

AValiação Funcional do Sistema Vestibular de Cobaias Intoxicadas Agudamente por Organofosforado por Meio da Prova Calórica

Functional evaluation of the vestibular system of guinea pigs poisoned by an organophosphate through caloric stimulation

Lícia Assunção Cogo⁽¹⁾, Adriana de Andrade Batista Murashima⁽²⁾,

Valdete Alves Valentins dos Santos Filha⁽³⁾, Miguel Angelo Hyppolito⁽⁴⁾, Aron Ferreira da Silveira⁽⁵⁾

RESUMO

Objetivo: avaliar o funcionamento do sistema vestibular de cobaias expostas ao organofosforado clorpirifós, de forma aguda, por meio da prova calórica da eletronistagmografia. **Métodos:** a pesquisa do tipo experimental realizou a eletronistagmografia de cobaias expostas a organofosforado durante 10 dias consecutivos, nas doses 0,5mg/kg/dia e 1,0mg/kg/dia por via intraperitoneal e comparadas com grupo controle que recebeu administração de água destilada. Foi realizada prova calórica gelada (10°C) e comparadas as variáveis frequência de aparecimento de nistagmos em 10 segundos (u/s) e velocidade angular da componente lenta (°/s). **Resultados:** os resultados não demonstraram diferença estatisticamente significativa na comparação das variáveis entre os grupos. **Conclusão:** conclui-se que nas doses testadas o agrotóxico organofosforado clorpirifós não causou danos funcionais detectáveis na prova calórica.

DESCRITORES: Equilíbrio Postural; Vestíbulo do Labirinto; Inseticidas Organofosforados; Praguicidas; Toxicidade de Drogas

■ INTRODUÇÃO

O equilíbrio corporal é mantido pelo funcionamento conjunto de três estruturas: o sistema vestibular, o sistema visual e o sistema proprioceptivo. O sistema vestibular detecta as sensações de equilíbrio, auxiliando na coordenação dos

movimentos da cabeça e dos olhos, e nos ajustes da postura corporal. Disfunções neste sistema podem resultar sensações desagradáveis como vertigem, náusea e uma sensação de desequilíbrio acompanhada de movimentos incontroláveis dos olhos, o nistagmo^{1,2}. Nos seres humanos é composto por três componentes fundamentais: um sistema sensorial periférico, um processador central e um mecanismo de resposta motora. O sistema periférico é constituído de um conjunto de sensores de movimento, os quais enviam informações ao sistema nervoso central (SNC)³.

O sistema vestibular central produz uma resposta à movimentação cefálica que é transmitida aos músculos extraoculares e a medula espinhal desencadeando os reflexos vestibulo-ocular (RVO) e vestibulo-espinhal (RVE). O RVO gera os movimentos dos olhos, que mantém a visão estável durante o movimento cefálico. A eletronistagmografia(ENG), em suas diferentes modalidades, é a maneira mais adequada de

⁽¹⁾ Universidade Federal do Pampa – Campus Uruguaiana, Uruguaiana, RS, Brasil.

⁽²⁾ Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto – SP, Brasil.

⁽³⁾ Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

⁽⁴⁾ Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

⁽⁵⁾ Universidade Federal de Santa Maria – UFSM; Santa Maria, RS, Brasil.

Fonte de auxílio: Capes

Conflito de interesses: inexistente

avaliar os achados oculares e/ou vestibulares. Esta consiste no registro da movimentação ocular, que representa o elemento principal na investigação e na avaliação dos distúrbios vestibulares^{4,5}. A resposta padrão para o exame é o nistagmo, pois toda vez que se estimula o sistema vestibular, ele aparece como resposta. Isso se deve a um desequilíbrio entre as forças antagônicas vestibulares que contribui para manter a orientação dos globos oculares. Da mesma maneira uma patologia no sistema periférico ou em suas conexões centrais pode determinar o aparecimento do nistagmo. O nistagmo constitui-se no elemento fundamental de análise do RVO na ENG. As anormalidades do RVO podem ser encontradas na pesquisa da prova calórica⁴.

Algumas substâncias químicas têm causado danos ao ser humano e ao meio ambiente. Dentre estas substâncias encontram-se os agrotóxicos, alguns conhecidos por suas propriedades neurotóxicas, são frequentemente considerados como responsáveis por intoxicações a trabalhadores que entram em contato com esses compostos, principalmente nos países em desenvolvimento^{6,7}. Os agrotóxicos são um importante fator de risco para a saúde humana. Estes produtos são utilizados em grande escala por vários setores produtivos e mais intensamente pelo setor agropecuário^{8,9}.

Entre os agrotóxicos, encontram-se os inseticidas organofosforados (OF), que são compostos anticolinesterásicos que causam variado grau de toxicidade para o ser humano. Em razão do benefício do agrotóxico para o sucesso do plantio, o trabalhador tem a tendência de subestimar seus efeitos na saúde de quem entra em contato com o produto¹⁰. Diversas vezes, essa exposição causa alterações clínicas que, silenciosamente, alteram a vida do trabalhador¹¹. Sabe-se que a exposição por um curto período causa os chamados efeitos agudos. Este quadro varia de intensidade, podendo ser caracterizado por náusea, vômito, cefaleia, tontura entre outros sintomas. A tontura é um sintoma de destaque, considerada uma das expressões clínicas da exposição aos agrotóxicos^{7,8}.

Faz-se importante ressaltar que a população exposta ao agrotóxico não se limita ao trabalhador, mas também a sua família, que convive próxima a plantação. Este fato evidencia a necessidade de pesquisas que aprofundem metodologias para avaliação da exposição aos agentes tóxicos e os riscos associados a estes produtos, tanto nos casos de intoxicação aguda como na exposição em longo prazo ao agrotóxico¹¹.

O objetivo da pesquisa foi avaliar o funcionamento do sistema vestibular de cobaias expostas

ao organofosforado clorpirifós, de forma aguda, por meio da eletronistagmografia.

■ MÉTODOS

A pesquisa caracterizou-se como do tipo experimental de corte prospectivo, de acordo com Severino (2008)¹². A mesma foi realizada de acordo com os Princípios Éticos na Experimental Animal adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e com a Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), que estabelece os procedimentos para o uso científico de animais e foi aprovada pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sob o nº. 135/2011, em 08 de novembro de 2011.

Para este estudo foram utilizadas 18 cobaias albinas machos, espécie *Cavia porcellus*, linhagem inglesa, com peso entre 300 e 500g, com Reflexo de Preyer presente e que não apresentavam sinais de otite externa e/ou média, ausência de perfuração timpânica à otoscopia. O Reflexo de Preyer é avaliado por observação de pequenos movimentos de contração do pavilhão auricular da cobaia, quando a mesma é estimulada com sons de pequena e média intensidade. Tal reflexo é utilizado para avaliar a função auditiva em roedores¹².

Os animais ficaram alojados no Biotério do Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da instituição, em gaiolas coletivas de acordo com o grupo, com maravalha, em regime claro/escuro de 12 horas, temperatura e umidade controladas, ração própria e água *ad libitum*.

Para a intoxicação as cobaias receberam pela via intraperitoneal o agrotóxico OF Pynrex 480 CE®, comercializado pela Milenia Agrociências S/A, que tem como princípio ativo o clorpirifós. O Pynrex 480 CE® é um inseticida OF com ação de contato e ingestão, recomendado para o controle de pragas nas culturas de algodão, batata, café, citros, feijão, maçã, milho, soja, tomate rasteiro para fins industriais e trigo. O produto está registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA sob nº 09298.

A via intraperitoneal foi a via escolhida, por garantir a absorção da dose, já que por outras via corria-se o risco de não se saber a exata dose absorvida.

As cobaias foram divididas em três grupos: no grupo I (controle) foi realizada a administração de água destilada intraperitoneal em dose única diária, no mesmo volume correspondente à dose

de agrotóxico para o peso da cobaia; no grupo II foi administrado o agrotóxico por via intraperitoneal na dose única diária de 0,5 mg/kg/dia; e no grupo III foi administrado o agrotóxico por via intraperitoneal na dose única diária de 1,0 mg/kg/dia, todos durante dez dias consecutivos. As cobaias tiveram seu peso controlado diariamente para o cálculo adequado da dose do agrotóxico a ser utilizada. O controle era composto por cinco cobaias, e os grupos tratados II e III, por seis e sete cobaias respectivamente. O número de cobaias por grupo foi definido de acordo com as normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária para realização de estudos toxicológicos, sendo o mínimo de cinco animais para cada dose testada no experimento. Dessa forma escolheu-se o mínimo de animais para a formação do grupo controle, acrescentando-se um animal conforme o aumento da dose, pelo risco de perda animais.

Para o manejo dos animais e administração do agrotóxico foram utilizados os equipamentos de proteção individual recomendados na bula do produto.

A dose do agrotóxico escolhido foi baseada na $D_L 50$ oral para ratos do Pynrex 480 CE®, encontrada na bula do produto, que é de 300 mg/Kg e considerou as normas da ANVISA de não exceder 80% da $D_L 50$.

A avaliação funcional selecionada para ser realizada neste estudo foi a prova calórica gelada (água à 10°C), conforme o protocolo de Marseillan, Grellet e Colafémia (1969) dentro do espectro do exame de ENG. As variáveis selecionadas foram: frequência de aparecimento de nistagmos (Fn) em 10 segundos de registro, mensurada em unidades por segundo (u/s) e velocidade angular da componente lenta (VACL), medida em graus por segundo (°/s).

A ENG foi realizada 24 horas antes de se iniciar o experimento e 24 horas após a última administração do agrotóxico e de água destilada no grupo controle. O primeiro exame foi realizado para que pudesse ser usado como parâmetro de comparação da situação do sistema vestibular das cobaias, previamente a intoxicação e pós-intoxicação. O segundo procedimento foi realizado para avaliação do efeito do agrotóxico no sistema vestibular destas cobaias por meio de uma prova funcional, analisando assim o reflexo vestibulo-ocular das mesmas.

A técnica a ser utilizada para o estudo das respostas vestibulares ao estímulo térmico foi a desenvolvida por Marseillan, Grellet e Colafémia em 1969. Essa técnica baseia-se no registro eletro-nistagmográfico das reações oculares ao estímulo térmico, em cobaias preparadas para experimentos crônicos com eletrodos permanentes¹³. Todas as cobaias selecionadas foram submetidas a um

procedimento cirúrgico asséptico para a implantação de um eletrodo subcutâneo, na região frontal, e dois eletrodos subcutâneos nas regiões periorbitais (esquerda e direita) sob anestesia com cloridrato de Xilazina 2% (0,5 ml/Kg – Dopaser®; Laboratórios Calier do Brasil Ltda) e cloridrato de Quetamina 10% (0,9ml/Kg - Ketamin® 50mg/ml; Laboratório Cristália), via intramuscular.

Os eletrodos implantados foram confeccionados com fio metálico conforme o modelo desenvolvido pelos criadores da técnica (Figura 1), possuindo externamente a cabeça do animal uma tomada para captação do sinal (Figura 2).

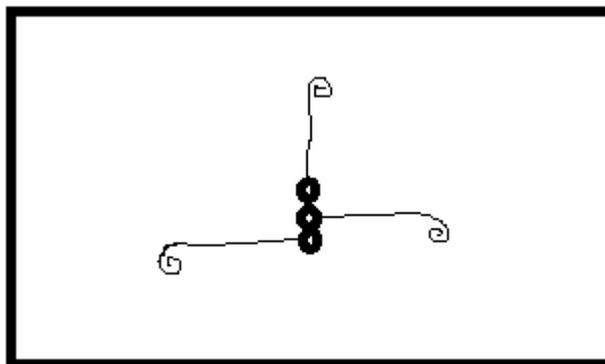


Figura 1 – Desenho esquemático dos eletrodos permanentes implantados

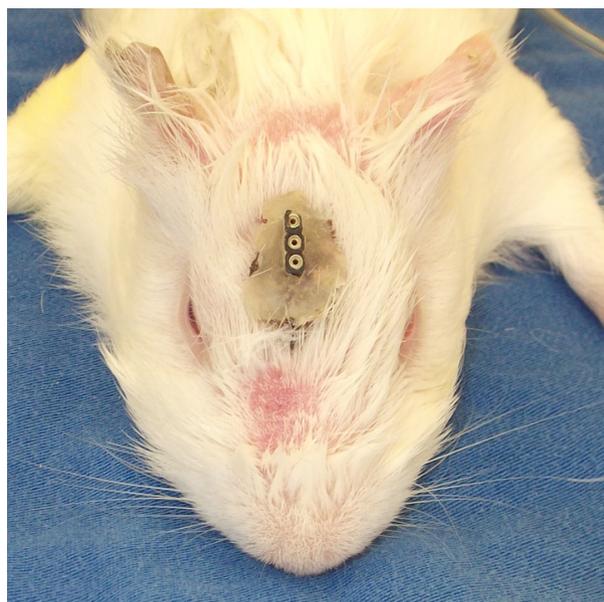


Figura 2 – Fotografia da cabeça de cobaia com eletrodos implantados permanentemente e tomada externa

Após a cicatrização do ferimento cirúrgico as cobaias foram contidas em caixas adequadas para o registro do nistagmo, provocado pela irrigação com 20 ml de água gelada a 10°C no conduto auditivo externo.

Concluídos os dez dias de administração do agrotóxico, as cobaias foram submetidas a um novo registro do nistagmo (Figura 3), utilizando-se o eletrodo permanente já implantado, provocado novamente pela irrigação do conduto auditivo externo com 20 ml de água à 10°C.

Para o registro do exame foi utilizado o equipamento Nistagmocil®, monocanal, que é um eletronistagmógrafo para registro de nistagmos provocados pelo método de RALPAC (estimulação

térmica a ar ou água), é portátil e de simples manejo, constituído por um sistema de registro acrescido de pré-amplificadores especiais acoplados por meio de capacitores que registram variações dos potenciais córneo-retinianos, mas que não registram os valores absolutos desses potenciais.

Os pré-amplificadores foram regulados para uma excursão de 2 cm da pena inscritora no papel de registro. Os elétrodos são polarizados de maneira que o olhar para a direita ocasione o desvio da pena para cima e o olhar para a esquerda cause um desvio da pena inscritora para baixo.

A calibração dos movimentos deu-se a partir da estabilização da pena e permanência da cobaia com a cabeça em posição estável.



Figura 3 – Fotografia dos equipamentos e registro da Eletronistagmografia

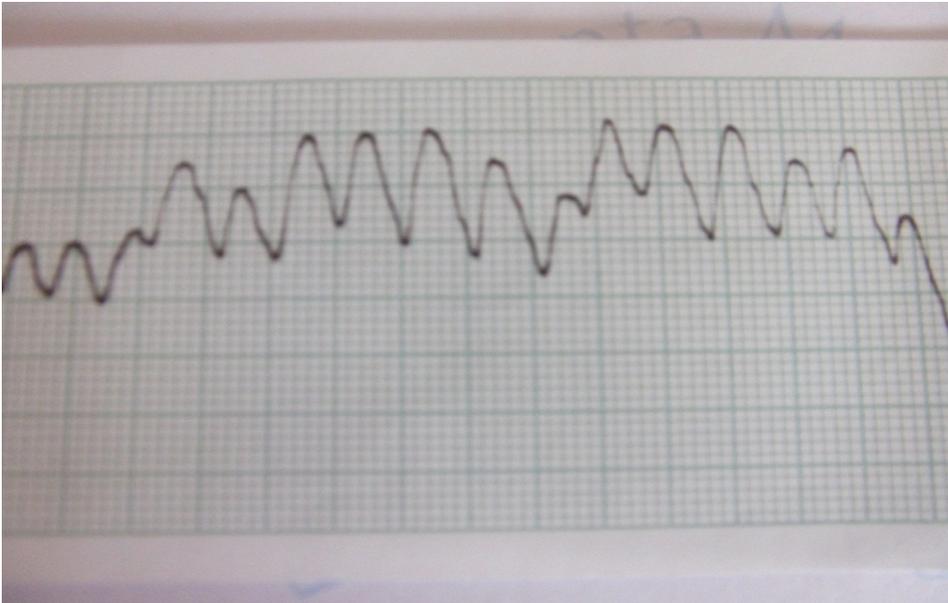


Figura 4 – Fotografia do registro dos nistagmos para a direita de cobaia do Grupo Controle, estímulo oferecido na orelha esquerda

Os valores da frequência de aparecimento de nistagmo (Fn) foram obtidos a partir da contagem do número de nistagmos presentes em 10 segundos de registro do exame, com base na velocidade do papel no equipamento utilizado de 25 mm/s.

Para a obtenção dos valores da velocidade angular da componente lenta (VACL), foram realizadas três medidas de nistagmos com bases iguais em três locais diferentes: no início, meio e fim do registro. O valor considerado para VACL para cada orelha de cobaia foi a média entre os nove valores mensurados.

Os dados encontrados foram tratados estatisticamente por meio do programa *Statística*, versão 9.0. Os dados coletados foram submetidos ao teste de normalidade de Lilliefors. Para os dados normais intragrupos foi utilizado o teste *t de Student* para variáveis dependentes. Já para os dados intergrupos foi realizado o teste *ANOVA*. Foi considerado o nível de significância de 5%.

■ RESULTADOS

Os resultados da ENG, quando comparados intragrupos demonstraram que não existe diferença significativa entre as orelhas em nenhum dos grupos, o que nos mostra que existe semelhança entre as orelhas, tanto na variável Fn como na variável VACL. O teste de comparação no momento pré-experimento entre os grupo I, II e III demonstrou que não existia diferença significativa entre eles, portanto os grupos eram homogêneos.

Tais testes foram realizados para garantir a homogeneidade entre as orelhas e entre os grupos. Este fato permite-nos comparar os resultados no momento pós-experimento, considerando que antes eles eram estatisticamente semelhantes.

As médias das Fn e da VACL para as orelhas dos animais em cada grupo estão explicitadas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Comparação dos valores médios das frequências do aparecimento de nistagmos (u/s) entre o pré e pós-experimento dos Grupos I, II e III (#)

Grupo	Pré Experimento	Pós Experimento	p-valor
G I (n= 5)			
OD	5,18±1,12	4,08±1,29	0,28
OE	4,78±0,70	4,28±1,39	0,37
G II (n= 6)			
OD	4,95±2,04	3,96±1,18	0,16
OE	4,63±0,98	4,08±1,30	0,20
G III (n= 7)			
OD	4,42±1,52	3,94±0,77	0,47
OE	4,45±1,27	5,04±0,79	0,37

(#) Os dados foram apresentados como a média ± desvio padrão
 OD - orelha direita; OE - orelha esquerda; n - número de cobaias; u/s - unidade/segundo
 Teste intragrupo – Teste *t de Student* Teste intergrupos - ANOVA

Tabela 2- Comparação dos valores médios das velocidades angulares da componente lenta (°/s) entre o pré e pós-experimento dos Grupos I, II e III(#)

Grupo	Pré Experimento	Pós Experimento	p-valor
G I (n= 5)			
OD	59,75±19,19	63,21±21,39	0,79
OE	55,59±23,25	73,39±22,70	0,09
G II (n= 6)			
OD	59,05±17,42	57,34±15,74	0,76
OE	44,31±14,37	52,86±11,19	0,36
G III (n= 7)			
OD	55,85±23,17	69,45±24,18	0,17
OE	62,66±16,71	68,31±25,69	0,54

(#) Os dados foram apresentados como a média ± desvio padrão
 OD - orelha direita; OE - orelha esquerda; n - número de cobaias; °/s - grau por segundo
 Teste intragrupo – Teste *t de Student* Teste intergrupos – ANOVA

A comparação entre os grupos no pós-experimento não demonstrou diferença estatisticamente significativa nas variáveis Fn e VACL.

■ DISCUSSÃO

Os testes pós-experimento não demonstraram diferença estatisticamente significativa revelando que o agrotóxico OF clorpirifós nas doses administradas de 0,5mg/kg/dia e 1mg/kg/dia, durante 10 dias não ocasionou dano que fosse detectado em exame funcional do sistema vestibular das cobaias.

Pesquisadores advertem que a grande maioria dos acidentes graves e fatais causados por agrotóxicos, incluindo a exposição acidental, profissional e a ingestão em caso de suicídio é devida aos

inseticidas OF e carbamatos altamente tóxicos^{14,15}. Estudo que observou a qualidade de vida e a saúde auditiva de trabalhadores expostos a agrotóxicos observou que tais compostos acarretam piores escores de qualidade de vida e efeitos sobre a saúde auditiva em comparação com população não exposta, evidenciando a influência dessas substâncias na saúde humana¹⁶.

Diversos estudos foram realizados com o objetivo de avaliar o impacto do uso de agrotóxicos OF na saúde humana. Tais estudos utilizaram como metodologia a entrevista com trabalhadores rurais expostos a estes compostos¹⁷⁻²⁴. Os resultados mostraram a tontura, como sendo um sintoma recorrente referido por esses trabalhadores. O que sugere um comprometimento funcional, porém

neste estudo não se encontrou diferença significativa entre as cobaias intoxicadas e as não intoxicadas, por meio da prova calórica.

Ainda com a ressalva, de que a entrevista com trabalhadores é uma avaliação subjetiva e, portanto, não possui a mesma confiabilidade do exame funcional realizado neste estudo. Exame este, que confere um resultado mensurável do efeito causado pela exposição à substância em questão. Em contraponto com esta pesquisa, os estudos referidos avaliam os sintomas crônicos, enquanto a amostra dessa pesquisa foi exposta por um período breve, onde se avaliou o efeito agudo e em animais.

O estudo que avaliou as alterações morfológicas do aparelho vestibulo-coclear de cobaias expostas a OF encontrou evidências de alterações por meio da microscopia eletrônica de varredura nas cócleas, sáculos e utrículos. Este resultado que evidencia uma alteração morfológica pode sugerir um distúrbio funcional²⁵. No entanto, na presente pesquisa ainda não houve manifestação de sintomas funcionais, isto pode ter ocorrido em virtude da diferença do princípio ativo testado, apesar de pertencer à classe dos compostos organofosforados.

Os resultados da presente pesquisa não mostraram diferença estatística significativa entre as variáveis pesquisadas. Isto está em desacordo com outros pesquisadores que encontraram alterações funcionais em testes sensorio-motores em seres humanos como mudança na medida de oscilação postural com olhos fechados e em superfície macia, sugerindo efeito subclínico do agrotóxico sob os sistemas vestibular e proprioceptivo⁷. Também discorda da pesquisa, que analisou a Vectoeletronistagmografia de trabalhadores expostos a OF cronicamente, que encontraram alterações em 50 % dos casos analisados; estas alterações traduziram-se em hiperreflexia na prova calórica da VENG, entretanto, aqui avaliou-se os efeitos agudos deste organofosforado²⁶.

O estudo com trabalhadores rurais expostos de forma aguda torna-se difícil, já que a grande maioria destes sujeitos esteve anteriormente exposta a estas substâncias por longos períodos. Outra limitante do estudo com seres humanos é que raramente os mesmos estão expostos a um só agente, o que dificulta a avaliação dos efeitos específicos de um único princípio ativo. Por tal motivo, o estudo experimental torna-se uma alternativa de se pesquisar o efeito isolado de um princípio ativo.

Os achados dessa pesquisa são similares àqueles encontrados em pesquisa realizada na China, país de forte produção agrícola, que utilizou como amostra 301 crianças com idade entre 23-25

meses expostas a OF. Neste estudo evidenciou-se a presença de altos níveis de metabólitos OF nos testes de urina, porém não encontrou relação entre este dado e os níveis de desenvolvimento infantil²⁷. Este fato reforça a ideia de que mesmo na presença do composto no organismo, muitas vezes não se encontra relação funcional com este achado.

Exposições agudas a organofosforados podem não ser capazes de representar alterações em exames funcionais, como mostra o estudo que avaliou os efeitos destes compostos no sistema auditivo de cobaias. A pesquisa encontrou alterações nas células ciliadas externas da cóclea pós-intoxicação aguda por OF, porém esta lesão morfológica não se traduziu em alteração funcional no sistema auditivo periférico das cobaias avaliadas pelos testes de Emissões Otoacústicas Produto de Distorção e potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico¹¹.

O período agudo de exposição e avaliação pode ter sido o fator determinante dos resultados não significantes neste estudo, apontando para a necessidade de se realizar estudos com diferentes doses e por um período de tempo mais prolongado para que se possa determinar com maior segurança a utilização desta substância.

Apesar dos resultados ainda conflitantes com a relação aos efeitos morfológicos da exposição a agrotóxicos, os estudos mostram a observação de sinais e sintomas na população exposta a estes compostos e que tais relatos devem-se ao uso incorretos das substâncias, o despreparo dos trabalhadores com relação ao manuseio e subestimação dos efeitos destes compostos a saúde^{28,29}.

■ CONCLUSÃO

O agrotóxico organofosforado clorpirifós nas doses testadas não demonstrou dano funcional ao sistema vestibular das cobaias intoxicadas de forma aguda.

■ AGRADECIMENTOS

Agradecemos às equipes do Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia e Anatomia, do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo pela colaboração nesta pesquisa e a CAPES pelo apoio financeiro.

ABSTRACT

Purpose: this study aimed to assess the functioning of the vestibular system of guinea pigs exposed to the organophosphate chlorpyrifos, acutely, through caloric stimulation electronystagmography. **Methods:** the research conducted an experimental electronystagmography of guinea pigs exposed to organophosphate for 10 consecutive days, at doses 0.5 mg / kg / day and 1.0 mg / kg / day intraperitoneally and compared with a control group that received distilled water administration. We performed caloric ice (10 ° C) and compared the variables frequency of appearance of nystagmus in 10 seconds (u / s) and angular velocity of the slow component (° / s). **Results:** the results showed no statistically significant difference in the comparison of variables between groups. **Conclusion:** we conclude that the tested doses of the pesticide organophosphate chlorpyrifos caused no detectable functional damage in the caloric test.

KEYWORDS: Postural Balance; Vestibule, Labyrinth; Insecticides, Organophosphate; Pesticides; Drug Toxicity

■ REFERÊNCIAS

- Mor R, Fragoso M. Vestibulometria na prática Fonoaudiológica. São José dos Campos, SP: Pulso Editorial, 2012. P.19-27.
- Morozetti PG, Ganança CF, Chiari BM. Comparação de diferentes protocolos de reabilitação vestibular em pacientes com disfunções vestibulares periféricas. J SocBrasFonoaudiol. 2011[acesso em 5 de agosto de 2013];23(1):44-50. Disponível em:<http://www.scielo.br/pdf/jbsbf/v23n1/v23n1a11.pdf>
- Mazzucato A, Borges APO. Influência da reabilitação vestibular em indivíduos com desequilíbrio postural. RevNeurocienc. 2009[acesso em 5 de agosto de 2013]; 17(2):183-8.Disponível em:<http://www.revistaneurociencias.com.br/edicoes/2009/RN%2017%2002/17.pdf>
- Mor R, Fragoso M. Vestibulometria na prática Fonoaudiológica. São José dos Campos, SP: Pulso Editorial, 2012.P. 43-99.
- Munaro G, Sleifer P, Pedroso FS. Análise da influência do nistagmo espontâneo e pré-calórico na Vectoeletronistagmografia. Rev CEFAC.2009;11(2):331-7.
- Teixeira CF, Augusto LGS, Morata TC. Saúde auditiva de trabalhadores expostos a ruído e inseticidas. Rev Saúde Pública.2003;37(4):417-23.
- Hoshino ACH, Pacheco-Ferreira H, Taguchi CK, Tomita S, Miranda MF.Estudo da ototoxicidade em trabalhadores expostos a organofosforados.Rev Bras Otorrinolaringol. 2008;74(6):912-8.
- Silva JM, Silva EM, Faria HP, Pinheiro TMM. Agrotóxico e trabalho: uma combinação perigosa para a saúde do trabalhador rural.Ciênc e Saúde Coletiva. 2005;10(4):891-903.
- Domingues MR, Bernardi MR, Ono EYS, Ono MA. Agrotóxicos: Risco à Saúde do Trabalhador Rural. Semina: Ciênc. Biológicas e da Saúde. 2004 [acesso em 5 de agosto de 2013]; 25:45-54. Disponível em:<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/3625/0>.
- Körbes D. Toxicidade de agrotóxico organofosforado no sistema auditivo periférico de cobaias: estudo anatômico e funcional. [dissertação]. Santa Maria (RS): UFSM - Distúrbios da Comunicação Humana; 2009.
- Silva LMF, Araújo GT, Silva ADV, Junior MV, Carvalho CM.Levantamento dos agrotóxicos utilizados na horticultura no município de Ubajara-CE. RevBrasAgricultura Irrigada. 2011[acesso em 5 de agosto de 2013]; 5(4):280-5.Disponível em:<http://www.inovagri.com.br/index.php/2011/12/levantamento-dos-agrotoxicos-utilizados-na-horticultura-no-municipio-de-ubajara-ce/>.
- Jero J, ColingDE,Lalwani AK. The use of Preyer's reflex inevaluation of hearing in mice. ActaOtolaryngol.2001;121(5):585-9.
- Oliveira JAA,Cicilini GA, Souza ML, Andrade MH. Efeitos do ácido etacrínico sobre o sistema vestibular. Rev Bras Otorrinolaringol. 1979;45(1):8-16.
- Moraes ACL. Contribuição para o estudo da intoxicação humana por carbamatos: o problema do "chumbinho" no Rio de Janeiro. [dissertação]. Rio de Janeiro(RJ): FIOCRUZ – Saúde Pública; 1999.
- Moraes ACL, Brabora EM. A Toxicovigilância na Gestão da Saúde Pública e Ambiental: a questão dos agrotóxicos.Cad Saude Colet.2005[acesso em 5de agosto de 2013];8(4):1031-46.Disponível em:http://www.iesc.ufrj.br/cadernos/images/csc/2005_4/artigos/CSC_2005-4_anaclaudia.pdf.
- Sena TRR, Vargas MM, Oliveira CCC. Saúde auditiva e qualidade de vida em trabalhadores

- expostos a agrotóxicos. *Ciênc saúde coletiva*. 2013[acesso em 5 de agosto de 2013]; 18(6):1753-61. Disponível em:<http://www.scielosp.org/pdf/csc/v18n6/26.pdf>.
17. Manjabosco CW, Morata TC, Marques JM. Perfil Audiométrico de Trabalhadores Agrícolas. *Arq Otorrinolaringol*.2004[acesso em 15 de novembro de 2012]; 8(4):285-95. Disponível em:<http://www.arquivosdeorl.org.br/conteudo/acervo_port.asp?id=293>.
18. Araújo AJ, Lima JS, Moreira JC, Jacob SC, Soares MO, Monteiro, MCM et al.Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ.*Ciênc saúde coletiva*. 2007[acesso em 15 de novembro de 2012];12(1):115-30. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S141381232007000100015&script=sci_arttext>.
19. Lisboa R, Sena J, Dutra T. Uso de agrotóxicos na produção de hortaliças da Bacia Hidrográfica do Natuba, afluente do Tapacurá – PE e consequências sobre o meio ambiente e saúde dos agricultores. Artigo apresentado no II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica, João Pessoa, PB, 2007.
20. Faria NMX, Rosa JAR, Facchini LA. Intoxicações por agrotóxicos entre trabalhadores rurais de fruticultura, Bento Gonçalves, RS. *Rev Saúde Pública*. 2009[acesso em 15 de novembro de 2012];43(2):1-10. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rsp/2009nahead/7200.pdf>>.
21. Hoshino ACH, Pacheco-Ferreira H, Taguchi CK, Tomita S, Miranda MF. A auto-percepção da saúde auditiva e vestibular de trabalhadores expostos a organofosforados. *Rev CEFAC*. 2009[acesso em 15 de novembro de 2012];11(4):681-7. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S151618462009000800017&script=sci_abstract&lng=pt
22. Magalhães MAS. Exposição a agrotóxicos na atividade agrícola: um estudo de percepção de riscos á saúde dos trabalhadores rurais no distrito de Pau Ferro – Salgueiro – PE. [dissertação]. Recife (AL): Fundação Oswaldo Cruz – Saúde Pública; 2010.
23. Azevedo KAA. Neurotoxicidade perinatal por cádmio em ratos Wistar e interação com clorpirifós. [tese] São Paulo (SP): UNESP - Clínica Veterinária; 2009.
24. Souza JLNC. O uso de agrotóxicos entre produtores de hortaliças na localidade rural de Passo do Vigário, Viamão/RS. [monografia]. Balneário Pinhal (RS): UFRGS – Tecnólogo em Planejamento e Gestão para o Desenvolvimento Rural; 2011.
25. Körbes D, Silveira AF, Hyppolito MA, Munaro G. Ototoxicidade por organofosforados: descrição dos aspectos ultraestruturais do sistema vestibulococlear de cobaias. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2010 [acesso em 15 de novembro de 2012];76(2):238-44. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S180886942010000200015>.
26. DickRB,Steenland K, Krieg EF, Hines CJ. Evaluation of acute sensory–motor effects and test sensitivity using termiticide workers exposed to chlorpyrifos.*NeurotoxicologyandTeratology*.2001[acesso em 15 de novembro de 2012];23(4):381-93. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science>>.
27. Guodong D, Pei W, Ying T, Jun Z,YuG,Xiaojin W, et al. Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Shanghai children. *EnvironSci Technol*. 2012 [acesso em 15 de novembro de 2012];46(5):2911-7. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22304368>.
28. Silva EF, Paniz VMV, Last G, Torres ILS. Prevalência de morbidades e sintomas em idosos: um estudo comparativo entre zonas rural e urbana. *Ciênc saúde coletiva*. 2013 [acesso em 5 de agosto de 2013];18(4):1029-40.Disponível em:<http://www.scielosp.org/pdf/csc/v18n4/16.pdf>.
29. Friedrich K. Desafios para a avaliação toxicológica de agrotóxicos no Brasil:desregulação endócrina e imunotoxicidade. *Vigilância Sanitária em Debate*.2013 [acesso em 5 de agosto de 2013]; 1(2): 2-15. Disponível em:<http://www.visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/30>

<http://dx.doi.org/10.1590/1982-021620149313>

Recebido em: 01/06/2013

Aceito em: 20/10/2013

Endereço pra correspondência:

Lícia Assunção Cogo

Av. Mons. Pascoal Gomes Libreloto, 199,

Parque Dom Antônio Reis

Santa Maria – RS – Brasil

CEP: 97065-290

E-mail: liciacogo@hotmail.com