não sendo, portanto realizados outros exames.
2. Aceitando participar deste estudo, você responderá um questionário que tem por objetivo conhecer um pouco de seus hábitos, seu estado de saúde e seu histórico relacionado ao trabalho. Você será encaminhado ao Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina onde será avaliado por um endocrinologista e neurologista e as informações contidas no seu prontuário poderão consultadas no decorrer da pesquisa.
3. Serão realizadas, dependendo da necessidade exames por imagem (ultrassonografias) E ainda, será coletada de sua pessoa uma amostra de sangue (20 mL), ou por ventura uma segunda amostra se for necessária nova avaliação. No seu sangue serão avaliados parâmetros relacionados à função endócrinológica, hematológica, reumatológica, e indicadores de exposição, efeito e genotoxicidade.
4. A coleta será realizada por profissional qualificado, utilizando material descartável, seguindo os procedimentos de assepsia adequados, garantindo assim a sua integridade física.

1. Todas as análises serão realizadas, de modo a não representar nenhum custo financeiro, para você.
2. Você terá acesso a todos os resultados e caso necessite o encaminhamento para acompanhamento.

---

#### **IV – ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA**

1. Você tem assegurado o direito de a qualquer momento do estudo solicitar informações esclarecedoras sobre o andamento dos procedimentos, bem como dos eventuais riscos e benefícios relacionados a sua participação neste estudo, através dos telefones **(48) 37215069/91486213** (pesquisador), **37219206** (Comitê de Ética em Pesquisa) ou e-mail [claudia.santos@ufsc.br](mailto:claudia.santos@ufsc.br).
2. Fica assegurado também que no caso de eventual intercorrência no momento da coleta, o Sr. receberá tratamento adequado e será monitorado até que sua condição de saúde se restabeleça. (Não são esperados problemas deste tipo, no entanto é importante garantir assistência no caso de qualquer intercorrência relacionada ao projeto).
3. Os pesquisadores declaram que cumprirão as exigências contidas na Resolução CNS 466/2012 e que o sigilo dos participantes será garantido durante todas as etapas da pesquisa, inclusive na divulgação dos resultados. Os resultados do estudo serão publicados sem revelar sua identidade, entretanto estarão disponíveis para consulta pela equipe envolvida no projeto, e pelo Comitê de Ética.

---

#### **V – CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO**

Concordo em participar do presente Protocolo de Pesquisa bem como com a utilização dos dados coletados, desde que seja mantido o sigilo de minha identificação, conforme normas do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos. A minha participação é voluntária podendo ser suspensa a qualquer momento. Pelo presente consentimento, declaro que fui esclarecido sobre a pesquisa a ser realizada, de forma detalhada, livre de qualquer constrangimento e obrigação, e que recebi uma cópia deste termo, assinada pelos pesquisadores.

Florianópolis, ..... de ..... de 201...

---

Assinatura do participante  
Principal

---

Claudia Regina dos Santos - Pesquisador

(48)37215069 / 91486213  
Email: [claudia.santos@ufsc.br](mailto:claudia.santos@ufsc.br)

ANEXO II  
 UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
 HOSPITAL UNIVERSITÁRIO  
 Questionário  
 AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL A AGROTÓXICOS

1. Questionário número: ___
2. Data: __/__/__
3. Localidade: _____
<b>DADOS SÓCIO-DEMOGRÁFICOS – PARTE I</b>
4. Nome do entrevistado: _____
5. Data de nascimento: __/__/__
6. Idade: ___ anos completos
7. Local de nascimento: cidade _____ estado ___
<b>EXPOSIÇÃO A AGENTES QUÍMICOS (Assinale quando SIM)</b>
8. O que você planta? _____
9. Quanto você produz anualmente? _____
10. Qual o período da(s) safra(s)? _____ _____
11. Quando você faz a aplicação de agrotóxicos durante a safra? _____ _____
12. Quantas horas duram as aplicações? _____
13. Em qual turno você normalmente aplica? ( ) matutino ( ) vespertino
14. Quais agrotóxicos você utiliza atualmente? - _____ _____ _____ _____
15. Você se lembra qual agrotóxicos você mais usava a 20 anos atrás? _____
16. Como você compra os agrotóxicos? ( ) Com receita ( ) Sem receita
17. Você lê as bulas antes de utilizar o produto? ( ) Sim ( ) Não
18. Quantas vezes por semana você utiliza ( ) Uma ( ) Pelo menos duas ( ) 3 ou mais
19. O que você faz com o agrotóxico? ( ) Prepara a calda ( ) aplica o produto

20. Como você faz a aplicação? ( ) Pulverizador costal ( ) Máquina 21. Quando foi a sua última exposição? ____ horas ou ____ dias 22. Qual(is) foi(RAM) o agrotóxico(s) utilizado(s)? _____ _____		
23. Você utiliza algum EPI? ( ) Sim ( ) Não 24. Qual EPI você utiliza? ( ) Máscaras ( ) Luvas ( ) Botas ( ) Roupas de manga comprida 25. Após o manuseio do agrotóxico você: ( ) continua normalmente suas atividades ( ) Lava as mãos antes de continuar suas atividades ( ) Toma banho antes de continuar suas atividades 26. Ao aplicar os agrotóxicos molha a roupa: ( ) Todos os dias ( ) Às vezes		
<b>HISTÓRIA OCUPACIONAL (escrever no verso se necessário)</b>		
27. Quantos anos você tinha quando começou a trabalhar? ____ anos		
28. Que trabalhos executou desde então? Por quanto tempo?		
FUNÇÃO/ATIVIDADE	EMPRESA OU LOCALIDADE, MUNICÍPIO	PERÍODO
a.		
b.		
c.		
d.		
<b>Conferir se o tempo de trabalho referido nas perguntas acima corresponde ao tempo de trabalho de toda história Ocupacional. Se não, completar.</b>		
<b>HISTÓRIA CLÍNICA</b>		
29. Quantas intoxicações por agrotóxicos você já teve ao longo da vida? _____		
30. Queixa atual:		
31. História Progressiva da moléstia atual: (início, duração, característica do sintoma no início, evolução, relação com outras queixas, situação atual).		

32. Você tem filhos?    ( ) sim ( ) não
33. Você teve alguma complicação na gravidez? ( )sim ( )não Qual? _____
34. Já teve algum aborto espontâneo?    ( )sim ( )não Quantos?
<b>EXAME FÍSICO</b>
35. Estado Geral: ( )bom ( )regular ( )ruim
36. PESO:
37. ALTURA:
38. Frequência Respiratória:
39. Pressão Arterial:
40. Pulso:
<b>INTERROGATÓRIO SOBRE DIFERENTES PATOLOGIAS</b>
<b>DIABETES</b>
41. VOCÊ TEM DIABETES            ( ) SIM ( ) NÃO    HÁ QUANTO TEMPO? _____ ANOS
42. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM DIABETES            ( ) SIM ( ) NÃO 50. Quem: _____ Há quanto tempo? _____ anos
<b>7.1 HIPOTIREOIDISMO</b>
51. VOCÊ TEM HIPOTIREOIDISMO            ( ) SIM ( ) NÃO    HÁ QUANTO TEMPO? _____ ANOS
52. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM HIPOTIREOIDISMO            ( ) SIM ( ) NÃO
53. QUEM: _____ HÁ QUANTO TEMPO? _____ ANOS
<b>7.2 AUDIÇÃO</b>
54. VOCÊ TEM ALGUM PROBLEMA DE AUDIÇÃO? ( ) SIM ( ) NÃO    HÁ QUANTO TEMPO? _____ ANOS
55. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE            ( ) SIM ( ) NÃO
56. QUEM: _____ HÁ QUANTO TEMPO? _____ ANOS
<b>7.3</b>
57. VOCÊ APRESENTA ALGUMA DIFICULDADE PARA ENTENDER A FALA QUANDO HÁ VÁRIAS PESSOAS FALANDO AO MESMO TEMPO, OU QUANDO HÁ RUÍDO COMPETITIVO? 7.4( ) SIM ( ) NÃO    HÁ QUANTO TEMPO? _____ ANOS
58. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE            ( ) SIM ( ) NÃO
59. QUEM: _____ HÁ QUANTO TEMPO? _____ ANOS

<p><b>7.5</b></p> <p>60. VOCÊ TEM ZUMBIDO? ( ) SIM ( ) NÃO HÁ QUANTO TEMPO? ___ANOS</p> <p>61. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE ( ) SIM ( ) NÃO</p> <p>62. QUEM: _____ HÁ QUANTO TEMPO? _____ANOS</p> <p><b>7.6</b></p> <p>63. VOCÊ TEM TONTURA? ( ) SIM ( ) NÃO HÁ QUANTO TEMPO? ___ANOS</p> <p>64. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE ( ) SIM ( ) NÃO</p> <p>65. QUEM: _____ HÁ QUANTO TEMPO? _____ANOS</p> <p><b>7.7</b></p> <p>66. AS PESSOAS DA SUA FAMÍLIA RECLAMAM QUE VOCÊ NÃO ESCUTA BEM?</p> <p>67. ( ) SIM ( ) NÃO HÁ QUANTO TEMPO? ___ANOS</p> <p>68. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE ( ) SIM ( ) NÃO</p> <p>69. QUEM: _____ HÁ QUANTO TEMPO? _____ANOS</p> <p><b>7.8</b></p> <p>70. VOCÊ TEM OU TEVE EXPOSTO AO RUÍDO?</p> <p><b>7.9</b> ( ) SIM ( ) NÃO POR QUANTO TEMPO? ___ANOS</p> <p><b>7.10</b> HÁ QUANTO TEMPO? ___ANOS</p>
<p><b>7.11 EPILEPSIA</b></p> <p>71. VOCÊ TEM OU TEVE CRISES (ATAQUES, ACESSO, CONVULSÃO) NA QUAL PERDE A CONSCIÊNCIA E CAI SUBITAMENTE? ( ) SIM ( ) NÃO HÁ QUANTO TEMPO? _____ANOS</p> <p>72. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE ( ) SIM ( ) NÃO</p> <p>73. QUEM: _____ HÁ QUANTO TEMPO? _____ANOS</p> <p>74. VOCÊ TEM OU TEVE CRISES EM QUE PERDE O CONTATO COM A REALIDADE (MEIO) E FICA COMO SE ESTIVESSE FORA DO AR ? ( ) SIM ( ) NÃO HÁ QUANTO TEMPO? _____ANOS</p> <p>75. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE ( ) SIM ( ) NÃO</p> <p>76. QUEM: _____ HÁ QUANTO TEMPO? _____ANOS</p> <p>77. VOCÊ TEM OU TEVE CRISES NA QUAL TEM REPUXÕES INCONTROLÁVEIS EM BRAÇOS, PERNAS, NA BOCA OU VIRA A CABEÇA PARA O LADO?</p> <p><b>7.12</b> ( ) SIM ( ) NÃO HÁ QUANTO TEMPO? ___ANOS</p> <p>78. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE ( ) SIM ( ) NÃO</p> <p>79. QUEM: _____ HÁ QUANTO TEMPO? _____ANOS</p>

80. VOCÊ TEM OU TEVE CRISES DE DESMAIO E QUE AO ACORDAR NOTA QUE FEZ XIXI OU COCÔ NA ROUPA SEM PERCEBER? ( ) SIM ( ) NÃO HÁ QUANTO TEMPO? \_\_\_\_\_ ANOS
81. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE ( ) SIM ( ) NÃO
82. QUEM: \_\_\_\_\_ HÁ QUANTO TEMPO? \_\_\_\_\_ ANOS
83. VOCÊ TEM OU TEVE CRISES NA QUAL SENTE SENSÇÃO RUIM DE “FUNDEZA” OU BOLA NA “BOCA DO ESTÔMAGO” E QUE SOBE ATÉ A GARGANTA E EM SEGUIDA SAI FORA DO AR, E DEPOIS DIZEM QUE VOCÊ FICOU MEXENDO EM ALGO COM AS MÃOS OU MASTIGANDO OU OLHANDO PARA ALGO DISTANTE? ( ) SIM ( ) NÃO HÁ QUANTO TEMPO? \_\_\_\_\_ ANOS
84. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE ( ) SIM ( ) NÃO
85. QUEM: \_\_\_\_\_ HÁ QUANTO TEMPO? \_\_\_\_\_ ANOS
86. ALGUM MÉDICO OU PROFISSIONAL DE SAÚDE OU MESMO FAMILIARES JÁ LHE DISSE QUE VOCÊ TEM OU TEVE CONVULSÃO FEBRIL NA INFÂNCIA; OU DURANTE ALGUMA DOENÇA GRAVE QUALQUER? ( ) SIM ( ) NÃO HÁ QUANTO TEMPO? \_\_\_\_\_ ANOS
87. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE ( ) SIM ( ) NÃO
88. QUEM: \_\_\_\_\_ HÁ QUANTO TEMPO? \_\_\_\_\_ ANOS
89. VOCÊ TEM RÁPIDOS ABALOS TIPO “CHOQUE” NOS BRAÇOS (AS COISAS CAEM DA MÃO) OU PERNAS COM OU SEM QUEDA, PRINCIPALMENTE PELA MANHÃ?  
7.13 ( ) SIM ( ) NÃO HÁ QUANTO TEMPO? \_\_\_\_\_ ANOS
90. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE ( ) SIM ( ) NÃO
91. QUEM: \_\_\_\_\_ HÁ QUANTO TEMPO? \_\_\_\_\_ ANOS
92. HÁ ALGUÉM DESTA CASA COM EPILEPSIA?  
7.14 ( ) SIM ( ) NÃO HÁ QUANTO TEMPO? \_\_\_\_\_ ANOS
93. ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE ( ) SIM ( ) NÃO
94. QUEM: \_\_\_\_\_ HÁ QUANTO TEMPO? \_\_\_\_\_ ANOS
- 7.15

### DEPRESSÃO E ANSIEDADE

Marque com um 'X' a resposta que melhor corresponder com o que o paciente refere sentir na ÚLTIMA SEMANA. Não é preciso ficar pensando muito em cada questão. Neste questionário as respostas espontâneas têm mais valor *do* que aquelas em que se pensa muito.

Marque apenas uma resposta para cada pergunta.

95. **Quando você se sente tenso ou contraído**  
3 ( ) A maior parte do tempo  
2 ( ) Boa parte do tempo  
1 ( ) De vez em quando  
0 ( ) Nunca
96. **Você sente gosto pelas mesmas coisas de antes?**  
0 ( ) Sim, do mesmo jeito que antes  
1 ( ) Não tanto quanto antes  
2 ( ) Só um pouco  
3 ( ) Já não sinto mais prazer em nada
97. **Você sente uma espécie de medo, como se alguma coisa ruim pudesse acontecer?**  
3 ( ) Sim, e de um jeito muito forte  
2 ( ) Sim, mas não tão forte  
1 ( ) Um pouco, mas isso não me preocupa  
0 ( ) Não sinto nada disso
98. **Você da risada e se diverte quando vê coisas engraçadas?**  
0 ( ) Do mesmo jeito que antes  
1 ( ) Atualmente um pouco menos  
2 ( ) Atualmente bem menos  
3 ( ) Não consigo mais
99. **Você está com a cabeça cheia de preocupações?**  
3 ( ) A maior parte do tempo  
2 ( ) Boa parte do tempo  
1 ( ) De vez em quando  
0 ( ) Raramente
100. **Você se sente alegre?**  
3 ( ) Nunca  
2 ( ) Poucas vezes

- 1 ( ) Muitas vezes
- 0 ( ) A maior parte do tempo

101. **Você consegue ficar sentado à vontade e se sentir relaxado?**

- 0 ( ) Sim, quase sempre
- 1 ( ) Muitas vezes
- 2 ( ) Poucas vezes
- 3 ( ) Nunca

102. **Você sente que está lento para pensar e fazer as coisas?**

- 3 ( ) Quase sempre
- 2 ( ) Muitas vezes
- 1 ( ) De vez em quando
- 0 ( ) Nunca

103. **Você tem uma sensação ruim de medo, como um frio na barriga ou um aperto no estômago?**

- 0 ( ) Nunca
- 1 ( ) De vez em quando
- 2 ( ) Muitas vezes
- 3 ( ) Quase sempre

104. **Você perdeu o interesse em cuidar da sua aparência?**

- 3 ( ) Completamente
- 2 ( ) Não estou mais me cuidando como deveria
- 1 ( ) Talvez não tanto quanto antes
- 0 ( ) Me cuido do mesmo [eito que antes

105. **Você se sente inquieto, como se não pudesse ficar parado em lugar nenhum?**

- 3 ( ) Sim, demais
- 2 ( ) Bastante
- 1 ( ) Um pouco
- 0 ( ) Não me sinto assim

106. **Você fica esperando animado as coisas boas que estão por vir?**

<p>0 ( <input type="checkbox"/> ) Do mesmo jeito que antes</p> <p>1 ( <input type="checkbox"/> ) Um pouco menos do que antes</p> <p>2 ( <input type="checkbox"/> ) Bem menos do que antes</p> <p>3 ( <input type="checkbox"/> ) Quase nunca</p> <p>107. De repente, você tem a sensação de entrar em pânico?</p> <p>3 ( <input type="checkbox"/> ) A quase todo momento</p> <p>2 ( <input type="checkbox"/> ) Várias vezes</p> <p>1 ( <input type="checkbox"/> ) De vez em quando</p> <p>0 ( <input type="checkbox"/> ) Não sinto isso</p> <p>108. Você consegue sentir prazer quando assiste a um bom programa de televisão, de rádio ou quando lê alguma coisa?</p> <p>0 ( <input type="checkbox"/> ) Quase sempre</p> <p>1 ( <input type="checkbox"/> ) Várias vezes</p> <p>2 ( <input type="checkbox"/> ) Poucas vezes</p> <p>3 ( <input type="checkbox"/> ) Quase nunca</p>
<b>CONSUMO DE TABACO</b>
<p>109. Você já fumou?: ( <input type="checkbox"/> )sim, ainda fuma ( <input type="checkbox"/> )não/nunca ( <input type="checkbox"/> ) sim, mas parou há __anos</p>
<p>110. Há quantos anos você fuma ou durante quantos anos você fumou?</p> <p>Há __ anos OU há __ meses OU durante __ anos</p>
<p>111. O que você fuma ou fumou MAIS?</p> <p>( <input type="checkbox"/> )cigarro comercial ( <input type="checkbox"/> )cigarro de palha ( <input type="checkbox"/> )charuto ( <input type="checkbox"/> )cachimbo ( <input type="checkbox"/> )outro: _____</p>
<p>112. Quantos CIGARROS em média você fuma ou fumava por dia ou por semana? cigarros/dia OU cigarros/semana</p>
<p>113. Se já parou de fumar, por que você parou? _____</p>
<b>CONSUMO DE BEBIDA ALCOÓLICA</b>

114. Qual bebida você mais gosta de beber? _____
115. Com que idade você começou a beber? ____ anos
116. Qual bebida você costuma(va) beber mais freqüentemente? ( ) cerveja ( ) cachaça ( ) outra: _____
117. Quantas doses você costuma(va) beber por semana? Um drinque ou uma dose é: uma cerveja longneck ou latinha; meia cerveja grande (600 ml) ou chopp (350 mL); uma dose de pinga, uísque ou outro destilado (50ml) ou uma taça de vinho (150ml). Cerveja ou chopp: ____ Cachaça ou uísque ____ Vinho: ____ Anotar freqüência por mês, se for necessário: _____
118. Se parou de beber, por que você parou? _____
<b>CONSUMO DE ALIMENTOS E ÁGUA</b>
119. Você se alimenta de: ( ) Carnes e verduras ( ) Não come carne ( ) Mais de uma porção de carne vermelha todos os dias
120. Qual a sua fonte de alimentos (carnes e verduras) ( ) Produção própria ( ) compra dos vizinhos ( ) supermercado
121. Qual a sua fonte de água? ( ) Córrego próximo a casa ( ) Fonte de água natural ( ) Água encanada ( ) Poço artesiano
122. Onde são descartados os resíduos de seu banheiro? ( ) Há saneamento básico ( ) Diretamente no córrego
123. Você toma chimarrão? ( ) Todos os dias ( ) Algumas vezes por semana
<b>MEDICAMENTOS</b>
124. Você costuma tomar algum remédio por conta própria? ( ) Sim ( ) Não
125. Quais? _____

<p>126. Com que frequência? ( ) Diariamente ( ) Semanalmente ( ) De vez em quando</p> <p>127. Você toma algum medicamento prescrito pelo seu médico? ( ) Sim ( ) Não</p> <p>128. Quais?</p> <p>_____</p>				
<p>129. Com que frequência? ( ) Diariamente ( ) Semanalmente ( ) De vez em quando</p>				
<b>DADOS SÓCIO-DEMOGRÁFICOS – PARTE II</b>				
<p>130. Cor: ( ) Branca ( ) Negra ( ) Pardo ( ) Outra: _____</p>				
<p>131. Estado civil atual: ( ) solteiro ( ) casado ( ) com companheira ( ) viúvo ( ) separado/divorciado/desquitado</p>				
<p>132. Até que ano (série) você estudou na escola? Completei o (a) ____ ano (série) do _____ na escola.</p>				
<p>133. Qual sua religião? ( ) sem religião ( ) Católica ( ) protestante/crente/evangélico ( ) espírita ( ) outra _____</p>				
<p>134. Quais e quantos deste itens você possui em sua casa?</p>				
		Tem		
	Não tem			
Televisão em cores				
Video cassete ou DVD				
Rádio				
Banheiro				
Automóvel				
Máquina de lavar				

Geladeira					
Freezer (independente ou parte da geladeira duplex)					
Trator					

## ANEXO III

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Estudo de população exposta ocupacionalmente a agrotóxicos

**Pesquisador:** Claudia Regina dos Santos

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 24590413.3.0000.0121

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

**Patrocinador Principal:** Universidade Federal de Santa Catarina

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 507.310

**Data da Relatoria:** 10/02/2014

**Apresentação do Projeto:**

A pesquisa intitulada "Estudo de população exposta ocupacionalmente a agrotóxicos" trata de um estudo de coorte retrospectiva onde serão avaliados 1% da população rural dos municípios de Águas Mornas, Antônio Carlos e Santo Amaro da Imperatriz (cerca de 120 indivíduos). Serão incluídos no grupo exposto, indivíduos com histórico de exposição à agrotóxicos como atividade laboral, nos últimos 20 anos. O grupo não exposto (proporção de 2:1), considerará indivíduos sem histórico de exposição ocupacional a agrotóxicos e pareados quanto a sexo, faixa etária e local de residência.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Avaliar indicadores biológicos de exposição, de efeito e de genotoxicidade e a hipótese de associações à alterações endócrinas, hematológicas, neurológicas e reumatológicas na população exposta ocupacionalmente a agrotóxicos da Grande Florianópolis.

**Objetivo Secundário:**

Validar métodos para a determinação dos indicadores biológicos de exposição para três agrotóxicos de acordo com a frequência de uso. Estimar a prevalência de alterações nos indicadores biológicos de efeito - atividade da colinesterase eritrocitária e plasmática. Estimar a prevalência de alterações nos indicadores de genotoxicidade - ensaio cometa e micronúcleos em

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima  
Bairro: Trindade CEP: 88.040-900  
UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS  
Telefone: (48)3721-9208 Fax: (48)3721-9808 E-mail: cep@reitoria.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 507.310

linfócitos. Descrever as alterações endocrinológicas, hematológicas, neurológicas e reumatológicas na população de estudo. Estimar possíveis relações entre a exposição, os indicadores biológicos e as alterações clínicas encontradas na população de estudo.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Os riscos decorrentes da realização do presente estudo estão relacionados com a coleta das amostras biológicas (sangue) nos indivíduos. A coleta será realizada em local apropriado para esta finalidade e por profissional habilitado seguindo as recomendações das Boas Práticas Laboratoriais.

**Benefícios:**

- Detecção precoce de alteração clínico laboratorial relacionada a exposição ocupacional a agrotóxicos. - Encaminhamento para tratamento especializado em endocrinologia, hematologia e reumatologia no HU/UFSC caso haja detecção de anormalidades clínico laboratoriais. - Orientação/educação de novas práticas de trabalho com minimização de exposição ocupacional aos agentes.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa apresenta pertinência, fundamentação bibliográfica, clareza em seus objetivos e uma vez obtido os dados conclusivos proporcionará a elaboração de novas práticas minimizando o efeito nocivo dos agrotóxicos e encaminhamento para tratamento especializado dos participantes da pesquisa caso se faça necessário.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os documentos estão de acordo com o solicitado pelo CEPGH.

**Recomendações:**

Não se aplica.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Foram feitas todas as alterações no TCLE, não havendo inadequações, ou nada que venha impedir o prosseguimento da pesquisa.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima  
 Bairro: Trindade CEP: 88.040-900  
 UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS  
 Telefone: (48)3721-0208 Fax: (48)3721-0606 E-mail: cep@reitoria.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 507.310

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

-

FLORIANOPOLIS, 07 de Janeiro de 2014

---

Assinador por:  
Washington Portela de Souza  
(Coordenador)

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima  
Bairro: Trindade CEP: 88.040-900  
UF: SC Município: FLORIANOPOLIS  
Telefone: (48)3721-0206 Fax: (48)3721-9696 E-mail: cep@reitoria.ufsc.br