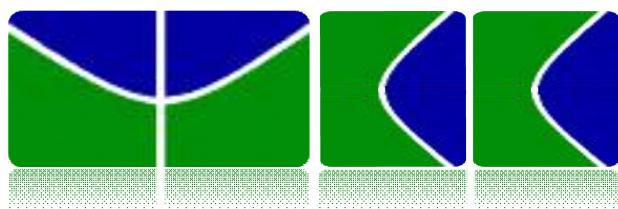


**Trabalho de Conclusão de Curso
Licenciatura em Ciências Naturais**



TESTE DO THIRAM COMO SENSIBILIZADOR DÉRMICO EM “CAVIA PORCELLUS”

Gabrielly Freire Rolim

Orientador: LUDGERO CARDOSO GALLI VIEIRA

Co-orientador: ALEX FABIANO CORTEZ CAMPOS

Universidade de Brasília

Faculdade UnB Planaltina

Agosto de 2010

RESUMO

A área toxicológica tem crescido de forma considerável no Brasil, principalmente no que tange aos produtos empregados na agricultura, setor no qual o país tem sua economia intimamente ligada. Neste contexto, dentre os produtos mais utilizados, destaca-se o princípio ativo Thiram. Entretanto sua comercialização é regulada pela ANVISA, em que um parecer toxicológico favorável deve ser emitido, com a finalidade de garantir a isenção de riscos ao ser humano e ao meio ambiente. Neste trabalho, foi feita uma avaliação do efeito do Thiram como substância sensibilizadora dérmica em porquinhos-da-índia (*"Cavia porcellus"*). Avaliou-se que o produto em contato com o animal acarreta a ocorrência de ferimentos podendo levá-lo até a morte. Desta forma, a comercialização do Thiram deve ser regulada de modo que seja utilizado em doses pequenas e com precauções no seu manuseio.

Palavras chaves: ANVISA, toxicologia, Thiram e porquinhos da índia.

ABSTRACT

Toxicological the area has grown significantly in Brazil, especially in regard to products used in agriculture, a sector where the country has its economy closely linked. In this context, among the most used products, there is the active principle Thiram. However their market is regulated by ANVISA, in which a favorable opinion should be issued toxicology, in order to ensure the exemption of risks to humans and the environment. In this work, an assessment was made of the effect of Thiram as a substance dermal sensitizer in guinea pig (*Cavia porcellus*). We evaluated the product in contact with the animal causes injury or even death can take you to death. Thus, the marketing of Thiram should be regulated so that it is used in small doses and with precautions in handling.

Key words: ANVISA, toxicology, Thiram and guinea pigs.

INTRODUÇÃO

A Comunidade Econômica Européia estabeleceu a diretriz 93/35/CEE que determina claramente que nenhuma experiência com animais deverá ser realizada em seu território, acarretando em um crescimento considerável no Brasil de testes em animais, na área de toxicologia. O decreto 4.074/02 determina que os testes, as provas e os estudos sobre mutagênese, carcinogênese e teratogênese podem ser realizados no mínimo em duas espécies animais. A toxicologia é uma ciência que tem como objeto de estudos os efeitos adversos das substâncias químicas nos organismos animais e/ou vegetais. O Brasil tem usado essa área voltada para a eliminação de fungos na agricultura, pois sua economia é intensamente ligada a ela.

A disseminação de doenças agrícolas, principalmente de origem fúngica, pode estar relacionada com a dispersão das sementes. Segundo NEERGAARD (1979), “um dos meios mais eficientes de disseminação de doenças é a semente, considerando-se que é através dela que os patógenos podem ser transportados a grandes distâncias e introduzidos em novas áreas”. Deste modo, torna-se mais fácil e vantajoso eliminar um patógeno no começo do ciclo de vida da espécie cultivada ao invés de pulverizar lavouras inteiras.

Diferentes produtos químicos são utilizados no tratamento específico das sementes, buscando a eliminação ou redução de patógenos (KREITLOW et al., 1961). Tais tratamentos são utilizados para prevenir ou reduzir perdas em produtividade da lavoura (e, consequentemente, perda financeira) devido ao ataque de organismos associados às sementes ou presentes no solo (HANSON et al., 1961).

O dissulfeto de tetrametiltiuram (Thiram, C₆ H₁₂ N₂ S₄), pertencente à família dos ditiocarbamatos, é utilizado como princípio ativo de diversos produtos agrícolas. Trata-se de um pesticida amplamente comercializado que destrói ou inibe a ação dos patógenos que atacam as plantas. A utilização desse pesticida sintético é muito comum em agricultura e apresenta

riscos ao meio ambiente e ao homem, pois pode ser absorvido pelas vias respiratórias, dérmicas e oral.

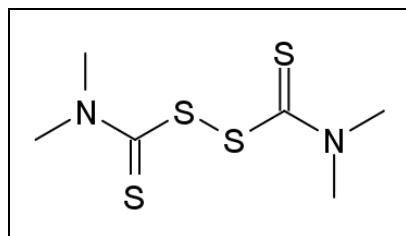


Figura 1. Estrutura química do dissulfeto de tetrametiltiuram (Thiram, C₆ H₁₂ N₂ S₄)

Não apenas o Thiram, mas qualquer produto que gere riscos ao bem estar humano e/ou do meio ambiente deve ser avaliado pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), que emitirá um parecer toxicológico favorável ou não à concessão do registro pelo Ministério da Agricultura. Este órgão tem a finalidade de promover a proteção da saúde da população por intermédio do controle sanitário, da produção e da comercialização de produtos e serviços submetidos à vigilância sanitária. Quando os testes acusam reações consideráveis, a empresa fabricante é obrigada a reduzir a concentração para obter a autorização da ANVISA. Por outro lado, caso ocorra reações dentro dos limites permitidos, o produto pode ser comercializado.

O principal objetivo deste estudo é avaliar se o Thiram oferece risco ao ser humano e ao meio ambiente, por meio da avaliação de seu efeito como substância sensibilizadora dérmica em porquinhos-da-índia *Cavia porcellus*. Os resultados obtidos neste estudo servirão como indicadores (i) do nível de perigo associado à exposição desta substância química e (ii) do nível previsto para que um estado de hipersensibilidade induzido ocorra.

METODOLOGIA

Área de estudo

O estudo foi realizado no laboratório Bioagri localizado em Planaltina-DF. O laboratório é uma empresa privada no qual presta serviços analíticos para controle de qualidade, além de fazer estudos para registro e desenvolver pesquisas com agroquímicos. A Bioagri segue um

rigoroso padrão de qualidade, baseado nas normas de Boas Práticas de Laboratório (BPL) fazendo com que os estudos e resultados gerados sejam da mais alta confiabilidade.

Procedimento piloto

A espécie utilizada para o estudo foi o porquinho da índia *Cavia porcellus*, pois o animal é o organismo modelo recomendado pelas agências reguladoras de acordo com (MAGNUSSON, 1970). O estudo foi feito com 30 animais, semelhantes em idade e massa corpórea, sendo 20 tratados e 10 controles. Os animais tratados receberam 3 doses de indução e uma dose desafio, enquanto os animais controle receberam apenas o desafio. A pesquisa iniciou-se com a aclimatação dos animais durante cinco dias, conforme estipulado na Organisation for Economic Co-operation and Development – OECD (1992 e 1998).

Posteriormente, foi realizado um estudo piloto para definir as doses da indução e do desafio para aplicar nas cobaias. No piloto a preparação da substância teste foi realizada em duas etapas. A primeira, o produto foi submetido ao teste de solubilidade para saber qual solvente torna a substância mais homogênea para ter o maior aproveitamento da substância. Os veículos utilizados com o Thiram foram: água deionizada, óleo de milho e DMSO (dimetilsulfóxido). A quantidade utilizada foi 0,5 g de substância teste para 0,5 ml de cada veículo. Logo em seguida foi feito o teste de saturação no qual determina a quantidade máxima que pode ser utilizado do produto para tornar uma solução homogênea sem precipitação de corpo de fundo. As doses utilizadas foram 0,5 g, 0,6 g, 0,7 g e 0,8 g para 1 ml de solvente escolhido na solubilidade. Por fim, a dose selecionada no estudo piloto foi de 0,7 g de soluto e como solvente utilizado, o DMSO.

A partir da definição desse valor (0,7 g de soluto), a solução foi dividida em quatro concentrações (20, 50, 70 e 100%), sendo cada com 2 ml. Essas concentrações foram aplicadas em dois animais, referentes ao estudo piloto. O primeiro animal recebeu do lado direito 20% e 100% do lado esquerdo. O segundo animal recebeu do lado direito 50% e 70% do lado esquerdo. Após algumas horas os veterinários fizeram exames clínicos para avaliar o

grau de reação epidérmica nas cobaias, para definir as quantidades na indução e no desafio. A dose de indução deverá ser aquela que apresentar a maior reação, com Grau 2 (eritema moderado e confluente, Tabela 1). Por outro lado, o desafio será a dose com maior concentração do soluto e que não cause nenhuma irritação no animal. Desta forma, diagnosticou que o padrão estabelecido para a indução é de 100% e para o desafio de 50%.

Tabela 1. Grau de reações na derme dos porquinhos da índia.

GRAU	REAÇÃO DÉRMICA
0	Nenhuma reação visível
1	Eritema discreto ou irregular
2	Eritema moderado e confluente
3	Eritema intenso e edema

Fases da aplicação

Quatro aplicações foram realizadas (1^a indução – dia 0, 2^a indução – dia 7, 3^a indução – dia 14 e desafio – dia 28) com intervalos de sete dias entre as induções e de quatorze dias entre a terceira indução e o desafio. Durante as aplicações ocorreram avaliações clínicas rotineiras nos animais para diagnosticar algum problema na derme.

Ao final do estudo todos os animais foram eutanasiados em câmera de dióxido de carbono e depois descartados. De acordo com NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1991) a eutanásia refere-se ao ato de provocar a morte dos animais por métodos que conduzem ao rápido estado de inconsciência seguida de morte sem dor ou desconforto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Decorridos os 30 dias de experiência com o princípio ativo Thiram, foi verificado o risco da substância em contato com os animais. Por ocasião das três exposições dos porquinhos da

índia com uma quantidade de 0,7 g de substância na derme, foi observada a ocorrência de ferimentos em 100% dos animais constando quatro mortes nas fases de indução 1, 2 e 3 (Figura 1). No desafio, a quantidade foi de 0,35 g de substância na derme, ocorrendo mais uma morte do grupo tratado (Figura 1).

De acordo com estes valores o teste foi reconduzido na finalidade de não obter nenhum falecimento. Os valores utilizados foram de 0,5 g nas induções e de 0,35 g no desafio. Após os exames clínicos foi averiguado que os animais apresentavam ferimentos na derme, mas não provocando qualquer reação que levasse a morte.

Os levantamentos dos dados referentes à pesquisa constataram que o produto apresenta um nível de perigo para os animais, consequentemente apresentando para as pessoas que possam estar expostas a ele. Baseando-se na escritora BEVERLY BELL (2010) “o Thiram pertence a uma classe de substâncias químicas altamente tóxicas chamadas bisditiocarbamatos etileno (EBDCs). Resultados dos testes de EBDC em ratos e camundongos causou preocupação ao ambiente E.U. Protection Agency (EPA).” Com base nessas informações podemos constatar que esta substância não pode ser manuseada pelos trabalhadores agrícolas sem proteção especial para a sua manipulação.

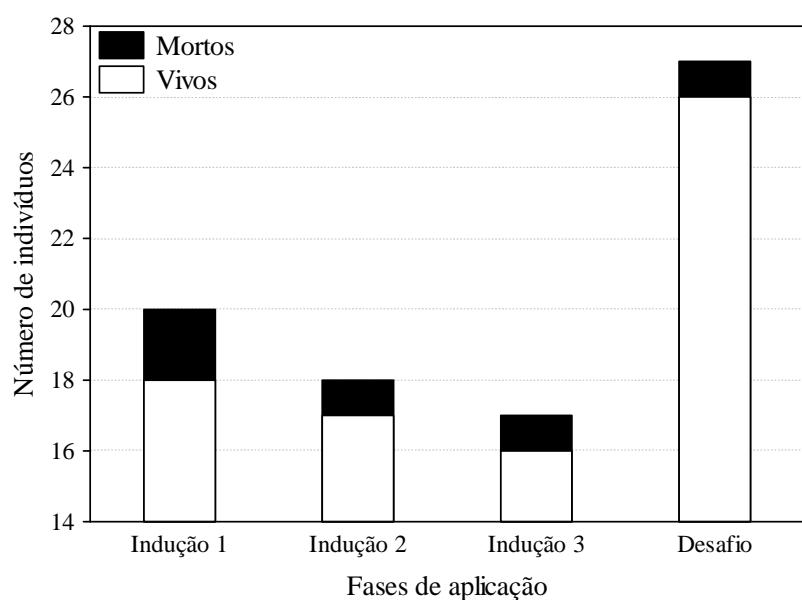


Figura 2. Taxa de mortalidade das cobaias nas induções e desafio.

Ainda, a biblioteca nacional de medicina em Bethesda nos Estados Unidos apresenta um banco de dados de substâncias perigosas no qual faz parte o produto Thiram que é moderadamente tóxico por absorção dérmica. Em ratos e camundongos, altas doses de thiram produzem má coordenação muscular, hiperatividade, seguido de inatividade, perda do tônus muscular, respiração difícil e convulsões. A maioria dos animais morreram. Trabalhadores expostos ao thiram durante a aplicação ou operações de mistura no prazo de 24 horas de consumo moderado de álcool foram hospitalizados com sintomas (garganta inflamada, rouquidão, espirros, tosse, inflamação do nariz ou da garganta, bronquite, dor de cabeça, fadiga, náuseas, diarréia e outras queixas gastrointestinais). Os resultados obtidos neste trabalho estão em excelente acordo com as informações da literatura acerca da utilização do Thiram para testes em animais, reafirmando que este produto é tóxico para o ser humano e o meio em que vive.

O meio acadêmico reconhece o alto potencial lesivo do composto, entre eles o pesquisador da empresa Chemtura que é uma das maiores companhias de especialidades químicas dos Estados Unidos.

Ainda não existe uma regulamentação para a utilização deste inseticida, de modo que se mostra de extrema importância a emissão de um parecer toxicológico favorável ou não à concessão do produto pela ANVISA para sua comercialização. Para isso, será necessário a implementação de testes em animais ou outros afins que possam definir as informações do pesticida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Agrotóxicos e toxicologia. **Arquivos da proteção à saúde**. Brasília, 2002. Disponível em: <<http://www.anvisa.com.br>>. Acesso em: 30 out. 2009.

BELL, B. Agricultores haitianos se comprometem a queimar as sementes híbridas da Monsanto. **Huffington**. 2010.

CHEMTURA. Importância do tratamento de sementes com fungicidas. **Arquivos do agroquímico**. Estados Unidos. Disponível em: < <http://www.chemtura.com.br>>. Acesso em 05 jun. 2010.

HANSON, E.W.; HANSING, E.D.; SCHROEDER, W.T. **Seed treatments for control of disease**, Washington: Yearbook of Agriculture, 1960. p. 273-279.

KREITLOW, K.W.; LEFEBVRE, C.L.; PRESLEY, J.T.; ZAUMEYER, W.J. **Diseases that seeds can spread**, Washington: Yearbook of Agriculture, 1961. p. 165-172.

MAGNUSSON, B.; KLIGMAN, A.M. **Allergic Contact Dermatitis in the Guinea Pig**, Illinois: Charles C. Thomas, 1970. p. 423-436.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **Hazardous Substances Data Bank**, Bethesda, 1995. p. 4-5.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Education and training in the care and use of laboratory animals**. A guide for developing institutional programs. Washington: National Academy Press, 1991. p. 67-74.

NEEGAARD, P. **Seed pathology**. London: McMillan, 1979. 839p.

OECD - ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guideline for testing of chemicals**, Health Effects. United States, 1992. 406p.

OECD - ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring**. Paris, 1988. p.11-30.