

## Avaliação do grau de efeito toxicológico do diclorvós, após exposição inalatória em ambiente sem ventilação

### Evaluation of the toxicological effect grade of dichlorvos after its exposure in environment without ventilation

RIALA6/1534

Emerson Sanches NARCISO\*

Endereço para correspondência: Laboratório de Toxicologia, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Proteção Ambiental, Instituto Biológico, Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252, São Paulo, SP, Brasil, CEP: 04014-002. Tel.: (11) 5087-1757. E-mail: emerson@biologico.sp.gov.br

Recebido: 27.04.2012 – Aceito para publicação: 11.10.2012

#### RESUMO

Os inseticidas de uso doméstico são utilizados para proteger o ambiente urbano. Porém, esses produtos propiciam risco à saúde. Neste experimento preliminar foi avaliado o grau de efeito tóxico em ratos, após a exposição inalatória ao diclorvós, um inseticida de uso doméstico, em ambiente sem ventilação. O inseticida foi pulverizado no interior de uma câmara de vidro e os ratos foram expostos durante 6 e 24 h. A atividade da colinesterase plasmática foi analisada antes e após a exposição. O efeito da exposição inalatória refletiu-se sobre a depressão enzimática em até 37%. A permanência em ambiente sem ventilação ou arejamento por maior tempo acarretou maior grau de intoxicação.

**Palavras-chave.** diclorvós, exposição inalatória, efeito tóxico.

#### ABSTRACT

Household insecticides are used for protecting the urban environment. However, these product might cause health risk. This preliminary study aimed at evaluating the toxic effects of an insecticide for household use (dichlorvos) in rats by inhalation exposure in an unventilated environment. The insecticide was sprayed inside a glass chamber and the rats were exposed for 6 and 24 hours. The plasma cholinesterase activity was analyzed before and after the exposure. The effect of inhalation was reflected on the enzyme depression in association with the exposure length of time. The permanence in the environment without ventilation, for longer time, resulted in higher degree of intoxication.

**Keywords.** dichlorvos, inhalation exposure, toxic effect.

## INTRODUÇÃO

Os inseticidas são substâncias ou mistura de substâncias, formuladas, visando matar, reduzir, repelir, ou interromper o ciclo reprodutivo de determinados insetos considerados pragas. Seu uso como saneante desinfestante no controle de pragas sinantrópicas em áreas urbanizadas é uma prática comum, sendo aplicados em ambientes internos e externos para a proteção dos habitantes e das edificações.

A presença de inseticida no ambiente das edificações das áreas urbanizadas favorece a ocorrência de exposição não ocupacional ou intradomiciliar involuntária da população ao resíduo inseticida, após a aplicação. Esse resíduo poderá ser absorvido através das múltiplas vias expostas (oral, dérmica, inalatória). Em vista disso, o risco de ocorrerem efeitos adversos, mesmo que subclínicos, após a exposição existe e é representativo principalmente nas populações suscetíveis, tais como crianças, idosos, gestantes, pessoas adoentadas<sup>1-3</sup>.

Portanto, o ar interno e os elementos que compõem o ambiente das edificações urbanas são importantes fontes de informações referentes à contaminação e à exposição, particularmente daquelas substâncias de aplicação direta, como são os inseticidas<sup>1-3</sup>.

De modo geral, é maior a preocupação em relação ao uso de pesticidas na produção de alimentos, ou quanto à exposição ocupacional, do que na utilização urbana dos pesticidas, ou quanto à exposição não ocupacional. Embora amplamente utilizados, pouco se sabe a respeito das exposições não ocupacionais, do nível de concentração residual após a aplicação, ou se conhece medições quantitativas feitas para ambientes urbanos<sup>3</sup>. Na literatura internacional, estudos com enfoque nessa linha têm gerado informações a respeito do risco envolvido após a utilização desses produtos no ambiente das edificações urbanas. Considerando os prováveis efeitos adversos a partir de exposições involuntárias aos saneantes desinfestantes do tipo inseticida, cresce a necessidade de estudar as variáveis que influenciam a relação de causa e efeito na diversidade de cenários do ambiente urbano.

O ambiente urbano comporta uma população que passa grande parte da vida no interior das edificações, onde o uso de pesticidas é recorrente. Em média, um adulto gasta 87% de seu tempo nesse tipo de ambiente<sup>2</sup>. Com efeito, a exposição inalatória não ocupacional à inseticida de uso doméstico pode ocorrer num espaço de tempo dentro desse período.

A via inalatória é uma via de acesso para diferentes substâncias suspensas no ar: partículas, vapores e/ou gases. No caso dos inseticidas, o diclorvós possui pressão de vapor relativamente alta, portanto, essa via seria a rota mais provável de intoxicação acidental.

Dentro do grupo dos saneantes desinfestantes, o diclorvós, pertencente à classe dos organofosforados, expressa sua toxicidade inibindo a colinesterase. Existem dois tipos de colinesterase: a butirilcolinesterase, presente no plasma, fígado e outros tecidos; e a acetilcolinesterase, encontrada nos eritrócitos e sistema nervoso. Uma vez inibida, distúrbios de ordem colinérgica poderão se manifestar. Através da determinação do nível de inibição dessas enzimas, é possível detectar a ocorrência de exposição e determinar o grau de intoxicação após a exposição a organofosforados e carbamatos<sup>4,5</sup>.

Partindo dessa concepção, o objetivo deste experimento preliminar foi avaliar o grau de efeito tóxico da exposição inalatória em um modelo animal durante 6h e 24 h, em ambiente sem ventilação ou arejamento, após a pulverização do inseticida de uso domissanitário diclorvós.

## MATERIAL E MÉTODOS

Ratos (*Rattus norvegicus*) machos da linhagem *Wistar*, pesando aproximadamente  $250 \pm 50$  g foram acondicionados em gaiolas de polipropileno, sem restrição de água ou alimento e mantidos em biotério de experimentação na condição de temperatura ambiente, umidade relativa entre 50 e 70% e ciclo de fotoperíodo.

Dezoito animais foram distribuídos ao acaso em seis grupos de três e sorteados para a exposição inalatória em dois diferentes períodos: grupos 1, 2 e 3 para o período de 6 h; grupos 4, 5 e 6 para o período de 24 h. O experimento foi realizado em dias alternados com a exposição ao inseticida de um grupo por dia. No intervalo de um dia entre cada repetição, a câmara foi lavada com água e sabão (pH neutro) e seca. A remoção de possíveis resíduos remanescentes da pulverização foi feita com álcool etílico 95% borrifado no vidro da câmara e removido com papel toalha.

A avaliação do efeito tóxico do diclorvós foi feita através da determinação da atividade da colinesterase plasmática. Na pré-exposição, foram colhidos 2 mL de sangue por punção do plexo retroorbital de cada animal, em tubos heparinizados. O plasma foi separado por centrifugação a 2000 rpm por 10 min, e a atividade da colinesterase plasmática de cada animal foi determinada

em triplicata pelo método espectrofotométrico de Ellman et al.<sup>4</sup> modificado por Wilhelm<sup>5</sup>, em comprimento de onda de 430 nm. Para tanto, pipetou-se 2,75 mL de tampão fosfato pH 7,4, 100 µL de ácido (5,5' ditiobis) 2-nitrobenzoico (DTNB), 50 µL de plasma e 50 µL de acetiltiocolina (substrato).

Para o fim proposto, cada grupo foi disposto ao centro, no interior de uma câmara de vidro com 4,0 m<sup>3</sup> e a 1 m de altura do piso (zona de respiração). Em seguida, da altura de 25 cm, foi pulverizado o formulado comercial concentrado emulsionável (CE) do diclorvós (2,2-diclorovinil dimetil fosfato) (CAS number 62-73-7), na concentração de 1,0 g.mL<sup>-1</sup> de ingrediente ativo (i.a.), equivalendo a 50 mL.m<sup>-2</sup> em uma área de 2 m<sup>2</sup>, e, para tanto, foi utilizado um pulverizador de compressão prévia. Após a pulverização a porta da câmara foi fechada e assim permaneceu até o final de cada período de exposição. Ao final de cada período, cada grupo foi retirado do interior da câmara de vidro e eutanaziado, para coleta de sangue e determinação da atividade da colinesterase plasmática.

A porcentagem de inibição da colinesterase foi estimada a partir da média dos valores registrados na pré e pós-exposição de cada rato. Os valores da pós-exposição dos dois períodos foram comparados estatisticamente, através do Teste *t* de Student, comparação entre médias de amostras independentes (unilateral), com  $\alpha = 0,05$ .

Os procedimentos experimentais utilizando animais foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Instituto Biológico (CETEA-IB nº 71/08).

## RESULTADOS

Os resultados da colinesterase plasmática obtidos dos animais dos grupos 1, 2 e 3 expostos por 6 h revelaram comprometimento da atividade da enzima estimada em 26% (Tabela 1). Não foi identificado nenhum sinal clínico de intoxicação provocado pela exposição ao inseticida nos animais desses grupos.

Os resultados encontrados nos grupos 4, 5 e 6, expostos por 24 h, evidenciaram uma inibição na atividade da enzima estimada em 37% (Tabela 1). Nesses animais foi possível observar sinais clínicos de intoxicação de intensidade leve, do tipo fasciculação e irritabilidade.

A diferença de 11% entre os dois períodos de exposição é estatisticamente significativa (*p* valor =

0,03), demonstrando que a atividade da colinesterase plasmática foi inibida em maior proporção nos grupos expostos por 24 h do que naqueles que permaneceram expostos por 6 h.

**Tabela 1.** Médias ( $\pm$  DP) da atividade da colinesterase plasmática e inibição

Período (h)	Atividade da colinesterase plasmática ( $\Delta E.mL^{-1}.min^{-1}$ )		Inibição (%)
	Pré-exposição	Pós-exposição	
6	1,01 $\pm$ 0,15	0,75 $\pm$ 0,17	25,7
24	0,97 $\pm$ 0,12	0,61 $\pm$ 0,11	37,1

## DISCUSSÃO

Apesar da ampla utilização de inseticidas nos ambientes das edificações urbanas, pouco se discute a respeito das exposições não ocupacionais ou involuntárias da população, do nível de concentração residual do inseticida após sua aplicação e do risco envolvido nesse cenário.

Com a câmara de vidro, pretendeu-se simular um ambiente intradomiciliar pequeno, sem ventilação ou arejamento, a fim de conhecer o efeito do diclorvós nesse cenário de exposição.

Após a pulverização, o resíduo gerado favorece a exposição involuntária da população por múltiplas vias e esse fato amplia o nível de exposição<sup>1-3</sup>. Dentro desse contexto, este experimento foi configurado para evitar a possibilidade de exposição por múltiplas vias e favorecer a via inalatória.

Sendo assim, as magnitudes da contaminação e da exposição estão relacionadas a fatores que envolvem a volatilidade do ingrediente ativo, tipo de aplicação, característica do ambiente, concentração do inseticida no ambiente, período de exposição e suscetibilidade da população. Toxicologicamente, os efeitos adversos estão associados à toxicidade do inseticida, à via exposta e à dose absorvida<sup>1,2</sup>.

Na condição sem ventilação ou arejamento, a concentração do diclorvós na câmara provavelmente se dissipou pouco. Dados obtidos a partir do monitoramento do diclorvós em ambiente sem ventilação, indicam que ele dissipa pouco no ar interno de edificações, atingindo menor nível de concentração após 18 h da aplicação. Em contrapartida, em ambiente ventilado registrou-se redução na concentração 10 h após a aplicação<sup>6</sup>. Fenômeno semelhante foi observado por Fenske et al.<sup>7</sup>,

que quantificaram em diferentes períodos os vapores do inseticida clorpirifós em ambiente doméstico sem ventilação e com ventilação. No ambiente sem ventilação, constataram que a concentração do inseticida no ar ambiente se elevou imediatamente após a aplicação, atingindo um pico após 7 h que declinou até 24 h.

Ainda que se considere a possibilidade de declínio da concentração do diclorvós somado à sua baixa atividade residual, não foi possível saber através da exposição contínua dos ratos qual era o período de maior concentração dos vapores do inseticida. Entretanto, foi a exposição constante que indicou qual período ofereceu maior risco. Portanto, o nível de inibição da enzima caracterizou a duração da exposição como determinante para o efeito medido, pois a quantidade do inseticida presente no ar da câmara estava em nível suficiente para comprometer a atividade normal da colinesterase plasmática dos grupos expostos nos períodos de 6 e 24 h. Assim sendo, o efeito registrado como resultado da exposição inalatória mostrou que a maior possibilidade de intoxicação foi pertinente ao período de 24 h, no qual os grupos expostos (4, 5 e 6) manifestaram visíveis sinais clínicos de intoxicação.

Logo, esse ambiente experimental mostrou-se insalubre, acarretando efeito adverso no organismo exposto. Por conseguinte, em qualquer ambiente sem ventilação ou arejamento, após a pulverização do diclorvós, poderá apresentar risco ao indivíduo exposto. E quanto maior for o período de exposição nesse ambiente maior será o risco.

Contudo, a inibição da atividade enzimática correlacionada com a intensidade e duração da exposição, embora tenha causado certo grau de intoxicação nos animais expostos, não foi considerada de extrema gravidade, pois a porcentagem de inibição não alcançou um valor significativo, mesmo para o maior período de exposição. A expectativa era de que o nível de inibição da colinesterase plasmática alcançasse no mínimo 50%. Assim, seria provável supor um maior comprometimento da acetilcolinesterase<sup>8</sup>, resultando num quadro de intoxicação mais acentuado, devido a maior importância fisiológica da acetilcolinesterase no sistema nervoso<sup>9</sup>.

O diclorvós, embora seja um inseticida altamente tóxico, inibidor direto da colinesterase, aplicado em ambiente sem ventilação, com inalação imediata e continua durante 6 ou 24 h por uma população sensível, não causou um impacto severo

sobre a saúde dos ratos. O grau de efeito tóxico indicou um cenário de importância toxicológica relativa, que possivelmente regrediria quando interrompida a exposição. Com efeito, num ambiente ventilado ou arejado a intoxicação provavelmente seria menor, fenômeno favorecido pela característica do diclorvós, um inibidor reversível da colinesterase e rapidamente degradado, *in vivo*<sup>8</sup>.

Assim sendo, o resultado da avaliação do grau do efeito tóxico após a exposição inalatória dos animais na câmara sem ventilação ou arejamento mostrou significativa diferença no nível de exposição entre os períodos, dando a conhecer maior risco de intoxicação pertinente ao período mais prolongado de exposição, o de 24 h. Portanto, o grau de efeito tóxico caracterizou a causa e o efeito da exposição no mesmo tipo de ambiente.

O potencial risco à saúde e a escassez de discussão quanto ao uso de pesticidas nos ambientes internos ou externos das edificações urbanas justificam estudos com o propósito de gerar informações a respeito da contingência da exposição não ocupacional a esses produtos, auxiliando no esclarecimento a respeito dos riscos envolvidos.

---

#### APOIO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo: 2008/05987-0).

---

#### REFERÊNCIAS

1. Krieger RI, Bernard CE, Dinoff TM, Ross JH, Williams RL. Biomonitoring of persons exposed to insecticides used in residences. *Ann Occup Hyg*. 2001;45(1001):S143-S153. Disponível em: [[http://annhyg.oxfordjournals.org/content/45/suppl\\_1/S143.full.pdf+html](http://annhyg.oxfordjournals.org/content/45/suppl_1/S143.full.pdf+html)].
2. Butte W. Sources and impacts of pesticides in indoor environments. *In: Indoor air pollution. Handbook Environm Chem*. 2004;4(F):89-116. Disponível em: [[http://faculty.ksu.edu.sa/Almutaz/Documents/Enviro\\_courses/ENVS-522/Indoor\\_Air\\_Pollution.pdf#page=93](http://faculty.ksu.edu.sa/Almutaz/Documents/Enviro_courses/ENVS-522/Indoor_Air_Pollution.pdf#page=93)].
3. Hahn S, Schneider K, Gartiser S, Heger W, Mangelsdorf I. Consumer exposure to biocides - identification of relevant sources and evaluation of possible health effects. *Environ Health*. 2010;9(7):2-11. Disponível em: [<http://www.ehjournal.net/content/9/1/7>].
4. Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*. 1961;7:88-95.
5. Wilhelm K. Determination of human plasma cholinesterase activity by adapted Ellman method. *Arh Hig Rad*. 1968;19:199-207.
6. IPCS. International Programme on Chemical Safety. Environmental health criteria for dichlorvos. 1988;79. [acesso 2012 set 17]. Disponível em: [<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc79.htm>].

7. Fenske RA, Black G, Elkner KP, Lee C, Methner MM, Soto R. Potential exposure health risks of infants following indoor residential pesticide applications. *Am J Public Health*. 1990;80(6):689-93. Disponível em: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1404741/pdf/amjph00219-0041.pdf].
8. Taylor JT, Davis E, Dabisch P, Horsmon M, Matson K, Crouse C, et al. Acute toxic effects of inhaled dichlorvos vapor on respiratory mechanics and blood cholinesterase activity in guinea pigs. *Inhal Toxicol*. 2008;20(5):465-72. Disponível em: [http://link.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl41?url\_ver=Z39.88-2004&url\_ctx\_fmt=infofi/fmt:kev:mtx:ctx&ctx\_enc=info:ofi/enc:UTF-8&ctx\_ver=Z39.88-2004&rft\_id=info:sid/sfxit.com:azlist&sfx.ignore\_date\_threshold=1&rft.object\_id=954925271384&svc.fulltext=yes].
9. Maroni M, Colosio C, Feriolo A, Fait A. Biological monitoring of pesticide exposure: a review. *Introduction. Toxicology*. 2000;143(1):9-37. Disponível em: [http://ac.e1s-cdn.com/S0300483X99001523/1-s2.0-S0300483X99001523main.pdf?\_tid=149a2810-f694-11e1-bad3-00000aab0f02&acdnat=1346765345\_b2448bb470025860f9bfbf5459ef9da3].