

BIOMARCADORES DE INTOXICAÇÃO HUMANA EM TRABALHADORES RURAIS EXPOSTOS À AGROTÓXICOS NO BRASIL

Marcieli Schlotefeldt Klein¹, Lize Elena Kaufmann Back¹,
Suzyreire Baroni¹, Iara Denise Endruweit Battisti²

RESUMO

Entre os riscos ocupacionais do trabalho agrícola, destaca-se o uso de agrotóxicos, que estão relacionados às intoxicações agudas, doenças crônicas e problemas reprodutivos. Assim, faz-se necessário estudos nesta temática para monitoramento de incidência de intoxicação pelo uso de agrotóxico em trabalhadores rurais. O objetivo deste estudo foi verificar a frequência de intoxicação por agrotóxicos pela análise de micronúcleo da mucosa bucal de agricultores expostos a esses compostos. Todos os participantes do estudo são do sexo masculino, com idade entre 18 e 59 anos, não fumantes, não etilistas e residem em um município do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Foram coletadas amostras da mucosa bucal para análise de micronúcleos de 27 agricultores na estação do verão, quando há intenso uso de agrotóxicos. Foram confeccionadas três lâminas por indivíduo, coradas com Giemsa, analisadas em microscópio óptico, contadas 1.000 células por lâmina, perfazendo 3.000 células por participante. Foram contabilizadas células com micronúcleo e com anormalidades nucleares. Os dados foram analisados no *software* estatístico R. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal da Fronteira Sul. Como resultado principal observa-se que 74,0% dos trabalhadores rurais possuíam mais que três células com micronúcleos em 3.000 células, com diferença significativa comparado ao grupo controle. Isso evidencia intoxicação aguda devido ao uso de agrotóxicos, que pode estar associada ao não uso do Equipamento de Proteção Individual (EPI), incluindo outros fatores de exposição. Existe, portanto, a necessidade de monitoramento de trabalhadores rurais expostos a agrotóxicos.

Palavras-chave: micronúcleo; intoxicação; agricultores; saúde ambiental.

HUMAN INTOXICATION BIOMARKERS IN RURAL WORKERS EXPOSED TO PESTICIDES IN BRAZIL

ABSTRACT

Among the occupational risks of agricultural work, the use of pesticides stands out, which are related to acute intoxications, chronic diseases and reproductive problems. Thus, studies on this theme are necessary to monitor the incidence of poisoning by the use of pesticides in rural workers. The aim of the study was to verify of the frequency of pesticide poisoning by analyzing the micronucleus of the oral mucosa of those exposed to these compounds. All study participants are male, aged between 18 and 59 years old, non-smokers, non-alcoholics and live in a municipality in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Samples of the oral mucosa were collected to analyze micronuclei from 27 farmers in the summer season, when there is intense use of pesticides. Three slides were made per individual, stained with Giemsa and analyzed under an optical microscope, counting 1000 cells per slide, making up 3000 cells per participant. Cells with micronucleus and nuclear abnormalities were counted. The data were analyzed using the statistical software R. The project was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Fronteira Sul. As a main result, 74.0% of rural workers had more than three cells with micronuclei in 3,000 cells with significant difference compared to the control group. This evidences acute intoxication due to the use of pesticides associated with non-use Personal Protective Equipment (PPE), including other exposure factors. Therefore, there is a need to monitor rural workers exposed to pesticides.

Keywords: micronucleus; intoxication; farmers; environmental health.

SUBMETIDO EM: 17/11/2021

ACEITO EM: 11/5/2022

¹ Universidade Federal da Fronteira Sul. Cerro Largo/RS, Brasil.

² Autora correspondente: Universidade Federal da Fronteira Sul. Rua Jacob Reinaldo Haupenthal, 1580. Bairro São Pedro. Cerro Largo-RS. CEP 97900-000. <http://lattes.cnpq.br/3720178010744127>. <https://orcid.org/0000-0001-9740-4199>. iara.battisti@uffs.edu.br

INTRODUÇÃO

O trabalho agrícola é uma das ocupações mais perigosas atualmente¹. Entre os vários riscos ocupacionais, destacam-se os agrotóxicos, que estão relacionados a intoxicações agudas, doenças crônicas, problemas reprodutivos e danos ambientais¹. Isso reforça a necessidade de conhecer a amplitude da exposição ocupacional e os danos na saúde do trabalhador rural exposto a agrotóxicos.

No Brasil, parte da agricultura passa por um processo contínuo de modernização via incorporação de novas tecnologias, com a perspectiva de aumentar a competitividade no mercado internacional².

Assim, a agricultura, no Brasil, está baseada cada vez mais na utilização de novas tecnologias e grande quantidade de insumos agrícolas, como agrotóxicos e fertilizantes químicos. Com isso, vem crescendo significativamente a produção de grãos mesmo mantendo praticamente regular a área plantada³.

Biomarcadores de intoxicação humana, como o teste do micronúcleo (MN) em células bucais esfoliadas, é uma técnica inovadora de genotoxicidade, promissora no estudo de carcinógenos epiteliais. Eles são adequados para revelar danos genotóxicos específicos do tecido em indivíduos expostos⁴.

O teste de MN é considerado padrão ouro para avaliação citogenética de lesões que ocorrem no DNA⁵. Também é utilizado de forma ampla por ser uma alternativa eficaz, simples e econômica para detectar a perda do material genético⁶.

Comparando-se um grupo de agricultores expostos a agrotóxicos com um grupo de indivíduos não expostos, Schäffer⁷ observou diferença significativa ($p=0,008$) entre os grupos, com maior frequência de MN no grupo exposto. Kupske⁸ verificou níveis superiores de MN para todos os trabalhadores rurais investigados.

Pacheco e Hackel⁹ observaram número médio de 14,3 células com MN no grupo de trabalhadores rurais expostos a agroquímicos, o dobro do grupo não exposto (7,1 células com MN), apontando alterações cromossômicas pela exposição aos agroquímicos.

Com o crescente consumo de agrotóxicos no Brasil, a atividade agrícola sendo uma das ocupações mais perigosas para a saúde humana e achados mostrando alterações de MN da mucosa bucal devido aos agroquímicos, este estudo teve por objetivo verificar a ocorrência de intoxicação por agrotóxicos pela análise de MN da mucosa bucal de agricultores expostos a esses compostos.

METODOLOGIA

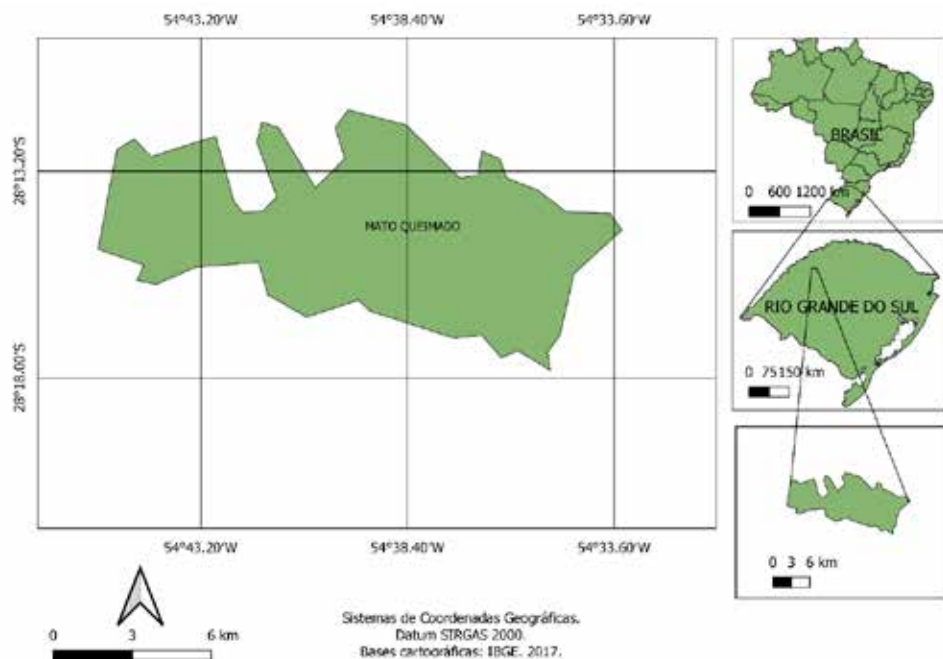
Trata-se de um estudo de natureza quantitativa, com alcance descritivo e analítico, comparando dois grupos, um grupo exposto a agrotóxicos e outro não exposto. No grupo exposto a agrotóxicos, foram selecionados 27 trabalhadores rurais, do sexo masculino, que utilizam agrotóxicos e trabalham, no mínimo, 15 horas semanais em atividades da agricultura, com idade entre 18 e 59 anos, não



fumantes e não etilistas. No grupo controle foram convidados 27 indivíduos com as mesmas características – moradores do meio urbano do município, mas que não usam agrotóxicos. O convite para participação da pesquisa foi realizado pela pesquisadora juntamente com os Agentes Comunitários de Saúde.

O estudo foi desenvolvido no município de Mato Queimado, localizado na Região das Missões, no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, durante o ano de 2019 (Figura 1).

Figura 1 – Local do estudo



Fonte: Elaborada pelas autoras, 2019.

Segundo dados do Centro de Vigilância em Saúde da Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul¹⁰, o município encontra-se localizado na região do Estado que mais utiliza agrotóxicos por hectares, cerca de 703,29 a 874,65 litros por km² no ano.

Em um laboratório de análises clínicas do município, cada participante foi orientado quanto à higiene bucal e, então, foram coletadas três lâminas da região da bochecha com uma espátula de madeira.

A análise das lâminas foi realizada em microscópio óptico, com aumento de 400x, no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *Campus Cerro Largo*, RS. Foram contadas 3.000 células por indivíduo (1.000 células por lâmina).

A classificação e a contagem de MNs seguiram protocolo sugerido por Tolbert *et al.*¹¹, sendo computadas somente as células com núcleos bem visíveis, com perímetro liso e distinto e com citoplasma bem-definido. Para a contagem de MNs, o critério utilizado foi a presença de halo homogêneo circundante, que determina a membrana nuclear menor que 1/3 do diâmetro do núcleo central, com mesmo plano focal à microscopia e sem ligação com o núcleo.

Os dados foram analisados no *software* estatístico R (v. 3.6.3), considerando nível de 5% de significância para o teste de qui-quadrado para distribuição.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal da Fronteira Sul. A coleta da mucosa bucal iniciou somente após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

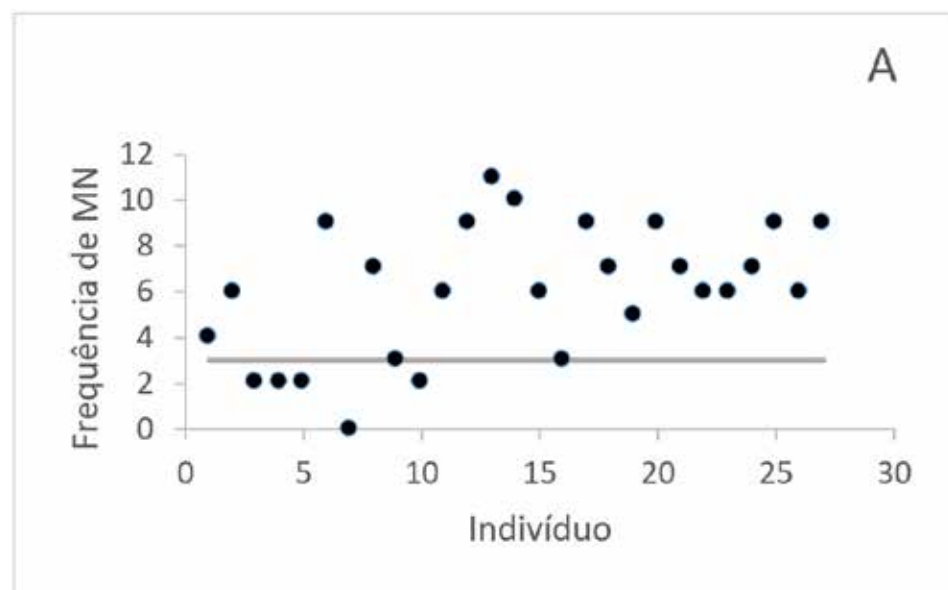
RESULTADOS

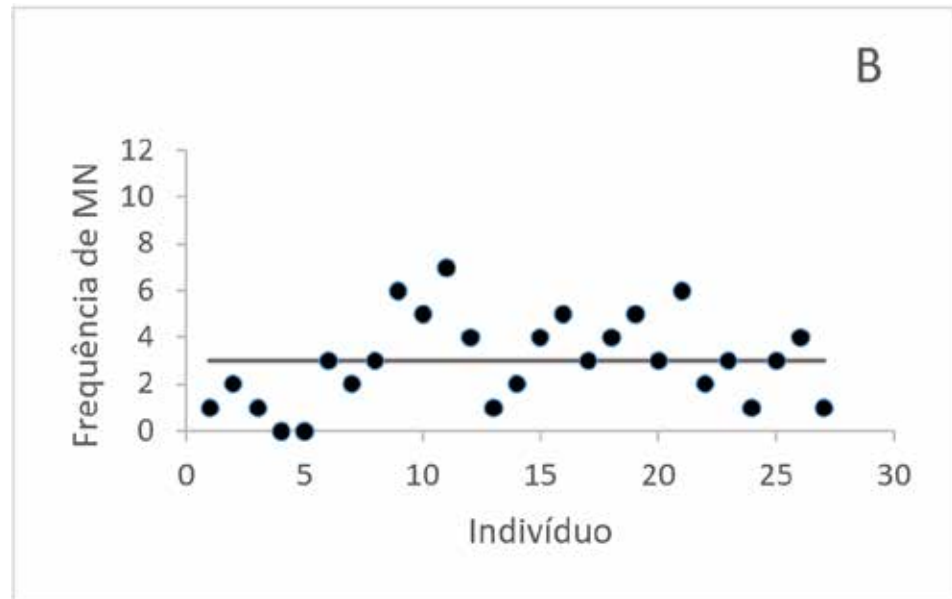
Quanto às características sociodemográficas dos participantes, a idade média é $42,8 \pm 9,4$ (média \pm desvio-padrão) anos e $37,1 \pm 10,6$ anos, no grupo exposto e no grupo não exposto aos agrotóxicos, respectivamente. O Ensino Médio completo é a escolaridade de 62,9% dos agricultores e 59,2 dos indivíduos moradores do meio urbano. Somente 1 agricultor tem Ensino Superior e 10 indivíduos do meio urbano têm Ensino Superior (4 incompleto e 6 completo). Quanto ao tempo de exposição aos agrotóxicos, 33,3% dos agricultores têm entre 31 a 40 anos de uso destes compostos, 29,6% entre 21 e 30 anos, 18,5% entre 11 e 20 anos, 14,8% no máximo 10 anos e 1 agricultor indicou usar há mais de 40 anos. Somente 18,5% dos agricultores indicaram usar o EPI completo.

O número de indivíduos com mais de 3 MNs em 3.000 células das mucosas bucal analisadas é maior no grupo exposto (20 agricultores) (Figura 2A) comparada com o grupo não exposto a agrotóxicos (10 indivíduos) (Figura 2B). A proporção de MN é significativamente ($p < 0,001$) maior no grupo exposto comparado ao grupo não exposto aos agroquímicos.



Figura 2 – Frequência de micronúcleo (MN) no grupo exposto (A) e não exposto (B) a agrotóxicos





Fonte: Elaborada pelas autoras, 2019.

A proporção de células com Anormalidades Nucleares (AN) é significativamente ($p < 0,001$) maior no grupo não exposto comparado ao grupo exposto. Houve diferença significativa ($p < 0,001$) da frequência de AN e de MN dentro de cada grupo em análise.



DISCUSSÃO

Quanto aos resultados das análises da mucosa bucal, evidenciam que 20 (74,0%) dos trabalhadores rurais expostos a agrotóxicos tiveram um número superior de MN na mucosa bucal em relação ao índice normal esperado.

As células da mucosa bucal possuem grande atividade mitótica que permite que esse tecido seja repostado após injúrias. Durante a divisão celular o material genético dessas células fica mais susceptível a qualquer substância potencialmente mutagênica¹², acarretando danos que vão desde morte celular até erros passíveis de reparo. Esses acontecimentos são indicadores de um momento de exposição, mas que, sendo contínuo, pode acumular erros com agravamento neoplásico.

Os achados deste estudo corroboram outros, como realizado no município de Cerro Largo, RS, na mesma região⁸, e, dos dez trabalhadores rurais expostos a agrotóxicos, todos apresentaram níveis superiores de MNs quando comparados com indivíduos não expostos a esses produtos.

Também reforça os achados de Schäffer⁷, que verificou maior frequência de MN no grupo exposto, com diferença significativa ($p = 0,008$) ao grupo não exposto aos agrotóxicos no município de Santo Antônio das Missões, RS.

Diversos fatores colaboram com a intensidade da exposição aos agrotóxicos, como o nível de escolaridade, o tamanho da área, o tipo de aplicador, o local de armazenamento e o uso de EPI¹³. Belo¹⁴ destaca que as extensas áreas de monocultura

implicam quantidades superiores de agrotóxicos pulverizados por grandes tratores ou aviões agrícolas, resultando em uma maior exposição do aplicador.

É importante observar que os agricultores são o grupo populacional mais expostos a agrotóxicos, com exposição contínua ao longo dos anos, como observou-se no tempo de uso destes compostos, podendo chegar a 40 anos. Adicionalmente, os agricultores estão sujeitos a múltiplos compostos simultaneamente, posto que, na mesma época, plantio ou colheita, são aplicados diferentes compostos ao mesmo tempo. Azevedo *et al.*¹⁵ relatam o surgimento de doenças tardias oriundas da exposição a múltiplos produtos, evidenciando os riscos das práticas laborais agrícolas.

Políticas públicas de promoção de saúde do trabalhador rural e redução do uso de agrotóxicos são necessárias. Desta forma, este estudo colabora com achados para mostrar que a intoxicação por agrotóxicos é uma realidade entre os agricultores. Muitas vezes, porém, com sintomas leves de intoxicação, esses trabalhadores não acessam os serviços de saúde, e, como consequência, tem-se a subnotificação da intoxicação aguda por agrotóxicos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O grupo analisado apresenta maior proporção de MN comparado aos indivíduos do grupo não exposto a agrotóxicos, evidenciando que os agricultores expostos a agrotóxicos podem ter intoxicação devido ao uso direto desses compostos

Para trabalhos futuros recomenda-se o acompanhamento de populações rurais expostas a agrotóxicos de forma constante. Poderá ser realizado acompanhamento à família – esposa e filhos – dos agricultores, aplicando o teste de MN, e, nos mesmos indivíduos, o *teste cometa* para comparação dos danos celulares.

REFERÊNCIAS

- ¹ Faria NMX, Fassa AG, Facchini LA. Pesticides poisoning in Brazil: the official notification system and challenges to conducting epidemiological studies. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2007;12:25-38.
- ² Gehlen I. Políticas públicas e desenvolvimento social rural. *São Paulo em Perspectiva*. 2004;18(2):95-103.
- ³ Conab. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos. v. 3. Safra 2015/16. n. 9. Nono levantamento, jun. 2016.
- ⁴ Kashyap B, Reddy PS. Micronuclei assay of exfoliated oral buccal cells: Means to assess the nuclear abnormalities in different diseases. *J Can Res Ther*. 2012;8:184-91.
- ⁵ Faria LEM, Braga JRM. Aplicação do teste de micronúcleo para avaliação de potencial genotóxico em epitélio oral de estudantes universitários. *Revista Eletrônica Atualiza Saúde*. 2015;1:36-41.
- ⁶ Uchôa IS, Magalhães MAV. Teste de micronúcleos como biomarcador para pacientes com patologias diversas: uma revisão integrativa da literatura. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR*. Jun./ago. 2019;27(1):78-83.
- ⁷ Schäffer AL. Perfil ocupacional de trabalhadores rurais expostos a agrotóxicos na Região das Missões, RS [Dissertação de Mestrado]. Universidade Federal da Fronteira Sul, Pro-



grama de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis; Cerro Largo, RS; 2019. 135 p.

- ⁸ Kupske C. Exposição ao glifosato e incidência de câncer em agricultores familiares do Município de Cerro Largo-RS. 2018. 97 p. Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis. Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, RS, 2018.
- ⁹ Pacheco AO, Hackel C. Chromosome instability induced by agrochemicals among farm workers in Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*. nov./dez. 2002; 18(6):1.675-1.683.
- ¹⁰ Cevs/Ses. Centro de Vigilância em Saúde da Secretária da Saúde. Secretaria Estadual da Saúde. Relatório Final. Levantamento do uso e da criticidade dos agrotóxicos usados no Estado do Rio Grande do Sul. Talha-Mar Soluções Ambientais; 2010.
- ¹¹ Tolbert, PE, Shy, CM., Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*. 1992;271:69-77.
- ¹² Carbajal-López Y, Gómez-Arroyo S, Villalobos-Pietrini R, Calderón-Segura ME, Martínez-Arroyo A. Biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticide mixtures in Guerrero state, Mexico, with comet assay and micronucleus test. *Environmental science and pollution research*. 2016;23:2.513-2.520.
- ¹³ Ristow LP. Exposição ocupacional de trabalhadores rurais a agrotóxicos e relação com políticas públicas. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Federal da Fronteira Sul, Pós-Graduação em Desenvolvimento e Políticas Públicas, Cerro Largo, RS; 2017. 140 p.
- ¹⁴ Belo MSDSP. Contribuições dos estudos de percepção de risco para a análise e o gerenciamento de exposições humanas a agrotóxicos: o caso de Lucas do Rio Verde, MT. [Tese de Doutorado]. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Programa de Pós-Graduação em Ciências na Área de Saúde Pública. Rio de Janeiro, RJ; 2014. 151 p.
- ¹⁵ Azevedo MFA, Rosa ACS, Alves SR, Larentis AL, De Fátima MM, Teixeira LR, et al. Prevalência do tremor essencial em população exposta ocupacionalmente a agrotóxicos no Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Neurologia*. 2018;54(1).



**Todo conteúdo da Revista Contexto & Saúde está
sob Licença Creative Commons CC - By 4.0**