

Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**



Juliana Barroso Gomes

**Avaliação do potencial genotóxico, imunotóxico e carcinogênico dos compostos benzimidazóis: uma revisão sistemática de estudos epidemiológicos e experimentais**

Rio de Janeiro

2022

Juliana Barroso Gomes

**Avaliação do potencial genotóxico, imunotóxico e carcinogênico dos compostos benzimidazóis: uma revisão sistemática de estudos epidemiológicos e experimentais**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Toxicologia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Francisco José Roma Paumgarten.

Rio de Janeiro

2022

Título do trabalho em inglês: Evaluation of the genotoxic, immunotoxic and carcinogenic potential of benzimidazole compounds: a systematic review of epidemiological and experimental studies.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/CAPES (Bolsa de mestrado fornecida do mês de março de 2020 até abril de 2021) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro/FAPERJ (Bolsa Mestrado Nota 10 fornecida do mês de maio de 2021 até maio de 2022 [E-26/200.518/2021 (262069)]).

Catálogo na fonte  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde  
Biblioteca de Saúde Pública

G633a Gomes, Juliana Barroso.  
Avaliação do potencial genotóxico, imunotóxico e carcinogênico dos compostos benzimidazóis: uma revisão sistemática de estudos epidemiológicos e experimentais / Juliana Barroso Gomes. -- 2022. 239 f. : il. color. ; graf. ; tab.  
  
Orientador: Francisco José Roma Paumgarten.  
Dissertação (mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2022.  
  
1. Benzimidazóis. 2. Revisão Sistemática. 3. Toxicidade. 4. Estudos Epidemiológicos. 5. Genotoxicidade. 6. Estudos Experimentais. I. Título.

CDD – 23.ed. – 632.95042

Juliana Barroso Gomes

**Avaliação do potencial genotóxico, imunotóxico e carcinogênico dos compostos benzimidazóis: uma revisão sistemática de estudos epidemiológicos e experimentais**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Toxicologia Ambiental.

Aprovada em: 25 de maio de 2022.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Jose Mauro Granjeiro  
Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Helena Pereira da Silva Zamith  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde/Fundação Oswaldo Cruz

Prof. Dr. Francisco José Roma Paumgarten (Orientador)  
Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca/ Fundação Oswaldo Cruz

Rio de Janeiro

2022

*Dedico esta dissertação aos meus pais,  
Deizi Gomes e Marcelo Gomes. Meu amor  
e gratidão por vocês transbordam e serão  
eternos.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, por todas as bênçãos, proteção e por sempre me guiar nos momentos difíceis.

Ao meu irmão, Luis Felipe, e aos meus pais, Deizi e Marcelo, que sempre estiveram ao meu lado em todas as situações. Sou muito grata por todo o incentivo e dedicação, e por me ensinarem desde cedo a importância da educação e persistência.

Ao meu companheiro Lucas e sua família, por todo apoio, companheirismo, incentivo e por dividir comigo os melhores e piores momentos ao longo dessa trajetória.

Ao meu orientador Francisco Paumgarten, que compartilhou tantos aprendizados, experiências e conhecimentos. Obrigada por todo apoio, paciência e dedicação. Sem ele nada disso seria possível.

Ao bibliotecário Raphael Chança do INCA, por todo o auxílio e orientação com a estratégia de busca e o uso das bases de dados.

Aos bibliotecários Adriano Silva e Angelina Silva da Fiocruz, pela ajuda com o acesso aos artigos indisponíveis.

A Barbara Rodrigues e Rafael Braga, que desde a minha graduação se tornaram pessoas fundamentais no meu crescimento, profissional e pessoal, e que nunca mediram esforços para me ajudar e orientar.

A Marcia Sarpa, por todo apoio e incentivo ao longo de toda a minha caminhada.

A todos os professores e pesquisadores da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca/FIOCRUZ que contribuíram para a minha formação acadêmica.

A CAPES, pelo auxílio financeiro fornecido (Bolsista de mestrado) do mês de março de 2020 até abril de 2021.

E a FAPERJ, pelo auxílio financeiro fornecido (Bolsa Mestrado Nota 10) do mês de maio de 2021 até maio de 2022 [E-26/200.518/2021 (262069)].

## RESUMO

Os benzimidazóis constituem uma classe de substâncias químicas que são amplamente utilizadas, principalmente, como anti-helmínticos e fungicidas no setor agropecuário. Estes compostos, dentre seus mecanismos de ação, se ligam a tubulina e inibem a polimerização em microtúbulos, estruturas filamentosas do citoesqueleto eucariótico que estão envolvidas em diversos processos celulares. Os mecanismos de ação desta classe estão correlacionados a toxicidade dos benzimidazóis e o risco da exposição humana a estes agentes químicos. Nesse contexto, o objetivo geral do projeto consistiu em avaliar a evidência disponível sobre o potencial genotóxico, imunotóxico e/ou carcinogênico dos compostos benzimidazóis para fins de avaliação de risco à saúde humana. Desenvolveu-se uma revisão sistemática de estudos experimentais (*in vitro*, *in vivo* e *ex vivo*) e uma de estudos epidemiológicos (envolvendo a exposição humana), de forma independente. A metodologia foi baseada no: registro dos protocolos na plataforma PROSPERO; busca das evidências nas bases de dados eletrônicas Medline, Embase e BVS; seleção dos estudos pelos critérios de inclusão e exclusões; extração dos dados; avaliação do risco de viés das pesquisas incluídas; e síntese qualitativa e interpretação crítica dos resultados. Posteriormente, as evidências foram integradas através dos aspectos de Bradford Hill para avaliar a relação causal entre a exposição e a toxicidade. Parabendazol e triclabendazol foram os únicos compostos benzimidazóis que não apresentaram nenhum tipo de evidência e, portanto, não puderam ser avaliados. Os estudos epidemiológicos foram escassos e de exposições múltiplas, em sua maioria, mas de modo geral, todos os compostos benzimidazóis, com exceção do fuberidazol, demonstraram em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* uma capacidade genotóxica bem estabelecida. Embora algumas pesquisas tenham observado resultados positivos para a carcinogenicidade do benomil, tiabendazol e tiofanato-metílico e imunotoxicidade do benomil, carbendazim, oxfendazol e tiabendazol, a carência de estudos não permite determinar uma relação bem estabelecida entre a exposição e o desfecho. Após a integração das evidências epidemiológicas e experimentais observou-se que é mais provável que exista uma sugestão de causalidade entre a exposição ao benomil e a genotoxicidade. Dessa forma, baseado nos estudos incluídos nestas revisões, conclui-se que, no geral, a exposição aos compostos benzimidazóis representa perigo à saúde humana, em relação ao potencial genotóxico das substâncias.

Palavras-chave: Benzimidazóis. Revisão Sistemática. Toxicidade. Estudos Epidemiológicos. Estudos Experimentais

## ABSTRACT

Benzimidazoles are a class of chemical substances that are widely used, mainly as anthelmintics and fungicides in the agricultural sector. These compounds, among their mechanisms of action, bind to tubulin and inhibit polymerization in microtubules, filamentary structures of the eukaryotic cytoskeleton that are involved in several cellular processes. The mechanisms of action of this class are correlated with the toxicity of benzimidazoles and the risk of human exposure to these chemical agents. In this context, the general objective of the project was to evaluate the available evidence on the genotoxic, immunotoxic and/or carcinogenic potential of benzimidazole compounds for the purposes of risk assessment to human health. A systematic review of experimental studies (*in vitro*, *in vivo*, *ex vivo*) and one of epidemiological studies (involving human exposure) were developed independently. The methodology was based on: registration of protocols on the PROSPERO platform; search for evidence in Medline, Embase and BVS electronic databases; selection of studies by inclusion and exclusion criteria; data extraction; assessment of the risk of bias of the included studies; and qualitative synthesis and critical interpretation of the results. Subsequently, the evidence was integrated through the Bradford Hill aspects to assess the causal relationship between exposure and toxicity. Parabendazole and triclabendazole were the only benzimidazole compounds that did not present any type of evidence and, therefore, could not be evaluated. Epidemiological studies were scarce and most of them involved multiple exposures, but in general, all benzimidazole compounds, except for fuberidazole, demonstrated in *in vitro* and *in vivo* experimental models a well-established genotoxic capacity. Although some studies have observed positive results for the carcinogenicity of benomyl, thiabendazole and thiophanate-methyl and the immunotoxicity of benomyl, carbendazim, oxfendazole and thiabendazole, the lack of studies does not allow determining a well-established relationship between exposure and outcome. After the integration of epidemiological and experimental evidence, it was observed that it is more likely that there is a suggestion of causality between exposure to benomyl and genotoxicity. Thus, based on the studies included in these reviews, it is concluded that, in general, exposure to benzimidazole compounds represents a danger to human health, in relation to the genotoxic potential of the substances.

Keywords: Benzimidazoles. Systematic Review. Toxicity. Epidemiological Studies. Experimental Studies



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Estrutura bicíclica característica dos compostos benzimidazóis. ....	15
Quadro 1- Lista dos benzimidazóis, suas utilizações e fórmulas estruturais.....	16
Quadro 2- Situação regulatória internacional dos fungicidas benzimidazóis.....	20
Quadro 3- Informações sobre os fungicidas benzimidazóis em relação ao uso no Brasil...	22
Figura 2- Agrotóxicos com maior número de detecções em amostras alimentares do ciclo de 2017/2018 do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos Alimentares (PARA).....	24
Quadro 4- Comparação das características da revisão narrativa e da revisão sistemática. .	25
Quadro 5- Questões utilizadas na avaliação do risco de viés dos estudos epidemiológicos incluídos na revisão sistemática. ....	34
Quadro 6- Questões utilizadas para avaliar a qualidade dos estudos experimentais incluídos na revisão sistemática. ....	39
Quadro 7- Critérios para avaliar a relação de causalidade nos estudos experimentais. ....	40
Quadro 8- Aspectos de Bradford Hill modificados para integração de evidências experimentais e epidemiológicas. ....	41
Figura 3- Locais onde os estudos epidemiológicos, incluídos na revisão sistemática, foram desenvolvidos. ....	44
Quadro 9- Principais efeitos observados nos estudos epidemiológicos relacionados a exposição ao benomil. ....	48
Figura 4- Locais onde os estudos experimentais, incluídos na revisão sistemática, foram desenvolvidos. ....	55
Figura 5- Distribuição por ano das publicações dos artigos experimentais incluídos na revisão sistemática. ....	56
Quadro 10- Quantidade de artigos identificados relacionados a cada composto benzimidazol. ....	57
Quadro 11- Quantidade de estudos experimentais in vitro e in vivo sobre os potenciais efeitos genotóxicos, imunotóxicos e/ou carcinogênicos dos compostos benzimidazóis. ....	58
Quadro 12- Principais efeitos observados nos estudos experimentais in vitro relacionados a exposição ao albendazol e seus metabólitos.....	61
Quadro 13- Principais efeitos genotóxicos observados nos estudos experimentais in vitro relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de benomil.....	64
Quadro 14- Efeitos observados nos estudos experimentais in vivo relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações de benomil.....	75

Quadro 14- Efeitos observados nos estudos experimentais in vivo relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações de benomil.....	76
Quadro 15- Principais efeitos observados nos estudos experimentais in vitro relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.....	79
Quadro 16- Principais efeitos observados nos estudos experimentais in vivo relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.....	88
Quadro 17- Principais efeitos observados nos estudos experimentais in vitro relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de mebendazol.....	99
Quadro 18- Principais efeitos observados nos estudos experimentais in vitro relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.....	102
Quadro 18- Principais efeitos observados nos estudos experimentais in vitro relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.....	103
Quadro 18- Principais efeitos observados nos estudos experimentais in vitro relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.....	104
Quadro 19- Principais efeitos observados nos estudos experimentais in vivo relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.....	108
Quadro 20- Principais efeitos observados nos estudos experimentais in vivo relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiofanato-metílico. ....	117
Quadro 21- Quantidade de estudos experimentais e epidemiológicos, em porcentagem, que observaram um aumento nos efeitos investigados após a exposição aos compostos da classe benzimidazol.....	144

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Micrograma
µM	Micromolar
µmol	Micromol
2-AF	2-aminofluoreno
2-AP	2-aminopurina
4-NQO	1-óxido de 4-nitroquinolina
ABZ	Albendazol
ABZSO	Sulfóxido de albendazol
ABZSO <sub>2</sub>	Albendazol sulfona
AC	Aberração cromossômica
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APVMA	Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority
BVS	Biblioteca Virtual em Saúde
CFU	Unidade formadora de colônia
ChR-CD	Charles River-Caesarean Derived
CHRL	Indução de perda cromossômica
CP	Ciclofosfamida
DL50	Dose letal 50%
DMBA	7,12- dimetilbenzantraceno
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECR's	Ensaio clínico randomizado
EFSA	European Food Safety Authority
EMA	European Medicines Agency
SEM	Etilmetanossulfonato
EPA	Environmental Protection Agency
EPI	Equipamento de proteção individual
FISH	Hibridização fluorescente <i>in situ</i>
FJRP	Francisco José Roma Paumgarten
G	Grama

GHS	Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
ha	Hectares
HP	Hepatectomia parcial
HR	<i>hazard ratio</i>
Hrs	Horas
IA	Ingrediente ativo
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
IC95%	Intervalo de confiança no nível 95%
ICHEM	Institution of Chemical Engineers
IDA	Ingestão diária aceitável
IFN	Interferon
IFN- $\beta$	Interferon beta
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 beta
IL-8	Interleucina 8
IPCS	International Program on Chemical Safety
JBG	Juliana Barroso Gomes
JMPR	Joint Meeting on Pesticide Residues
K+	Cinetocoros positivos
Kg	Quilograma
L	Litro
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
LMR	Limite Máximo de Resíduos
M	Molar
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MF	Frequência mutante
mg	Miligrama
min	Minutos
mL	Militro
mM	Milimolar
MN	Micronúcleo
MN C-	Micronúcleo centrômero negativo
MN C+	Micronúcleo com centrômero positivo
MNNG	N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina
MNPCE	Micronúcleos em eritrócitos policromáticos
N-AAF	N-acetilaminofluoreno
NaCl	Cloreto de sódio
ng	Nanograma
NIHR	National Institute for Health Research
NTP	National Toxicology Program
OHAT	Office of Health Assessment and Translation
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	<i>Odds ratio</i>
<i>p</i>	p-valor
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos Alimentares
PBS	Tampão fosfato-salino
PIB	Produto Interno Bruto
PPM	Parte por milhão
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RNA	Ácido ribonucleico
S9	Mistura de ativação metabólica
SCE	Troca de cromátides irmãs
SES	Status socioeconômico
SINITOX	Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas
SNC	Sistema nervoso central
SZN	Estreptozotocina
TNF $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
USEPA	United States Environmental Protection Agency

VCR

vs

WHO

Sulfato de vincristina

Versus

World Health Organization

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>26</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	26
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	26
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>27</b>
3.1 PERIGO X RISCO .....	27
3.2 REVISÃO SISTEMÁTICA .....	27
3.3 ASSOCIAÇÃO X CAUSALIDADE .....	29
<b>4 MÉTODO</b> .....	<b>30</b>
4.1 REVISÃO SISTEMÁTICA .....	30
<b>4.1.1 Revisão sistemática de estudos epidemiológicos</b> .....	<b>30</b>
<b>4.1.2 Revisão sistemática de estudos experimentais</b> .....	<b>35</b>
4.2 INTEGRAÇÃO DAS EVIDÊNCIAS .....	39
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>42</b>
5.1 revisão sistemática de estudos epidemiológicos.....	42
<b>5.1.1 Busca das evidências</b> .....	<b>42</b>
<b>5.1.2 Análise temporal e demográfica das publicações</b> .....	<b>44</b>
<b>5.1.3 Análise dos dados e avaliação do risco de viés</b> .....	<b>44</b>
5.2 revisão sistemática de estudos experimentais.....	53
<b>5.2.1 Busca das evidências</b> .....	<b>53</b>
<b>5.2.2 Análise temporal e demográfica das publicações</b> .....	<b>55</b>
<b>5.2.3 Análise dos dados e avaliação do risco de viés</b> .....	<b>56</b>
5.3 integração das evidências .....	118
<b>5.3.1 Benzimidazol</b> .....	<b>118</b>
<b>5.3.2 Benomil</b> .....	<b>122</b>
<b>5.3.3 Carbendazim</b> .....	<b>135</b>
<b>5.3.4 Tiabendazol</b> .....	<b>139</b>
<b>5.3.5 Integração de todas as substâncias da classe benzimidazol</b> .....	<b>142</b>
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>145</b>
6.1 Albendazol.....	147
6.2 Benomil .....	147
6.3 Carbendazim.....	148

6.4 Fembendazol.....	149
6.5 Flubendazol .....	149
6.6 Fuberidazol .....	150
6.7 Mebendazol .....	150
6.8 Oxfendazol .....	151
6.9 Oxibendazol.....	151
6.10 Tiabendazol .....	152
6.11 Tiofanato-metílico .....	152
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>155</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>157</b>
<b>APÊNDICE A- ESTRATÉGIA DE BUSCA UTILIZADA NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS E EXPERIMENTAIS. ....</b>	<b>178</b>
<b>APÊNDICE B- PARÂMETROS UTILIZADOS PARA A AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS/QUALIDADE DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS. ....</b>	<b>183</b>
<b>APÊNDICE C- PARÂMETROS UTILIZADOS PARA A AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EXPERIMENTAIS.....</b>	<b>184</b>
<b>APÊNDICE D- PRINCIPAIS DADOS EXTRAÍDOS DOS ARTIGOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS. ....</b>	<b>187</b>
<b>APÊNDICE E- AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DOS ARTIGOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS. ....</b>	<b>191</b>
<b>APÊNDICE F- PRINCIPAIS DADOS EXTRAÍDOS DOS ARTIGOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EXPERIMENTAIS.....</b>	<b>192</b>
<b>APÊNDICE G- AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DOS ARTIGOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EXPERIMENTAIS <i>IN VITRO</i>. ....</b>	<b>230</b>
<b>APÊNDICE H- AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DOS ARTIGOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EXPERIMENTAIS <i>IN VIVO</i>.....</b>	<b>235</b>



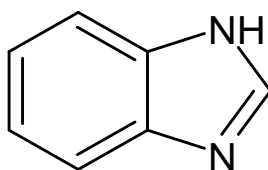
## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos países onde a produtividade do setor agropecuário mais avança, isto é, a prática da agricultura e da pecuária está em constante crescimento (SAMBUICHI *et al.*, 2012). De acordo com o censo agropecuário publicado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017), o país possui 5.073.324 estabelecimentos agropecuários instalados, que ocupam uma área total de 351.289 milhões de hectares (ha), cerca de 41% da área total do Brasil (851,487 milhões de ha). A atividade é realizada por aproximadamente 15.105.125 de pessoas e foi responsável por 27,4% do Produto Interno Bruto (PIB) do país no ano de 2021 (IBGE, 2021).

Os principais problemas fitossanitários na agropecuária são as infecções por parasitas, que afetam os animais, e a ação de fungos, plantas daninhas, insetos, dentre outros organismos, que acometem as plantas, prejudicando a produção e desenvolvimento da agricultura e da pecuária e conseqüentemente gerando prejuízos financeiros para os produtores (AMARANTE; SALES, 2007; WHO, 1990). Nesse contexto, para evitar perdas e aumentar a produção, é utilizado neste setor inúmeras substâncias químicas destinadas ao controle, destruição ou prevenção desses agentes patogênicos para plantas e animais. Contudo, esses compostos podem oferecer riscos à saúde humana, tendo em vista que são considerados potencialmente tóxicos aos indivíduos (SCHWARZENBACH; GSCHWEND; IMBODEN, 2002).

Dentre as inúmeras classes de substâncias, se destacam pela sua ampla utilização, os benzimidazóis, que inclui diversos compostos orgânicos aromáticos heterocíclicos. Todas essas substâncias possuem uma estrutura bicíclica na sua fórmula estrutural (Figura 1), característica da classe dos benzimidazóis, formada pela fusão de um anel aromático do benzeno com um anel imidazol (SHRIVASTAVA *et al.*, 2017). Ademais, os benzimidazóis são compostos cristalinos que possuem ponto de ebulição superior a 360 °C e ponto de fusão em torno de 170,5 °C, apresentando alta solubilidade em álcool, porém baixa solubilidade em água (PUBCHEM, 2020).

Figura 1- Estrutura bicíclica característica dos compostos benzimidazóis.

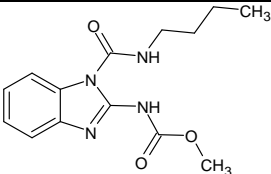
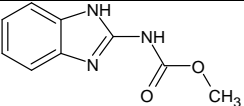
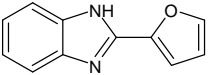
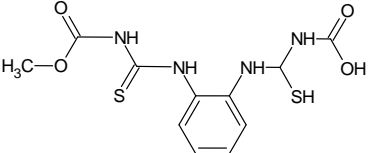
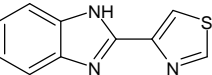
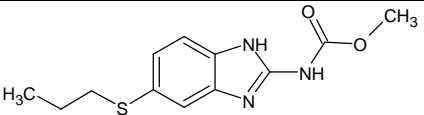
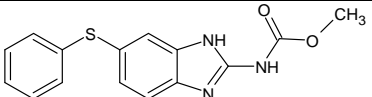
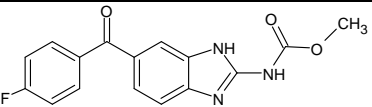
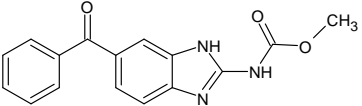


Fonte: Do autor.

Os benzimidazóis foram originalmente desenvolvidos como fungicidas e posteriormente como anti-helmínticos para o uso veterinário e/ou humano. Embora diversos estudos investiguem o potencial dessas substâncias como drogas promissoras para o tratamento de câncer, nenhuma delas ainda é estabelecida e utilizada para essa finalidade (SHRIVASTAVA *et al.*, 2017). Os compostos dessa classe estão sintetizados no Quadro 1, assim como a sua fórmula estrutural e a principal forma de utilização (como anti-helmínticos, fungicidas e/ou antineoplásicos). Observa-se que o tiofanato-metílico não possui a estrutura bicíclica, destacada anteriormente, em sua fórmula, e por este motivo não é classificado como um benzimidazol. Entretanto, essa substância degrada-se rapidamente, transformando-se em carbendazim, que é um benzimidazol conhecido e um dos seus principais metabólitos (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY *et al.*, 2018).

Quadro 1- Lista dos benzimidazóis, suas utilizações e fórmulas estruturais.

(continua)

Benzimidazóis	Utilização	Fórmula estrutural
Benomil	Fungicida	
Carbendazim	Fungicida	
Fuberidazol	Fungicida	
Tiofanato-metílico* (precursor do carbendazim)	Fungicida	
Tiabendazol	Fungicida Anti-helmíntico	
Albendazol	Anti-helmíntico	
Fembendazol	Anti-helmíntico	
Flubendazol	Anti-helmíntico	
Mebendazol	Anti-helmíntico	

Quadro 1- Lista dos benzimidazóis, suas utilizações e fórmulas estruturais.

(conclusão)

Benzimidazóis	Utilização	Fórmula estrutural
Oxibendazol	Anti-helmíntico	
Oxfendazol	Anti-helmíntico	
Parbendazol	Anti-helmíntico	
Triclabendazol	Anti-helmíntico	
Nocodazol	Antineoplásico	

\*O tiofanato-metílico não faz parte da classe dos benzimidazóis, mas é um importante precursor do carbendazim.  
Fonte: (GHINI; KIMATI, 2000; MELO; AZEVEDO, 2008).

A ação antineoplásica dos compostos benzimidazóis ocorre devido aos diversos mecanismos de ação que essas substâncias possuem, destacando-se:

- *Inibição da topoisomerase I ou II:* Essas enzimas são responsáveis pela modificação do DNA, atuando na quebra e relaxamento da fita dupla que se encontra superenovelada, permitindo eventos como transcrição, condensação dos cromossomos e recombinação do DNA. Os benzimidazóis podem atuar inibindo a ação dessas enzimas, que possuem maior expressão em tecidos tumorais, impedindo a proliferação celular e a progressão do tumor (ALPAN; GUNES; TOPCU, 2007; HUANG; HSEI; CHEN, 2006; KELLNER; RUDOLPH; PARWARESCH, 2000);
- *Agentes alquilantes:* Podem atuar se ligando as bases do DNA, formando adutos de DNA e, conseqüentemente, impedindo a replicação e proliferação celular (DEMIRAYAK; MOHSEN; KARABURUN, 2002);
- *Antagonista do receptor de andrógeno:* Esse tipo de receptor nuclear é ativado pela ligação de um dos hormônios androgênicos (testosterona ou di-hidrotestosterona) que induzem o crescimento tumoral. Os benzimidazóis atuam como antagonistas se ligando a esses receptores com maior afinidade e impedindo a ativação do mesmo pelos hormônios, impossibilitando, então, o crescimento do tumor (NG *et al.*, 2006; RATHKOPF; SCHER, 2013);
- *Inibidores da proteína tirosina quinase:* Assim como os receptores de andrógenos, nas

células cancerosas, a ativação da proteína tirosina quinase também conduz o crescimento celular e a progressão do tumor, que pode ser impedido pela ação inibitória dos benzimidazóis (LABARBERA; SKIBO, 2005);

- *Inibição da angiogênese*: A angiogênese é o processo de formação de novos vasos sanguíneos e desempenha um papel essencial no desenvolvimento, reprodução e reparo de tecidos, uma vez que a rede vascular fornece oxigênio e nutrientes para as células, inclusive para as cancerosas. A atuação dos benzimidazóis como disruptores vasculares e inibidores de angiogênese, diminuem a densidade vascular e, conseqüentemente, retardam o crescimento do tumor (CARMELIET; JAIN, 2011; CHA *et al.*, 2012; KERBEL, 2008);
- *Inibidores de microtúbulos*: Os microtúbulos, formados pela proteína tubulina, são estruturas filamentosas do citoesqueleto eucariótico. Dentre suas inúmeras funções, são responsáveis pela formação do fuso mitótico durante a divisão celular. Os benzimidazóis atuam se ligando a tubulina, impedindo a polimerização em microtúbulos. A não formação dessas estruturas resulta na parada mitótica, e por conseguinte, a interrupção do crescimento do tumor (DUMONTET; JORDAN, 2010; GIGANT *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2014).

Os mecanismos de ação dos benzimidazóis anti-helmínticos e fungicidas também estão relacionados a sua ação inibitória dos microtúbulos, estruturas, que além da divisão celular, são responsáveis por diversas funções celulares como o transporte de neurotransmissores nos neurônios e transporte de substrato e metabólito através da célula e membranas mitocondriais, além de serem essenciais para a motilidade de muitos organismos, tendo em vista que são estruturas formadoras do núcleo dos cílios e flagelos (BARLAN; GELFAND, 2017; GOODSON; JONASSON, 2018; VISWANADHA; SALE; PORTER, 2017). A inibição da formação dos microtúbulos, pela ação dos benzimidazóis, reduz a absorção e excreção de nutrientes do parasita, inclusive a captação e consumo de glicose dependente do transporte de microtúbulos e, conseqüentemente, provoca a morte do organismo parasitário (LANUSSE; PRICHARD, 1993; MOTTIER; LANUSSE, 2001).

Levando em consideração que os microtúbulos são responsáveis pela formação do fuso mitótico na etapa da prófase, a ação fungicida dos benzimidazóis ocorre através da interrupção da segregação cromossômica e, por consequência, a divisão/proliferação celular através da mitose, gerando a morte do fungo, principal finalidade da utilização desses compostos (ZHOU *et al.*, 2016).

A atuação dos benzimidazóis por esses mecanismos de ação pode contribuir e gerar efeitos imunotóxicos, genotóxicos e, conseqüentemente, carcinogênicos nos seres humanos. A imunotoxicidade é definida como efeitos adversos no funcionamento do sistema imunológico que resultam da exposição a substâncias químicas. Dentre esses efeitos, tem-se a supressão da resposta imune (imunossupressão), que leva a diminuição da resistência e da capacidade do hospedeiro em responder a agentes infecciosos ou células tumorais (PHILIP, 2014). Já a genotoxicidade, refere-se a um agente que induz dano ao DNA (como adutos de DNA, quebras de fita e alquilação de DNA) e/ou mutação (alterações, duplicação ou exclusão da sequência de nucleotídeos) (SEUKEP *et al.*, 2014).

De acordo com a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), o potencial genotóxico e imunotóxico de uma substância são características relevantes para os mecanismos do câncer, principalmente ao avaliar se um agente é um potencial carcinógeno para seres humanos. A genotoxicidade está relacionada diretamente com a iniciação do câncer e a imunotoxicidade com a modulação da sua progressão, tendo em vista que quando a capacidade do sistema imunológico em responder adequadamente aos agentes invasores é suprimida, a sobrevivência dessas células e sua replicação para formar tumores é facilitada (SMITH *et al.*, 2016).

Nesse contexto, com o objetivo de promover a proteção à saúde humana, animal e ao meio ambiente, a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, vigente, dispõe sobre:

“A pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências” (BRASIL, 1989).

Esta lei proíbe o registro de agrotóxicos que revelem características teratogênicas, carcinogênicas ou mutagênicas, de acordo com os resultados atualizados de experiências da comunidade científica, assim como aqueles que demonstrem distúrbios hormonais e danos ao aparelho reprodutor. Em contrapartida, o Projeto de Lei 3.200/2015 propõe diversas alterações na lei vigente, como a substituição do termo “agrotóxico” para “produto defensivo fitossanitário” e a flexibilização do registro dos agrotóxicos, proibindo o produto apenas quando este revelar um risco inaceitável para as características descritas na lei atual. Entretanto não é definido o que seria um risco aceitável e inaceitável (ALMEIDA *et al.*, 2017; BRASIL, 2015), tendo em vista que não existe a possibilidade de estabelecer parâmetro de “risco inaceitável”

para substâncias teratogênicas, carcinogênicas e/ou mutagênicas.

Existem diversos estudos na literatura que demonstram, por meio de ensaios experimentais (*in vitro* ou *in vivo*), o potencial genotóxico e carcinogênico dos compostos benzimidazóis, através da ocorrência de micronúcleos (SARRIF *et al.*, 1994), aberrações cromossômicas (AMER; DONYA; ALY, 2003), hiperplasia celular e adenoma (FUJII; MIKURIYA; SASAKI, 1991), danos ao DNA (RAI; MERCURIO, 2020), efeitos aneugênicos (SANTOVITO; CERVELLA; DELPERO, 2011) e anormalidades cromossômicas (BENTLEY *et al.*, 2000). Mesmo que sejam evidências experimentais, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), uma substância que é comprovadamente carcinogênica e genotóxica para animais, também deve ser tratada como tal para seres humanos (BOOBIS *et al.*, 2008)

Ainda que existam evidências de possíveis efeitos tóxicos, de acordo com o Quadro 2, o uso de ingredientes ativos da classe benzimidazol no mundo ainda é heterogêneo. Enquanto, em alguns países essas substâncias são registradas e liberadas para o uso (simbolizado pelo sinal “+” no quadro), em outros, os compostos são banidos ou não registrados (simbolizado pelo sinal “-” no quadro). Vale ressaltar que, a título de exemplificação, o clima e a pluviosidade ocupam lugares de destaque entre os fatores que afetam a agricultura e que favorecem ou inibem o cultivo de determinadas culturas. As diferenças dessas características entre os países influenciam, portanto, na necessidade ou não da utilização de determinados pesticidas, interferindo no registro desses produtos nos locais (PATERNIANI, 2001).

Quadro 2- Situação regulatória internacional dos fungicidas benzimidazóis.

Fungicidas	Brasil	Europa	EUA	Austrália	Canadá	Japão
<b>Carbendazim</b>	+*	-	-	+	+	-
<b>Tiofanato-metílico</b>	+*	-	+	+	+	+
<b>Tiabendazol</b>	+	+	+	+	+	-
<b>Benomil</b>	-	-	-	-	-	+
<b>Fuberidazol</b>	-	-	-	-	-	-

\*O carbendazim e o tiofanato-metílico estão em processo de reavaliação toxicológica pela Anvisa.

Nota: + (agrotóxico registrado e liberado para o uso no país); - (agrotóxico não registrado ou banido para o uso no país).

Fonte: (ANVISA, 2017; APVMA, 2020; EPA, 2016; EUROPEAN COMMISSION, 2016; FAMIC, 2020).

No Brasil, de acordo com a Portaria nº 03 do Ministério da Saúde, os agrotóxicos, são classificados em quatro classes toxicológicas, definidas principalmente pela Dose Letal 50% (DL50) dos produtos formulados: classe I (produtos extremamente tóxicos), classe II (produtos altamente tóxicos), classe III (produtos medianamente tóxicos), classe IV (produtos pouco tóxicos) (MS, 1992). Entretanto, uma nova resolução, RDC nº 294, foi aprovada em 2019, ampliando de quatro para cinco as categorias de classificação, além do item de “não

classificado” (ANVISA, 2019). As mudanças foram propostas com base nos padrões do Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (*Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals – GHS*) (GHS, 2015). Os agrotóxicos disponíveis no mercado serão reclassificados quanto a sua toxicidade de acordo com os novos critérios publicados pela agência, conforme o envio das informações pelos detentores de registro (MAPA, 2019).

Os fungicidas benzimidazóis autorizados para o uso no Brasil, entretanto, ainda estão registrados de acordo com a antiga Portaria nº 03 do Ministério da Saúde. Como observado (Quadro 3), o carbendazim é classificado como medianamente tóxico (classe III), enquanto o tiofanato-metílico e o tiabendazol como pouco tóxico (classe IV) (MS, 1992). O carbendazim e o tiofanato-metílico estão em situação de reavaliação toxicológica pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e após a finalização serão reclassificados de acordo com a nova resolução (ANVISA, 2020b).

O uso agrícola permitido para cada fungicida benzimidazol também está listado no Quadro 3. O número de culturas cujo a aplicação desses ingredientes ativos é permitida e o tipo de aplicação dessas substâncias estão diretamente relacionados ao grau de exposição dos indivíduos. Isto porque, quanto maior for o número de culturas cujo o uso agrícola do fungicida é autorizado, maior a probabilidade de contaminação dos alimentos por essas substâncias e, conseqüentemente, mais elevado é o grau de exposição dos indivíduos através dos alimentos contaminados com resíduos de agrotóxicos (CARNEIRO, 2015).

A forma como a aplicação do fungicida é realizada, por outro lado, influencia o grau de exposição ocupacional dos agricultores, ou seja, influencia na exposição decorrente de atividades laborais em níveis acima dos observados na população (BRASIL, 2004). A aplicação efetuada de forma manual, geralmente com equipamento costal, proporciona maior risco e exposição a esses trabalhadores quando comparada a mecânica, que é realizada através de pulverização aérea por meio de aviões ou helicópteros, levando em consideração que a primeira forma gera um maior contato desses trabalhadores com os agrotóxicos (LESMES-FABIAN *et al.*, 2012).

Quadro 3- Informações sobre os fungicidas benzimidazóis em relação ao uso no Brasil.

<b>Fungicidas</b>	<b>Classificação toxicológica<sup>1</sup></b>	<b>Uso agrícola</b>
<b>Carbendazim</b>	Classe III	Algodão, arroz, cevada, citros, feijão, maçã, milho, soja e trigo.
<b>Tiofanato-metílico</b>	Classe IV	abacate, abacaxi, abóbora, acerola, algodão, alho, amendoim, antúrio, arroz, aveia, azeitona, banana, batata, begônia, berinjela, cacau, café, canola, cebola, cenoura, centeio, cevada, citros, cravo, crisântemo, cupuaçu, ervilha, eucalipto, feijão, feijão-caupi, framboesa, gergelim, girassol, grão-de-bico, gramados, guaraná, gladiolo, hortênsia, kiwi, lentilha, maçã, mamão, mamona, manga, maracujá, melancia, melão, milho, mirtilo, morango, orquídeas, pastagens, pepino, pimentão, pinhão manso, rosa, seringueira, seriguela, soja, sorgo, tomate, trigo, triticale e uva.
<b>Tiabendazol</b>	Classe IV	abacate, abacaxi, acelga, alface, arroz, banana, batata, cana-de-açúcar, cebola, cenoura, chicória, citros, coco, ervilha, espinafre, feijão, feijão-vagem, girassol, gladiolo, maçã, mamão, manga, maracujá, melancia, melão, milho, pimentão, pera, rúcula, soja, sorgo e tomate.

<sup>1</sup>Classificação toxicológica da Anvisa: classe III (medianamente tóxico) e classe IV (pouco tóxico).  
Fonte: (ANVISA, 2017, 2020a).

O Brasil está entre um dos países que mais utilizam pesticidas, dentre os quais, alguns, como anteriormente mencionado, já são proibidos de serem aplicados em outras regiões (RIGOTTO *et al.*, 2014). Em 2021, o governo federal liberou o registro de cerca de 562 agrotóxicos, o maior número já registrado desde 2000, ano do início da contabilização desses dados. Desses, 19 são pesticidas novos, sendo 7 novos princípios ativos e 12 novos produtos formulados (MAPA, 2021).

É importante ressaltar que o registro e o monitoramento de agrotóxicos no Brasil são realizados de acordo com as exigências e diretrizes previstas na lei por três órgãos federais: a Anvisa, que avalia questões relacionadas à saúde humana; o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que cuida das questões agronômicas e uso agrícola; e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama), que lida com as questões ambientais (BRASIL, 2002).

De acordo com o relatório publicado pelo Ibama, em 2020 o consumo de agrotóxicos no Brasil foi de 685.745,68 toneladas de ingredientes ativos, o maior número registrado desde 2000, sendo os fungicidas a segunda classe mais comercializada, responsável por 15,80% do total do consumo de agrotóxicos no país (IBAMA, 2020).



A elevada utilização e consumo de pesticidas e o uso indiscriminado de medicamentos são responsáveis pelo aumento do número de casos e óbitos de intoxicação por essas substâncias. De acordo com dados publicados pelo Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas (SINITOX), no ano de 2017, no Brasil, as intoxicações por agrotóxicos de uso agrícola e doméstico resultaram em 3.379 casos e 62 mortes em humanos e 130 casos em animais. Os medicamentos, por sua vez, ocupam o primeiro lugar de intoxicação humana e animal, com aproximadamente, 20.637 e 134 casos, respectivamente (SINITOX, 2017)

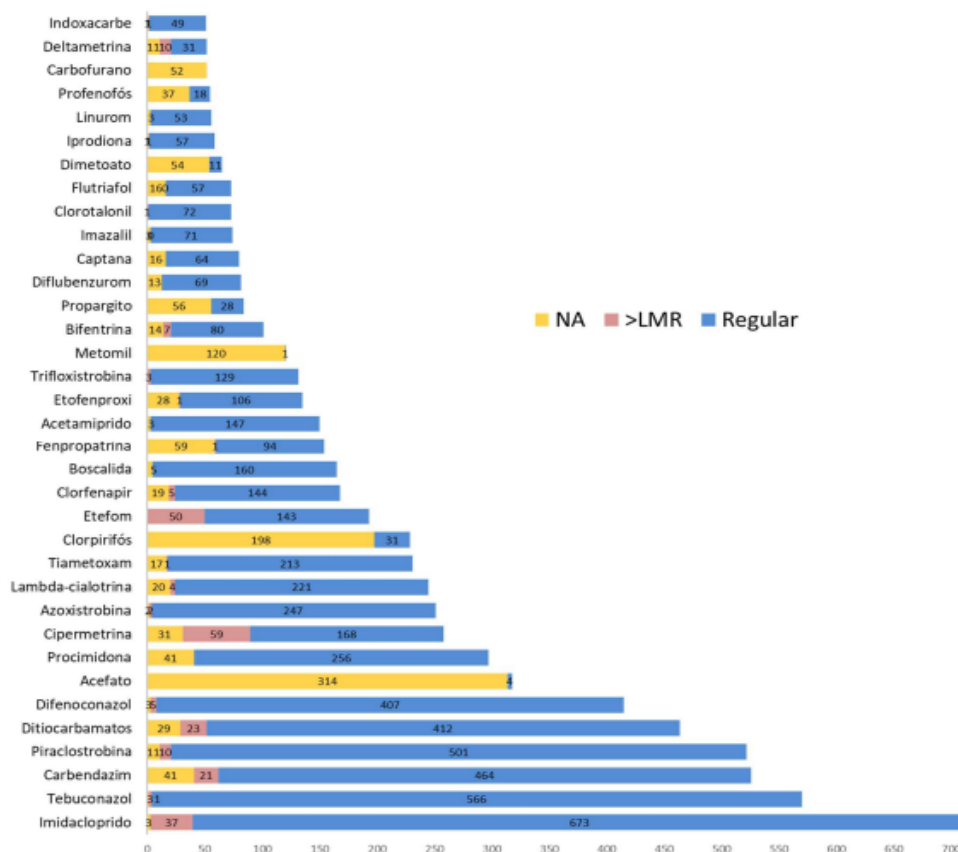
O elevado número de intoxicações por agrotóxicos pode ser explicado, parcialmente, pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos Alimentares (PARA) da Anvisa, que avaliou 4.616 amostras de alimentos entre o ano de 2017 e 2018, identificando resíduos de diversos pesticidas, incluindo o benzimidazol carbendazim, que foi o terceiro ingrediente ativo mais encontrado (11% das amostras analisadas). Das 526 amostras detectadas, em 21 os níveis de carbendazim estavam acima do Limite Máximo de Resíduos (LMR), estabelecido pela Anvisa, e 41 eram culturas cujo o uso do ingrediente ativo não era permitido, conforme ilustrado na Figura 2, evidenciando que o uso dessa substância pelos agricultores não está sendo realizado de forma correta e como recomendado (ANVISA, 2019a). Entretanto, é importante destacar que o número amostral das análises não é significativo, e mesmo que esses dados estejam subestimados, não é possível afirmar que a população está exposta acima dos valores permitidos pela Ingestão Diária Aceitável (IDA).

Diferentemente de outros produtos regulados pela Anvisa, o registro de agrotóxicos no Brasil não possui renovação ou revalidação da permissão, ou seja, uma vez concedido, o registro possui validade indeterminada e pode ser amplamente comercializado. Entretanto, o conhecimento técnico-científico produzido pelos sistemas de monitoramento ou pesquisas científicas sobre esses produtos está em constante evolução e, mesmo após o registro, novos aspectos, riscos e características podem ser identificados (ANVISA, 2020).

Nesse contexto, baseado no Decreto nº 4.074 de 2002, que prevê a promoção da reavaliação de agrotóxicos, a Anvisa publicou, em 2019, a lista de sete ingredientes ativos de agrotóxicos que serão reavaliados pela metodologia da própria agência, que inclui: análise detalhada de uma série de estudos toxicológicos, dados oficiais e relatórios; análise da quantidade e qualidade científica dessas evidências; síntese e apresentação dos resultados para a MAPA e o Ibama; e elaboração e divulgação de uma nota técnica conclusiva para que medidas sejam deliberadas. Entre os princípios ativos listados, o carbendazim e o tiofanato-metílico são os dois primeiros e já estão em processo de reavaliação quanto a sua mutagenicidade, toxicidade reprodutiva, toxicidade para o desenvolvimento e/ou desregulação endócrina (ANVISA, 2020;

BRASIL, 2002).

Figura 2- Agrotóxicos com maior número de detecções em amostras alimentares do ciclo de 2017/2018 do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos Alimentares (PARA).



Nota: LMR (Limite Máximo de Resíduos, estabelecido pela Anvisa); NA (Ingrediente ativo não autorizado para a respectiva cultura); Regular (Resultado que não ultrapassou o valor de LMR do ingrediente ativo específico permitido para o alimento analisado).

Fonte: (ANVISA, 2019a).

A revisão sistemática é, portanto, uma importante ferramenta em circunstâncias onde há muitos estudos na literatura científica, como é o caso da reavaliação toxicológica. Mediante a aplicação de métodos explícitos e sistematizados de busca, apreciação crítica e síntese da informação selecionada de forma reprodutível, a revisão sistemática busca responder uma questão específica, fornecendo informações para fundamentar adequadamente a tomada de decisão pelas autoridades regulatórias, incluindo a Anvisa (Quadro 4). Em contrapartida, a revisão narrativa tem como objetivo responder uma questão mais ampla, pois não possui métodos de busca, seleção e avaliação estruturados e por este motivo está mais sujeita a introdução de erros sistemáticos/vieses durante as etapas (COOK; MULROW; HAYNES, 1997; SAMPAIO; MANCINI, 2007).

Quadro 4- Comparação das características da revisão narrativa e da revisão sistemática.

<b>Itens</b>	<b>Revisão Narrativa</b>	<b>Revisão sistemática</b>
<b>Questão</b>	Ampla	Específica
<b>Fonte</b>	Frequentemente não-especificada, potencial fonte de viés	Fonte abrangente, estratégia de busca específica
<b>Seleção</b>	Frequentemente não-especificada, potencial fonte de viés	Seleção baseada em critérios aplicados uniformemente
<b>Avaliação</b>	Variável	Avaliação criteriosa e reprodutível
<b>Síntese</b>	Qualitativa	Qualitativa ou quantitativa

Fonte: adaptado de (COOK; MULROW; HAYNES, 1997).

Desde o princípio, as revisões sistemáticas foram desenvolvidas baseadas em ensaios, principalmente os ensaios clínicos randomizados (ECR's), com o objetivo de reunir as informações disponíveis na literatura, avaliar a eficácia das intervenções terapêuticas em pacientes e fundamentar as decisões dos profissionais da saúde (COOK; MULROW; HAYNES, 1997). Entretanto, as revisões sistemáticas de estudos experimentais e epidemiológicos estão se tornando ferramentas importantes para a tomada de decisões regulatórias e para a avaliação de risco, sendo amplamente utilizadas e consultadas para essas finalidades (SCHAEFER; MYERS, 2017).

A ausência de estudos, como revisões sistemáticas, que reúnem e sintetizam as evidências disponíveis da literatura sobre a toxicidade dos benzimidazóis, enfatiza a necessidade da realização da pesquisa para a avaliação dos riscos da exposição a essas substâncias para os seres humanos. A disponibilidade de análises sistemáticas livres de vieses e realizadas por pesquisadores independentes e ausentes de conflitos de interesses é importante para subsidiar as tomadas de decisões pelas autoridades regulatórias no âmbito da saúde pública e identificar as possíveis lacunas do conhecimento, evidenciando futuras investigações para contemplar todas as análises sobre a toxicidade dos benzimidazóis.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a evidência disponível sobre o potencial genotóxico, imunotóxico e/ou carcinogênico dos compostos benzimidazóis para fins de avaliação de risco à saúde humana.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar onexo causal integrando as evidências experimentais e epidemiológicas, através dos aspectos de Bradford Hill;
- b) Verificar se há evidência de dano genotóxico, imunotóxico e/ou carcinogênico em níveis em que ocorre a exposição ocupacional aos compostos benzimidazóis;
- c) Verificar se há evidência de dano genotóxico, imunotóxico e/ou carcinogênico em níveis em que ocorre a exposição ambiental aos compostos benzimidazóis.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 PERIGO X RISCO

Levando em consideração os objetivos do projeto, é importante diferenciar dois conceitos fundamentais, que em muitas situações, são empregados de forma incorreta: perigo e risco. De acordo com a GHS (2015), perigo (*hazard*) consiste na propriedade intrínseca de um agente químico causar (ou potencial de causar) efeitos adversos e provocar alterações e/ou danos em um indivíduo e/ou meio ambiente. O grau de periculosidade de uma substância é avaliado através das evidências geradas por estudos científicos experimentais e observacionais disponíveis. Este é o objetivo geral do projeto, que pretende avaliar se os compostos benzimidazóis tem potencial de causar danos genotóxicos, imunotóxicos e/ou carcinogênicos em indivíduos que venham a ser expostos a essas substâncias.

Por outro lado, o risco é a probabilidade de que este efeito adverso ocorra em um organismo sob circunstâncias específicas de exposição, ou seja, depende não só da periculosidade (potencial de causar) mas da combinação deste fator intrínseco com os níveis de exposição, dose interna e outras condições relacionadas à exposição à substância. O perigo, por ser uma propriedade intrínseca do composto, não pode ser controlado, diferentemente da exposição, que ao ser reduzida, possibilita o controle e minimização do risco (GHS, 2015).

No contexto do estudo, os itens “b” e “c” dos objetivos específicos buscam verificar a existência de evidências que demonstrem risco em exposições ocupacionais e ambientais aos compostos benzimidazóis, respectivamente. Como mencionado anteriormente, os indivíduos expostos ocupacionalmente, além de terem contato continuado com as substâncias no ambiente onde realizam suas atividades laborais, também podem estar expostos ambientalmente, através do consumo de alimentos e/ou água contaminados com resíduos desses compostos. No ambiente de trabalho, assim como em exposições intencionais (tentativas de suicídio) e acidentais, os indivíduos são, via-de-regra, expostos a concentrações ordens de grandeza superiores àquelas às quais a população geral é exposta regularmente através dos alimentos e contaminação ambiental. Nesse cenário, é fundamental o esclarecimento, comunicação e alertas de perigo sobre os compostos benzimidazóis para enfatizar a necessidade de sempre reduzir ao mínimo a exposição e, conseqüentemente, o risco associado, através da implementação de medidas de proteção (e.g. uso de equipamentos de proteção individual) e promoção da saúde (GHS, 2015; RANGEL, 2007).

#### 3.2 REVISÃO SISTEMÁTICA

A revisão sistemática é uma importante ferramenta para a identificação e caracterização

do perigo e, por consequência, na avaliação do risco de uma substância química de interesse, uma vez que possibilita reunir e sintetizar as evidências disponíveis na literatura ponderando o peso da evidência para responder conclusivamente a uma questão sobre um determinado tópico (BRINER; DENYER, 2012). Entretanto, para assegurar a validade e qualidade de um estudo envolvendo uma revisão sistemática é importante garantir que a pesquisa seja realizada por pesquisadores independentes e sem conflitos de interesses em relação ao tema. Além disso, é essencial que a revisão seja clara, bem estruturada e que tenha objetivos e etapas bem definidos no protocolo de pesquisa, sendo necessário, também, a discussão e avaliação crítica dos erros sistemáticos dos artigos incluídos no estudo (risco de vieses) e da própria revisão (HIGGINS *et al.*, 2020).

A construção prévia das etapas criteriosas da revisão sistemática, além de reduzir a ocorrência de vieses, garantem a confiabilidade, qualidade e reprodutibilidade da pesquisa, possibilitando que a mesma seja continuada ou reproduzida por outros pesquisadores, sempre que necessário (SAMPAIO; MANCINI, 2007). De acordo com a *Cochrane Colaboration*, que atualmente é composta por uma rede de pesquisadores, profissionais, pacientes e outros indivíduos interessados na saúde, as etapas de uma revisão sistemática, de forma simplificada, é composta por (HIGGINS *et al.*, 2020):

1. Formulação de uma pergunta;
2. Pesquisa e seleção de estudos;
3. Avaliação do risco de viés dos estudos;
4. Coleta de dados;
5. Síntese dos dados;
6. Interpretação dos resultados;
7. Apresentação dos resultados.

Por se tratar de um estudo retrospectivo e baseado em dados secundários, a revisão sistemática não está isenta da ocorrência de vieses durante as suas etapas, sendo importante identificá-los e evitá-los ou minimizá-los, tais como: o viés de publicação (diferença de resultados entre os estudos publicados e aqueles não publicados, tendo em vista o fato de , em geral, ter maior probabilidade de encontrar estudos com resultados positivos do que negativos na literatura científica); viés de seleção (erros sistemáticos na identificação e escolha dos estudos que serão incluídos na revisão); viés de extração (erros na coleta das informações e dados a partir dos estudos primários selecionados) (COOK; SACKETT; SPITZER, 1995;

FELSON, 1992; ROTHMAN; GREENLAND; LASH, 2013).

Em uma revisão sistemática, a síntese das evidências científicas encontradas pode ser quantitativa ou qualitativa, dependendo dos dados disponíveis. Quando viável, geralmente, os resultados dos artigos incluídos na revisão são sintetizados de forma quantitativa, através de uma medida única de efeito do conjunto de estudos selecionados por um método estatístico, denominado de meta-análise. Entretanto, tal análise só é possível quando houver semelhança suficiente (homogeneidade), considerando os desenhos dos estudos, a população estudada e metodologia empregada (NOBRE; BERNADO, 2006). Quando essas premissas não são atendidas, apenas a síntese qualitativa (descritiva) é realizada, resumindo as características e informações relevantes das evidências científicas dos artigos selecionados de forma a responder adequadamente à pergunta que motivou o estudo (AROMATARIS; MUNN, 2020).

### 3.3 ASSOCIAÇÃO X CAUSALIDADE

Por fim, para verificar se existenexo causal entre a exposição aos benzimidazóis e os efeitos genotóxicos, imunotóxicos e/ou carcinogênicos, é necessário esclarecer a diferença entre os termos “associação” e “causalidade” no que tange às evidências originárias dos estudos observacionais. A associação é uma medida estatística que correlaciona duas variáveis, ou seja, à medida que o valor de uma variável aumenta ou diminui, a outra também altera, na mesma direção (positiva) ou em direção oposta (negativa). A associação entre essas duas variáveis não significa, por exemplo, que o aumento da exposição aos benzimidazóis seja a causa dos efeitos tóxicos nos organismos expostos. Para avaliar se uma associação entre duas variáveis, evidenciada por um estudo observacional, é causal é necessário excluir a probabilidade de explicações não causais para associação resultantes de erros sistemáticos e fatores de confundimento (*confounding*). Para tal deve-se considerar diversos aspectos tais como a força de associação, consistência, especificidade, temporalidade, gradiente biológico, plausibilidade biológica, coerência, evidência experimental e analogia, aspectos sugeridos por Bradford Hill e que serão discutimos posteriormente (HILL, 2015).

É importante ressaltar que para concluir que uma associação indica que determinada variável é fator de risco para um agravo à saúde é preciso excluir a possibilidade de explicações não causais para a associação. Se a associação não resultar denexo causal, a eliminação da exposição à variável (e.g. banimento da substância) não terá qualquer consequência sobre a incidência/prevalência do agravo à saúde que se pretende controlar.

## 4 MÉTODO

Baseado no estudo modelo desenvolvido por Prueitt e colaboradores (2020), realizou-se duas revisões sistemáticas, de forma independente:

- Uma revisão sistemática de estudos experimentais (*in vitro*, *in vivo* e *ex vivo*), a fim de responder se “*A exposição a compostos benzimidazóis induz efeitos genotóxicos, imunotóxicos e/ou carcinogênicos em modelos experimentais in vivo, in vitro e/ou ex vivo, em comparação aos controles não expostos?*”;
- E outra revisão de estudos epidemiológicos (envolvendo a exposição humana) para redarguir se “*A exposição humana a compostos benzimidazóis aumenta os riscos de câncer, danos genéticos e/ou disfunções imunológicas?*”, de forma independente.

Posteriormente, as evidências disponíveis foram integradas, com a finalidade de avaliar a existência de uma relação causal entre a exposição aos compostos benzimidazóis e os efeitos genotóxicos, imunotóxicos e/ou carcinogênicos investigados.

### 4.1 REVISÃO SISTEMÁTICA

A realização de ambas as revisões sistemáticas consistiu nas seguintes etapas, estabelecidas e especificadas nos protocolos registrados: busca de evidências, seleção dos estudos, extração dos dados, avaliação do risco de viés, síntese dos dados e interpretação crítica dos resultados (HIGGINS *et al.*, 2020).

#### 4.1.1 Revisão sistemática de estudos epidemiológicos

##### 4.1.1.1 Protocolo da revisão sistemática

Para garantir a qualidade e a validade, um protocolo para a revisão sistemática de estudos epidemiológicos foi elaborado e registrado na PROSPERO (número de registro: CRD42021254417), plataforma de registro prospectivo internacional de revisões sistemática do NIHR (*National Institute for Health Research*). O protocolo inclui informações importantes sobre o desenho e a condução do estudo (NIHR, 2020), descrevendo as estratégias de buscas, critérios de inclusão e exclusão, avaliação dos riscos de vieses, síntese de dados e outros aspectos relevantes para a realização da revisão sistemática.



#### 4.1.1.2 Busca das evidências

A busca das evidências sobre os efeitos adversos à saúde (câncer, dano genético e/ou disfunções imunológicas) dos compostos benzimidazóis foi realizada no dia 11 de março de 2021, nas bases de dados bibliográficas eletrônicas “MEDLINE” (PubMed), “Embase” e “Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde/Biblioteca Virtual em Saúde” (LILACS/BVS). Levando em consideração as publicações de artigos mais recentes, uma segunda busca foi realizada no dia 22 de dezembro de 2021.

As estratégias de busca, para identificação dos estudos que potencialmente atendam aos critérios de inclusão da revisão, foram desenvolvidas em colaboração com um bibliotecário estrategista. Em suma, foram estruturadas através da combinação dos operadores booleanos (AND, OR, NOT) entre os descritores específicos de cada base de dados, referente a exposição as substâncias (“albendazole”, “benomyl”, “benzimidazole”, “carbendazim”, “fenbendazole”, “flubendazole”, “fuberidazole”, “mebendazole”, “oxfedazole”, “oxibendazole”, “parbendazole”, “thiabendazole”, “thiophanate methyl”, “triclabendazole”) e aos efeitos adversos à saúde de interesse (“carcinogenicity”, “cancer”, “genotoxicity”, “immunotoxicity”, “DNA damage”, “mutation”, “mutagenicity”). A estratégia de busca completa, para cada base de dados utilizada, está disponível no Apêndice A. Não houve restrições aplicadas em qualquer banco de dados para limitar as datas e o idioma da publicação.

Complementarmente, realizou-se uma busca manual nas listas de referência dos artigos e dos documentos publicados por órgãos e agências governamentais (*National Toxicology Program*, NTP; *Environmental Protection Agency*, EPA; *World Health Organization*, WHO; *International Agency for Research on Cancer*, IARC; *European Food Safety Authority*, EFSA; *Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority*, APVMA; *European Medicines Agency*, EMEA; *Institution of Chemical Engineers*, ICHEME; *Joint Meeting on Pesticide Residues*, JMPR; Comissão Europeia), a fim de encontrar estudos potencialmente elegíveis não identificados pela pesquisa em bancos de dados eletrônicos.

#### 4.1.1.3 Seleção dos estudos

Os artigos gerados após a busca foram avaliados previamente por dois pesquisadores (Juliana Barroso Gomes/JBG e Francisco José Roma Paumgarten/FJRP), através da leitura do título e resumo, a fim de eliminar as duplicidades e os estudos que não atenderam ao critério de inclusão. A plataforma *Rayyan* foi utilizada nessa etapa de triagem a fim de facilitar o processo de seleção dos estudos.

Posteriormente, os artigos pré-selecionados foram lidos integralmente pelos mesmos

pesquisadores para identificação das publicações elegíveis para a revisão sistemática, através dos critérios de exclusão estabelecidos. Qualquer desacordo, quanto a elegibilidade de estudos específicos foi resolvido por meio de discussão entre os dois revisores.

- *Critério de inclusão*

- Estudos observacionais ou clínicos que avaliem se a exposição (ocupacional, ambiental, doméstica, acidental ou intencional) a compostos da classe benzimidazol (albendazol, benomil, carbendazim, fembendazol, flubendazol, fuberidazol, mebendazol, oxfendazol, oxibendazol, parbendazol, tiabendazol, tiofanato-metílico ou triclabendazol) altera o risco/ocorrência de câncer, dano genético e/ou disfunções imunológicas na população exposta.

- *Crítérios de exclusão*

- Estudos experimentais *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo* e *in silico*;
- Estudos com espécies não-alvo que não sejam humanos;
- Estudos na área da química de pesticidas e ciências agrícolas;
- Ensaio clínicos não controlados;
- Relatórios de casos clínicos ou de tratamento de intoxicações;
- Estudos de séries de casos ou estudos ecológicos;
- Estudos que avaliem a exposição a qualquer outro composto que não faça parte da classe benzimidazol;
- Estudos que avaliem a exposição a uma mistura de um composto benzimidazol com substâncias de outras classes;
- Cartas, notas, revisões, editoriais, resenhas, relatórios, comentários, documentos emitidos por órgãos reguladores, capítulos de livros, meta-análises, diretrizes clínicas e artigos de opinião;
- Artigo completo não disponível;
- Artigos não disponíveis nos idiomas: Inglês, Português, Espanhol, Alemão, Italiano ou Francês.

#### 4.1.1.4 Extração dos dados

Um formulário padronizado, baseado nos elementos de extração de dados do Manual OHAT (*Office of Health Assessment and Translation*), com modificações, publicado pelo NTP (*National Toxicology Program*), foi utilizado para auxiliar no processo de extração de dados dos estudos incluídos na revisão (NTP, 2019).

As informações extraídas foram: autores; título; ano; conflitos de interesse; fonte de financiamento; objetivo do estudo; desenho/tipo do estudo; dados geográficos (país, região,

estado, etc.); descrição da população de estudo; descrição do grupo de referência; número de indivíduos por grupo; período de amostragem; critérios de inclusão e de exclusão; estratégia de recrutamento; duração do acompanhamento; nome da substância avaliada e seu número CAS; amostra utilizada para avaliar a exposição; detalhes metodológicos para avaliação da exposição; via de exposição/administração (exclusivo para ensaio clínico); duração e frequência da dosagem (ensaio clínico); dose administrada (ensaio clínico); procedimento de randomização, ocultação da alocação e mascaramento durante a avaliação dos resultados (ensaio clínico); resultado de saúde investigado; amostra utilizada para avaliar o resultado de saúde; diagnósticos ou métodos usados para avaliar os resultados de saúde; método estatístico; fatores de confusão ou modificação e como foram considerados nas análises; níveis de exposição, faixa dos níveis da exposição ou número de casos expostos; achados estatísticos ou descrição de resultados qualitativos; e os resultados e desfechos adversos à saúde (câncer, danos genéticos, disfunções ou distúrbios imunológicos) encontrados.

Os dados foram extraídos e organizados em uma planilha no programa Microsoft Excel<sup>®</sup>. Nos casos em que as informações relevantes não estavam disponíveis nos estudos, tentativas de contato com os autores correspondentes das publicações foram realizadas em busca dos dados ausentes.

#### *4.1.1.5 Avaliação do risco de viés*

Os critérios utilizados para avaliar a qualidade e o risco de viés dos estudos incluídos na revisão sistemática foram baseados na Ferramenta de Classificação *RoB Rating Tool* do Manual OHAT para evidências epidemiológicas, publicada pelo NTP, com modificações e inclusões necessárias (NTP, 2015).

Esta ferramenta permitiu a avaliação do potencial de erro sistemático nos artigos através de um conjunto de perguntas detalhadas que definem os aspectos do desenho do estudo epidemiológico e de seu desenvolvimento. A lista das questões abordadas na avaliação está sintetizada no Quadro 5.

Todos os artigos incluídos foram avaliados quanto à qualidade e risco de viés. Para cada estudo, as respostas das perguntas, individualmente, foram classificadas em quatro níveis: risco de viés definitivamente baixo (++); risco de viés provavelmente baixo (+); risco de viés provavelmente alto (-); ou risco de viés definitivamente alto (--). Os parâmetros utilizados para a classificação de cada pergunta estão sintetizados no Apêndice B.

Quadro 5- Questões utilizadas na avaliação do risco de viés dos estudos epidemiológicos incluídos na revisão sistemática.

<b>Crítérios</b>	<b>Questões</b>	<b>Ensaio clínico randomizado ou não randomizado</b>	<b>Estudos observacionais analíticos<sup>1</sup></b>
<i>Crítérios chave</i>	1. Pode-se ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?		
	2. Pode-se ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?		
	3. O desenho ou análise do estudo levou em consideração variáveis de confusão e modificação?		
<i>Outros critérios</i>	4. A alocação dos participantes do estudo foi adequadamente randomizada entre os grupos de controle e intervenção?		
	5. A distribuição dos participantes para os grupos de estudo foi ocultada de forma adequada?		
	6. A seleção de participantes resultou em grupos de comparação apropriados?		
	7. Os investigadores, equipe de pesquisa e os participantes do estudo foram cegos para o grupo de intervenção durante o estudo?		
	8. Os dados dos resultados foram completos, sem atrito ou exclusão da análise?		
	9. Todas as medições de resultados adversos à saúde foram relatadas?		
	10. O estudo avaliou a temporalidade entre a exposição e o resultado?		
	11. Existem ameaças potenciais ao estudo quanto a validade interna?		

<sup>1</sup> Estudo transversal, caso-controle e coorte.

Fonte: (NTP, 2015).

Posteriormente, todos os estudos foram categorizados de acordo com o nível de qualidade em:

- Nível 1: Quando o estudo se classificou como “risco de viés definitivamente baixo” ou “provavelmente baixo” para todos os critérios chave e teve a maioria (pelo menos a metade) das respostas dos outros critérios como “risco de viés definitivamente baixo” ou “provavelmente baixo”;
- Nível 2: Quando o estudo não atendeu aos critérios dos níveis 1 ou 3;
- Nível 3: Quando o estudo se classificou como “risco de viés definitivamente alto” ou “provavelmente alto” para todos os critérios chave e teve a maioria (pelo menos a metade) das respostas dos outros critérios como “risco de viés definitivamente alto” ou “provavelmente alto”.

#### 4.1.1.6 Síntese dos dados e interpretação crítica dos resultados

Os dados extraídos dos estudos selecionados e classificados como nível 1 ou 2 de

qualidade foram sintetizados e agrupados, de acordo com a substância específica (albendazol, benomil, carbendazim, fembendazol, flubendazol, fuberidazol, mebendazol, oxfendazol, oxibendazol, parbendazol, tiabendazol, tiofanato-metílico ou triclabendazol) e o resultado adverso à saúde investigado (risco/ocorrência de câncer, dano genético e/ou disfunções imunológicas), em tabelas e quadros, para permitir uma melhor visualização, comparação e apresentação dos achados de forma qualitativa, assim como a interpretação e discussão, de forma crítica, dos resultados.

#### **4.1.2 Revisão sistemática de estudos experimentais**

##### *4.1.2.1 Protocolo da revisão sistemática*

Com a mesma finalidade de garantir a qualidade e a validade da revisão, um protocolo para a revisão sistemática de estudos experimentais também foi elaborado e registrado na plataforma PROSPERO (número de registro: CRD42021262200), incluindo informações importantes sobre o desenho e a condução do estudo, como as estratégias de buscas, critérios de inclusão e exclusão, avaliação do risco de vieses, síntese de dados e outros aspectos relevantes para a realização da revisão sistemática (NIHR, 2020).

##### *4.1.2.2 Busca das evidências*

A busca sistemática das evidências relacionadas aos efeitos genotóxicos, imunotóxicos e carcinogênicos dos compostos benzimidazóis também foi realizada no dia 11 de março de 2021, nas bases de dados bibliográficas eletrônicas “MEDLINE” (PubMed), “Embase” e “Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde/Biblioteca Virtual em Saúde” (LILACS/BVS). Levando em consideração as publicações de artigos mais recentes, uma segunda busca foi realizada no dia 22 de dezembro de 2021.

As estratégias de busca, para identificação dos estudos que potencialmente atendam aos critérios de inclusão da revisão, foram as mesmas utilizadas para a revisão sistemática de estudos epidemiológicos (Apêndice A). Resumidamente, vários termos de pesquisa foram combinados, usando operadores booleanos (AND, OR, NOT), para conectar descritores relacionados a exposição de interesse (“albendazole”, “benomyl”, “benzimidazole”, “carbendazim”, “fenbendazole”, “flubendazole”, “fuberidazole”, “mebendazole”, “oxfedazole”, “oxibendazole”, “parbendazole”, “thiabendazole”, “thiophanate methyl”, “triclabendazole”) e aos efeitos adversos à saúde (“carcinogenicity”, “cancer”, “genotoxicity”, “immunotoxicity”, “DNA damage”, “mutation”, “mutagenicity”). Não houve restrições

aplicadas em qualquer banco de dados para limitar as datas e o idioma da publicação.

Complementarmente, realizou-se uma busca manual nas listas de referência dos estudos e dos documentos publicados por órgãos e agências governamentais (*National Toxicology Program*, NTP; *Environmental Protection Agency*, EPA; *World Health Organization*, WHO; *International Agency for Research on Cancer*, IARC; *European Food Safety Authority*, EFSA; *Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority*, APVMA; *European Medicines Agency*, EMEA; *Institution of Chemical Engineers*, ICHEM; *Joint Meeting on Pesticide Residues*, JMPR; Comissão Europeia), a fim de encontrar estudos potencialmente elegíveis não identificados pela pesquisa em bancos de dados eletrônicos.

#### 4.1.2.3 Seleção dos estudos

Os artigos identificados pela pesquisa bibliográfica foram selecionados através da plataforma *Rayyan*, por dois pesquisadores (JBG e FJRP), por meio da leitura do título e resumo, a fim de eliminar as duplicidades e os estudos que não atenderam ao critério de inclusão. Posteriormente, os artigos pré-selecionados foram lidos integralmente pelos mesmos pesquisadores para identificação das publicações elegíveis para a revisão sistemática, através dos critérios de exclusão estabelecidos. Qualquer desacordo, quanto a elegibilidade de estudos específicos, resolveu-se por meio de discussão entre os dois revisores.

- *Critério de inclusão*

- Estudos de modelos experimentais (*in vitro*, *in vivo* e *ex vivo*) que avaliem se a exposição a compostos da classe benzimidazol (albendazol, benomil, carbendazim, fembendazol, flubendazol, fuberidazol, mebendazol, oxfendazol, oxibendazol, parbendazol, tiabendazol, tiofanato-metílico ou triclabendazol) induz efeitos genotóxicos, imunotóxicos e/ou carcinogênicos.

- *Critérios de exclusão:*

- Ensaio clínico ou estudos epidemiológicos de qualquer tipo (relato de caso, série de casos, transversal, caso-controle, coorte retrospectiva, coorte prospectiva, ensaios clínicos randomizados, ensaios clínicos não randomizados, estudos ecológicos, outros);
- Estudos que avaliem exposição a qualquer outro composto que não faça parte da classe benzimidazol;
- Estudos que avaliem a exposição a uma mistura de um composto benzimidazol com substâncias de outras classes;
- Estudos que avaliem qualquer outro resultado que não seja relevante para a avaliação do

potencial genotóxico, imunotóxico e/ou carcinogênico dos compostos benzimidazóis;

- Estudos que não incluam grupo de controle negativo;
- Cartas, notas, revisões, editoriais, resenhas, relatórios, comentários, documentos emitidos por órgãos reguladores, capítulos de livros, meta-análises, diretrizes clínicas e artigos de opinião;
- Artigo completo não disponível;
- Artigos não disponíveis nos idiomas: Inglês, Português, Espanhol, Alemão, Italiano ou Francês.

#### 4.1.2.4 Extração dos dados

Dois formulários padronizados, baseado nos elementos de extração de dados do Manual OHAT para evidências experimentais, com modificações, publicado pelo NTP, foram utilizados para auxiliar no processo de extração de dados dos estudos experimentais *in vitro* ou *ex vivo* e dos estudos experimentais *in vivo* (NTP, 2019).

As informações extraídas para os estudos experimentais *in vitro* e *ex vivo* foram: autores; título; ano; conflitos de interesse; fonte de financiamento; local do estudo; objetivo do estudo; desenho/tipo do estudo; linhagem celular, tipo de célula ou tecido; fonte dos organismos; número de replicatas por grupo; procedimento de randomização, ocultação da alocação e mascaramento; descrição e composição do grupo de controle utilizado; nome do composto avaliado e seu número CAS; fonte e pureza química da substância; duração do tratamento e frequência da dosagem; dose administrada (níveis ou concentrações); amostra utilizada para avaliar os efeitos; método utilizado para avaliação dos efeitos investigados; método estatístico; resultados e efeitos (genotóxico, imunotóxico ou carcinogênico) encontrados.

Em relação aos estudos experimentais *in vivo*, as informações extraídas foram: autores; título; ano; conflitos de interesse; fonte de financiamento; local do estudo; objetivo do estudo; desenho/tipo do estudo; espécie, linhagem ou sexo do animal utilizado; fonte dos organismos; número de animais por grupo; procedimento de randomização, ocultação da alocação e mascaramento; descrição e composição do grupo controle utilizado; idade ou período de vida dos organismos no início da dosagem; informações sobre dieta e manuseio dos organismos; nome do composto avaliado e seu número CAS; fonte e pureza química da substância; via de exposição/administração; duração do tratamento e frequência da dosagem; dose administrada (níveis ou concentrações); amostra utilizada para avaliar os efeitos; método utilizado para avaliação dos efeitos investigados; método estatístico; resultados e efeitos (genotóxico, imunotóxico ou carcinogênico) encontrados.

Os dados foram extraídos e organizados em uma planilha no programa Microsoft

Excel<sup>®</sup>. Nos casos em que as informações relevantes não estavam disponíveis nos estudos, tentativas de contato com os autores correspondentes das publicações foram realizadas em busca dos dados ausentes, assim como na revisão sistemática de estudos epidemiológicos.

#### 4.1.2.5 Avaliação do risco de viés

Os critérios utilizados para avaliar a qualidade dos estudos incluídos na revisão sistemática foram baseados na Ferramenta de Classificação *RoB Rating Tool* do Manual OHAT para evidências experimentais, publicada pelo NTP, com modificações e inclusões necessárias (NTP, 2015).

Esta ferramenta permitiu a avaliação do potencial de erro sistemático nos artigos através de um conjunto de perguntas detalhadas que definem os aspectos do desenho do estudo experimental e de seu desenvolvimento. A lista das questões abordadas na avaliação está sintetizada no Quadro 6.

Todos os artigos incluídos foram avaliados quanto à qualidade. Para cada estudo, as respostas de cada pergunta foram classificadas em quatro níveis: risco de viés definitivamente baixo (++); risco de viés provavelmente baixo (+); risco de viés provavelmente alto (-); risco de viés definitivamente alto (--). Os parâmetros utilizados para a classificação de cada pergunta estão sintetizados no Apêndice C. Em seguida, todos os estudos foram categorizados de acordo com o nível de qualidade em:

- Nível 1: Quando o estudo se classificou como “risco de viés definitivamente baixo” ou “provavelmente baixo” para todos os critérios chave e teve a maioria (pelo menos a metade) das respostas dos outros critérios como “risco de viés definitivamente baixo” ou “provavelmente baixo”;
- Nível 2: Quando o estudo não atendeu aos critérios dos níveis 1 ou 3;
- Nível 3: Quando o estudo se classificou como “risco de viés definitivamente alto” ou “provavelmente alto” para todos os critérios chave e teve a maioria (pelo menos a metade) das respostas dos outros critérios como “risco de viés definitivamente alto” ou “provavelmente alto”.



Quadro 6- Questões utilizadas para avaliar a qualidade dos estudos experimentais incluídos na revisão sistemática.

<b>Crítérios</b>	<b>Questões</b>	<b>Estudos experimentais <i>in vitro/ex vivo</i></b>	<b>Estudos experimentais <i>in vivo</i></b>
<i>Crítérios chave</i>	1. Pode-se ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?		
	2. Pode-se ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?		
	3. A pesquisa teve um número adequado de repetições por grupo de estudo?		
	4. O estudo possui um número adequado de animais para detectar os efeitos da exposição?		
<i>Outros critérios</i>	5. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?		
	6. O pessoal de pesquisa foi cegado para o grupo de teste?		
	7. Os dados dos resultados foram completos, sem atrito ou exclusão da análise?		
	8. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna?		
	9. A dose administrada ou o nível de exposição foram adequadamente randomizados?		
	10. Todos os resultados medidos foram relatados?		

Fonte: (NTP, 2015).

#### 4.1.1.6 Síntese dos dados e interpretação crítica dos resultados

Os dados extraídos dos estudos selecionados e classificados como nível 1 ou 2 de qualidade foram sintetizados e agrupados, de acordo com a substância específica (albendazol, benomil, carbendazim, fembendazol, flubendazol, fuberidazol, mebendazol, oxfendazol, oxibendazol, parbendazol, tiabendazol, tiofanato-metílico ou triclabendazol), o efeito investigado (genotóxico, imunotóxico ou carcinogênico), o desenho de estudo (*in vitro*, *in vivo* ou *ex vivo*) e a linhagem celular/espécie analisada, em tabelas e quadros, para permitir uma melhor visualização, comparação e apresentação dos achados de forma qualitativa, assim como a interpretação e discussão, de forma crítica, dos resultados.

## 4.2 INTEGRAÇÃO DAS EVIDÊNCIAS

Por se tratar de revisões sistemáticas de estudos experimentais e epidemiológicos, é importante que as evidências disponíveis sejam integradas para responder à pergunta central do estudo. De acordo com Prueitt e colaboradores (2020), é essencial, que os achados experimentais (estudos *in vivo*, *in vitro* e *ex vivo*) suportem a relação causal entre a exposição e os efeitos, para que então possam ser integrados com as evidências epidemiológicas, através dos aspectos de Bradford Hill (HILL, 2015).

Os critérios, sintetizados no Quadro 7, utilizados para avaliar se os resultados de estudos experimentais suportam a relação de causalidade, foram apresentados por Prueitt e colaboradores (2020) e baseados no *International Program on Chemical Safety (IPCS) Mode-of-Action/Human Relevance Framework* e na NTP OHAT (BOOBIS *et al.*, 2008; MEEK *et al.*, 2014; NTP, 2019). Caso todos os critérios listados forem atendidos, os estudos experimentais demonstraram causalidade. Caso o contrário, é determinado pelos pesquisadores do projeto se é mais provável que a evidência desses estudos apoie a causa, que não apoie a causa ou que seja inadequada para determinar a causa.

Quadro 7- Critérios para avaliar a relação de causalidade nos estudos experimentais.

Aspecto	Critério
Causalidade	<i>Consistência</i> : Repetibilidade dos principais eventos e efeitos em espécies/projetos de estudo.
	<i>Magnitude</i> : Grande, considerando o tipo de efeito, espécie, faixa de dose e padrão de exposição.
	<i>Especificidade</i> : Reversibilidade dos efeitos se a exposição for interrompida ou um evento chave evitado.
	<i>Temporalidade</i> : Observação de eventos-chave em uma ordem hipotética, a exposição deve preceder a ocorrência do efeito.
	<i>Resposta à exposição</i> : Principais eventos observados nas exposições abaixo ou semelhantes às aquelas associadas ao efeito adverso.
	<i>Concordância biológica</i> : O modo de ação proposto é consistente com o conhecimento biológico atual.
	<i>Analogia</i> : O modo de ação proposto é consistente com o que é conhecido para outros produtos químicos relacionados com um modo de ação bem definido.

Fonte: (PRUEITT *et al.*, 2020).

Caso a evidência experimental apoie a causalidade, a mesma é integrada com a epidemiológica, através dos aspectos de Bradford Hill (Quadro 8). Os achados experimentais forneceram informações sobre a plausibilidade biológica em humanos e sobre a coerência, e os demais aspectos foram avaliados de acordo com as evidências epidemiológicas disponíveis (HILL, 2015; PRUEITT *et al.*, 2020).

Assim como anteriormente, se todos os aspectos de Bradford Hill forem atendidos, concluiremos que a evidência como um todo (experimental e epidemiológica) apoia a relação de causalidade entre a exposição e desfecho. Caso contrário, é determinado pelos pesquisadores do projeto se é mais provável que a evidência é sugestiva de causalidade, não suporta causalidade ou é inadequada para determinar a causalidade (PRUEITT *et al.*, 2020).

Quadro 8- Aspectos de Bradford Hill modificados para integração de evidências experimentais e epidemiológicas.

<b>Aspectos</b>	<b>Definição</b>
<b>Consistência</b>	A evidência é mais forte se efeitos consistentes são observados entre estudos realizados por diferentes pessoas, em lugares e tempo distintos.
<b>Força de associação</b>	Estimativas de risco grandes e precisas têm menos probabilidade de serem devido ao acaso, viés ou outros fatores de confundimento.
<b>Coerência</b>	Todos os fatos conhecidos relacionados à associação observada se encaixam de maneira lógica.
<b>Plausibilidade biológica</b>	A evidência sobre o mecanismo biológico de um efeito permite uma determinação cientificamente de causalidade.
<b>Gradiente biológico</b>	A evidência é mais forte quando existe uma relação de exposição-desfecho bem caracterizada.
<b>Temporalidade</b>	A exposição deve preceder a ocorrência da doença/efeito.
<b>Especificidade</b>	A evidência é mais forte quando a doença/efeito é específica para uma determinada exposição.
<b>Analogia</b>	A evidência é mais forte quando uma substância semelhante é um fator causal estabelecido para um efeito semelhante.
<b>Evidência experimental</b>	Podem fornecer fortes evidências de quando uma intervenção ou interrupção da exposição resulta em uma mudança na ocorrência da doença/efeito.

Fonte: adaptado de (PRUEITT *et al.*, 2020; HILL, 2015).

## 5 RESULTADOS

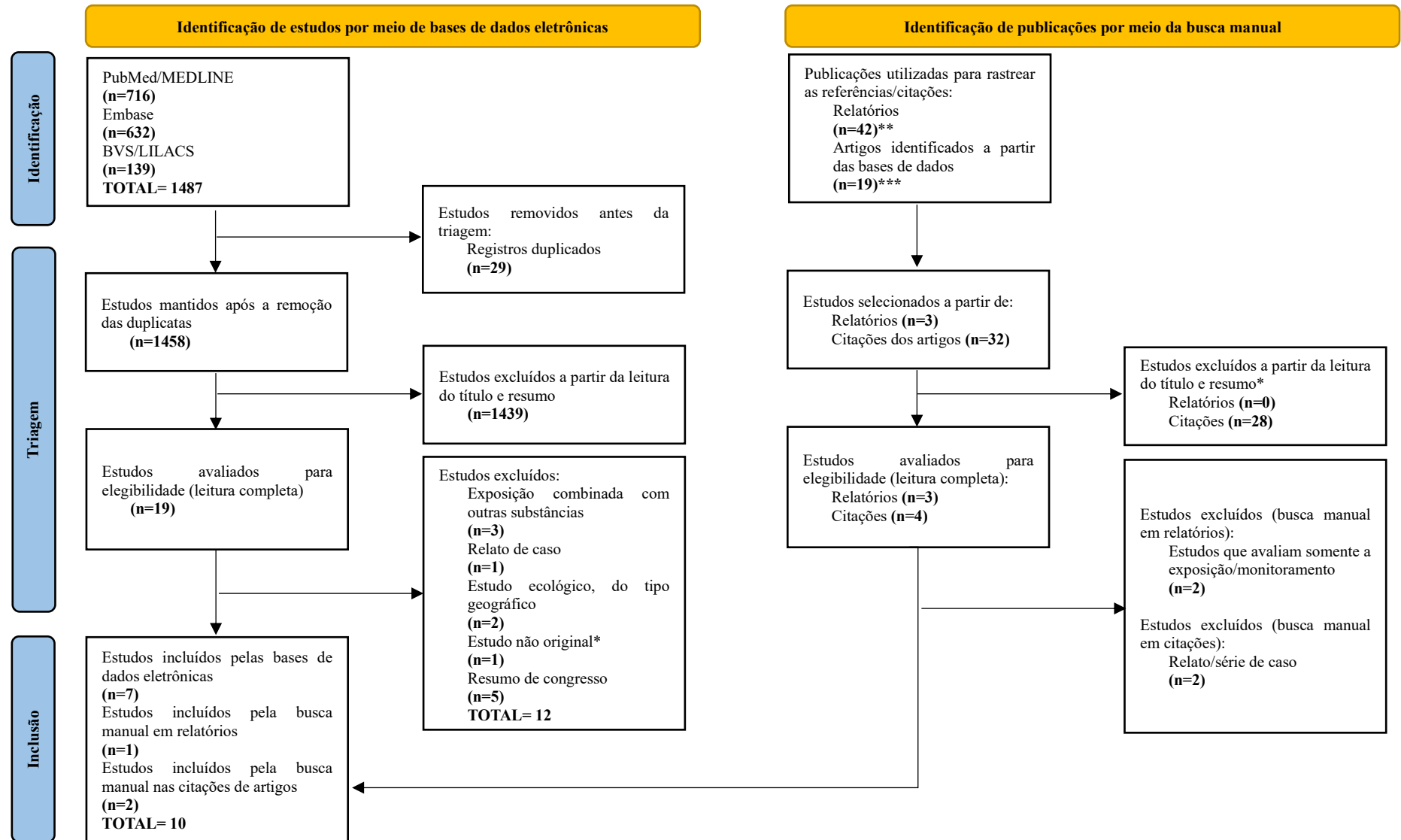
Levando em consideração que a metodologia do estudo foi composta por duas revisões sistemáticas (epidemiológica e experimental), os resultados foram divididos entre essas duas etapas, onde a busca das evidências, a identificação e exclusão dos estudos foram detalhadas, assim como a análise temporal, demográfica e das evidências das publicações incluídas nas revisões. Os resultados são apresentados para cada composto benzimidazol, individualmente, além de agrupamentos, de acordo com mecanismo de ação e principal utilização. Por fim, os resultados acerca da integração das evidências epidemiológicas e experimentais (*in vitro*, *in vivo*, *ex vivo*) são apresentados.

### 5.1 REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS

#### 5.1.1 Busca das evidências

Os estudos identificados, após a busca manual e nas bases de dados, foram selecionados após as etapas de triagem, elegibilidade e inclusão, como detalhado no esquema a seguir. O fluxograma consiste em dois principais blocos: “identificação de estudos por meio de bases de dados eletrônicas” e “identificação de publicações por meio da busca manual”.

Resumidamente, sete artigos, recuperados pela busca nas bases de dados eletrônicas (PubMed/MEDLINE, Embase e BVS/LILACS), foram incluídos na revisão sistemática adicionado de um artigo, obtido a partir dos documentos publicados pelas principais agências/órgãos governamentais, e dois estudos encontrados nas referências/citações dos artigos sobre o tema. Ou seja, apenas dez estudos epidemiológicos observacionais forneceram evidências científicas sobre a exposição aos compostos benzimidazóis e os riscos de câncer, danos genéticos e/ou disfunções imunológicas. Vale ressaltar que nenhum estudo epidemiológico experimental (ensaio clínico randomizado, ensaio de campo ou ensaio comunitário) sobre o tema foram recuperados, enfatizando a inexistência desse tipo de investigação ou o acesso restrito dessas informações, tendo em vista que a grande maioria dos estudos utilizados pelos documentos fornecidos pelas agências/órgãos governamentais não são publicados e, portanto, não puderam ser interpretados nesta revisão.



\* Entende-se por estudo não original publicações que não apresentam dados inéditos, como: cartas, notas, revisões, editoriais, resenhas, relatórios, comentários, documentos emitidos por órgãos reguladores, capítulos de livros, meta-análises, diretrizes clínicas e artigos de opinião.

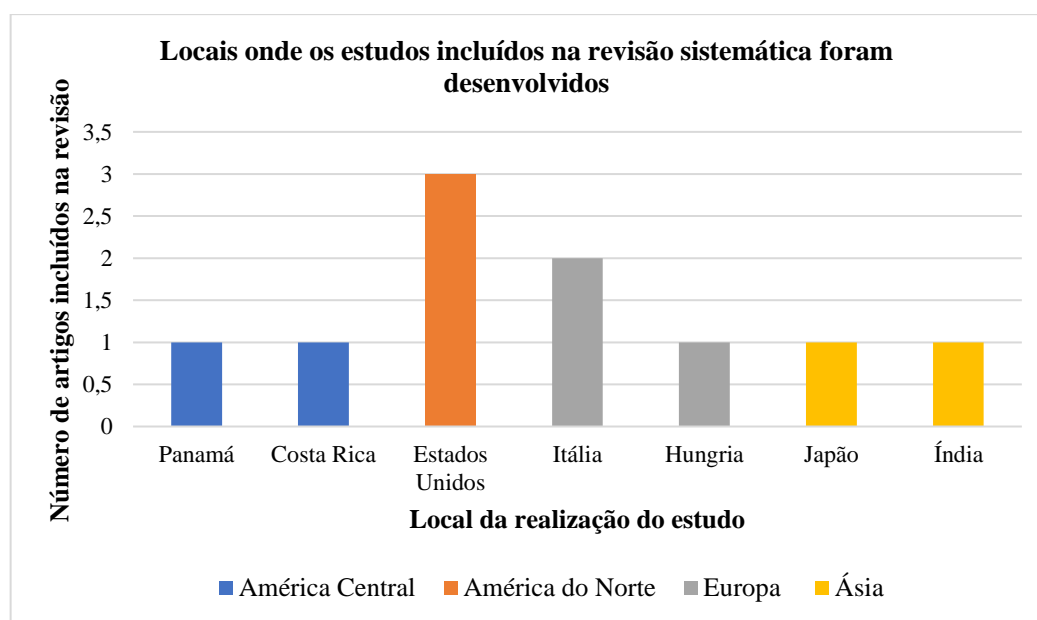
\*\* Identificou-se 42 relatórios publicados por organizações ou agências governamentais. Tais documentos foram consultados em busca de estudos que atendem-se ao critério de inclusão da revisão sistemática, mas que não foram recuperados pela busca nas bases de dados eletrônicas.

\*\*\* Consultou-se as referências citadas pelos 19 artigos recuperados pela busca nas bases de dados eletrônicas, que foram lidos integralmente, em busca de estudos que não tenham sido recuperados.

### 5.1.2 Análise temporal e demográfica das publicações

Os locais onde os estudos epidemiológicos, incluídos na revisão sistemática, foram desenvolvidos, se resumiram ao continente americano (América Central e do Norte), europeu e asiático, sendo os Estados Unidos e a Itália os países que mais publicaram essas pesquisas (Figura 3). É importante destacar que nenhum país da América do Sul, incluindo o Brasil, desenvolveram um desses estudos incluídos na revisão. Ademais, levando em consideração que nenhuma restrição de data de publicação foi aplicada, os dez artigos incluídos foram publicados entre os anos de 1981 e 2021 (dados não mostrados).

Figura 3- Locais onde os estudos epidemiológicos, incluídos na revisão sistemática, foram desenvolvidos.



Fonte: Do autor.

### 5.1.3 Análise dos dados e avaliação do risco de viés

Em relação aos efeitos de saúde investigados nesta revisão (riscos de câncer, danos genéticos e/ou disfunções imunológicas), encontrou-se evidências epidemiológicas apenas para o composto benomil (sete artigos), carbendazim (um artigo), tiabendazol (um artigo), tiofanato-metílico (um artigo) e sobre uma mistura complexa de benzimidazóis (um artigo). Nenhum artigo incluído analisou as outras substâncias investigadas (albendazol, fembendazol, flubendazol, fuberidazol, mebendazol, oxfendazol, oxibendazol, parabendazol e triclabendazol). Os dados extraídos de cada artigo foram sintetizados em uma planilha (Apêndice D), assim como a avaliação e classificação, relacionada ao risco de viés (Apêndice E).

### 5.1.3.1 *Benzimidazol*

Em relação a classe de compostos benzimidazóis no geral, apenas uma evidência epidemiológica sobre danos genéticos estava disponível no início dessa revisão. Estudos sobre carcinogenicidade e imunotoxicidade em humanos não foram detectados.

Em um estudo epidemiológico observacional transversal, Bolognesi e colaboradores (2004) avaliaram os efeitos genotóxicos, a partir da análise de micronúcleos, de uma população de 51 floricultores expostos a diversas substâncias, incluindo uma mistura complexa de pesticidas (benomil, carbendazim e tiofanato-metílico). Um grupo de comparação foi formado por 24 doadores de sangue saudáveis, que viviam na mesma área, mas que não utilizavam estes compostos.

A exposição foi autorrelatada pelos participantes através de um questionário, portanto, os níveis de exposição não foram quantificados, direta ou indiretamente, por métodos analíticos. A estimativa do uso de benomil, carbendazim e tiofanato-metílico pela população de estudo foi de 117, 100 e 23 kg/ano, respectivamente, representando cerca de 10,9% da quantidade total dos pesticidas utilizados. Em relação aos compostos benzimidazóis não houve caracterização dos níveis/faixas de exposição, apenas a divisão de "usuários de benzimidazóis" (19 floricultores) e "outros" (32 floricultores).

Nesse contexto, porcentagens um pouco mais elevadas de micronúcleo com centrômero positivo (MN C+) foram observadas em usuários de compostos benzimidazóis (66,52±16,11%), em comparação com a população de floricultores que não utilizavam pesticidas pertencentes a essa classe química (63,78±14,02%), evidenciando a indução de micronúcleo (MN) por má-segregação cromossômica (mecanismos de aneugenicidade), em sua maioria.

Entretanto, é importante destacar que nenhum fator de confundimento foi considerado nas análises específicas dos compostos benzimidazóis e que o desenho do estudo – transversal – não avalia a relação de temporalidade entre a exposição e o desfecho investigado. Esses fatores, adicionados da exposição autorrelatada pelos participantes da pesquisa, a heterogeneidade entre os grupos, não só em relação a exposição, mas também a outras variáveis, e a exposição combinada a outras substâncias, prejudicam a qualidade e confiabilidade das evidências fornecidas, sendo o estudo classificado como “nível 2”, de acordo com os critérios estabelecidos.

### 5.1.3.2 *Benomil*

Em relação ao composto benomil, especificamente, sete artigos forneceram evidências acerca dos efeitos em saúde investigados na revisão, sendo três estudos epidemiológicos

relacionados ao risco de câncer – duas coortes prospectivas e um caso-controle de base populacional (DENNIS *et al.*, 2010; MONGE *et al.*, 2007; WERDER *et al.*, 2020) –, uma coorte prospectiva referente a danos genéticos (NEHÉZ; DÉSI, 1996) e três estudos epidemiológicos transversais relacionados a disfunções imunológicas (LISI; CARAFFINI; ASSALVE, 1986; MATSUSHITA; AOYAMA, 1981; PENAGOS, 2002). No Quadro 9 está sintetizado os principais achados de cada estudo em relação aos efeitos investigados nessa revisão sistemática. É importante destacar que todas essas investigações foram classificadas como “nível 2”, em relação a qualidade e risco de viés, devido aos erros sistemáticos no desenho do estudo e no desenvolvimento apresentados a seguir.

#### **5.1.3.2.1 Câncer**

Os três estudos epidemiológicos incluídos apresentaram uma relação positiva entre a exposição ao benomil e a ocorrência de alguns cânceres específicos. Um estudo de coorte prospectiva, realizado com aplicadores privados (fazendeiros, trabalhadores rurais e operários de viveiros) e aplicadores comerciais (indivíduos empregados por empresas de controle de pragas ou por empresas que utilizam pesticidas), avaliou a relação entre os casos de melanoma cutâneo e a exposição a agrotóxicos, entre eles o benomil. A exposição foi autorrelatada pelos indivíduos e o registro de câncer em Iowa e Carolina do Norte foi a fonte consultada para avaliação do resultado de saúde (DENNIS *et al.*, 2010).

Após a coleta de todas as informações, através dos questionários, faixas de exposição foram definidas para os indivíduos, em relação ao composto benomil: sem exposição; exposição por menos de 133 dias; exposição por mais de 133 dias. A exposição ao benomil demonstrou uma relação dose-resposta com melanoma cutâneo entre os aplicadores, tendo em vista que indivíduos expostos a essa substância por menos de 133 dias não apresentaram associação com a ocorrência de melanoma cutâneo (OD=1,0; IC=0,4-2,2), diferentemente daqueles expostos por mais de 133 dias (OD=2,8; IC=1,2-2,5), que apresentaram uma forte associação estatisticamente significativa. Ou seja, neste estudo a chance de desenvolver melanoma cutâneo foi de 2,8 vezes maior em indivíduos expostos por mais de 133 dias ao benomil, quando comparados aos que não são expostos (DENNIS *et al.*, 2010).

Em uma outra coorte, Werder e colaboradores (2020) observaram um aumento, não significativo, do risco de câncer de mama associado a exposição direta ao benomil em aplicadoras de pesticidas (*Hazard ratio*=1,6; IC=0,9-2,7). Em outras palavras, o risco de desenvolver câncer de mama foi de 1,6 vezes maior em indivíduos expostos ao ingrediente ativo quando comparados aos que não são expostos, durante um período de seguimento de



aproximadamente 15 anos. Embora um aumento no risco de câncer de mama tenha sido observado nas aplicadoras de benomil, quando comparados àquelas que não utilizam essa substância, não foi possível rejeitar a hipótese nula de que não existe relação entre a exposição a esse composto e a ocorrência de câncer de mama.

As associações foram semelhantes entre os modelos totalmente ajustados (incluindo o uso de outros pesticidas) e aqueles ajustados apenas para fatores demográficos/reprodutivos. A avaliação da exposição e do resultado de saúde foi semelhante a do estudo de Dennis e colaboradores (2010), por meio de questionários autoaplicáveis e registros de câncer em Iowa e na Carolina do Norte, respectivamente.

Ambas as pesquisas são epidemiológicas do tipo coorte prospectiva e, portanto, possuem evidências de que a exposição precede o resultado (relação de temporalidade entre exposição e desfecho bem estabelecida), além de garantir que um intervalo de tempo e um tamanho amostral adequado tenha sido examinado. Entretanto, fatores importantes como caracterização da exposição e seleção de grupos de comparação apropriados não foram realizados de forma adequada e, por conseguinte, ambos os estudos foram avaliados de acordo com o risco de viés e classificados como “nível 2”.

Um terceiro estudo, só que do tipo caso-controle de base populacional, foi desenvolvido por Monge e colaboradores (2007) para avaliar associações entre a exposição ocupacional dos pais a pesticidas e o risco de leucemia na prole. O método utilizado para avaliar o resultado de saúde foi baseado em dados secundários, através do registro de câncer do Hospital Infantil, onde todos os casos de leucemia infantil (idades de 0 a 14 anos no diagnóstico, N=300), diagnosticados na Costa Rica entre 1995 e 2000, foram identificados. A exposição parental foi determinada através de questionários aplicados e o benomil está entre um dos 25 pesticidas avaliados.

Na análise de expostos *versus* não expostos, a exposição do pai ao benomil durante o primeiro ano de vida da criança mostrou uma associação não significativa com leucemia total (OR=1,8; IC=0,9-3,8) e com leucemia linfocítica aguda (OR=1,8; IC=0,9-4,0). Durante o primeiro ano de vida da criança, a alta exposição do pai ao composto mostrou uma associação com leucemia total (OR=5,5; IC=1,1-26,4) e com leucemia linfocítica aguda (OR=6,6; IC=1,2-35,4), quando comparado a baixa exposição. Ao avaliar todos os períodos, observou-se uma associação significativa entre a exposição e leucemias totais na prole durante o primeiro (OR=2,1; IC=1,0-4,4), segundo (OR=2,2; IC=1,0-5,0) e terceiro (OR=2,2; IC=1,0-5,2) trimestres de gravidez (MONGE *et al.*, 2007).

Quadro 9- Principais efeitos observados nos estudos epidemiológicos relacionados a exposição ao benomil.

Referência	Tipo de estudo	Efeito investigado	Resultado encontrado	Efeito*
<b>Câncer</b>				
(DENNIS <i>et al.</i> , 2010)	Coorte prospectiva	Melanoma cutâneo	A exposição ao benomil demonstrou uma relação dose-resposta com melanoma cutâneo entre os aplicadores, tendo em vista que indivíduos expostos ao benomil (>133 dias) apresentaram uma forte associação com a ocorrência de melanoma cutâneo.	++
(WERDER <i>et al.</i> , 2020)	Coorte prospectiva	Câncer de mama	Observou-se um aumento, não significativo, do risco de câncer de mama associado a exposição direta ao benomil.	±
(MONGE <i>et al.</i> , 2007)	Caso-controle	Leucemia infantil	A exposição do pai ao benomil durante o primeiro ano de vida da criança mostrou uma associação não significativa com leucemia total e com leucemia linfocítica aguda. Ao avaliar todos os períodos, observou-se uma associação significativa entre a exposição e leucemias totais na prole durante o 1º, 2º e 3º trimestres de gravidez.	+
<b>Dano genético</b>				
(NEHÉZ; DÉSI, 1996)	Coorte prospectiva	Anormalidade cromossômica numérica e estrutural	As alterações cromossômicas numéricas aumentaram significativamente nos trabalhadores que utilizaram benomil, entretanto, após um ano, os resultados voltaram ao nível medido antes da pulverização.	+
<b>Disfunção imunológica</b>				
(PENAGOS, 2002)	Transversal	Dermatite de contato	3,8% dos participantes dos indivíduos expostos a pesticidas tiveram resultado positivo no teste de contato para benomil.	○
(LISI; CARAFFINI; ASSALVE, 1986)	Transversal	Dermatite de contato	Apenas 1 participante (0,95%) do grupo não exposto à agrotóxicos apresentou resposta positiva no teste de contato com benomil.	○
(MATSUSHITA; AOYAMA, 1981)	Transversal	Dermatite de contato	A maior incidência de reação positiva (41%) foi encontrada em mulheres agricultoras na área onde a maioria dos indivíduos utilizavam benomil. Na área que não se utilizava essa substância, cerca de 20% das agricultoras desenvolveram respostas positivas no teste de contato com benomil.	●

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o desfecho observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o desfecho observado; (±) associação não significativa entre a exposição e o desfecho observado; (●) em comparação com o grupo de referência, indivíduos expostos ao pesticida tiveram uma maior manifestação dos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) o grupo referência e exposto ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o desfecho observado.

Nota: Todos os estudos do quadro foram classificados como “nível 2”, em relação a avaliação da qualidade e risco de viés.

Fonte: Do autor.

Mesmo que toda a avaliação da exposição quanto ao estado de caso-controle das crianças tenha sido feita às cegas, a classificação do estudo como “nível 2” foi baseada nas recusas de participação de alguns indivíduos à pesquisa, na ausência da relação de temporalidade entre exposição e desfecho, na exposição autorrelatada pelos participantes e na não consideração das variáveis de confusão/modificação nas análises.

De forma resumida, todas as evidências epidemiológicas, mesmo com as fragilidades do desenho e desenvolvimento do estudo, evidenciam um aumento no risco de câncer em indivíduos expostos ao benomil, de forma direta ou através da via parental. Entretanto, é importante salientar que tais indivíduos estão expostos a múltiplas substâncias e a ausência da quantificação direta da exposição nos participantes das pesquisas impede a confirmação de uma relação 100% causal entre os fatores.

#### **5.1.3.2.2 Dano genético**

O estudo de Nehéz e colaboradores (1996) foi o único que avaliou a frequência de dano cromossômico em uma coorte de homens pulverizadores de pesticidas em espaços fechados. No total, 14 indivíduos afirmaram utilizar o fungicida benomil durante as atividades laborais, através dos questionários respondidos.

A determinação da frequência de aberrações cromossômicas foi realizada antes da pulverização, 48 horas após a cessação da pulverização e um ano após essa atividade. Notou-se, após 48 horas da pulverização de benomil, um aumento estatisticamente significativo na frequência de células com aberrações cromossômicas nos trabalhadores que utilizaram esse composto (11%), em comparação com o grupo controle (5,2%) – homens saudáveis que não tinham contato conhecido com pesticidas e com nenhum outro produto químico. Um aumento significativo também foi observado, especificamente, para aberrações cromossômicas numéricas em indivíduos expostos (6,4%), quando comparado ao grupo controle (2,2%). Em contrapartida, encontrou-se um aumento não significativo em aberrações cromossômicas estruturais em pulverizadores (5,4%) em comparação com os indivíduos não expostos (3,0%). É necessário enfatizar que, após um ano da cessação da pulverização do ingrediente ativo, as frequências de todos os tipos de aberrações voltaram ao nível quantificado antes da pulverização (NEHÉZ; DÉSI, 1996), ou seja, o efeito observado foi reversível após a cessação da utilização do composto.

Levando em consideração que a exposição não foi adequadamente caracterizada – já que ela foi autorrelatada pelos participantes da pesquisa –, que o estudo não considerou as variáveis de confusão/modificação nas análises e que o número amostral foi muito reduzido, é

necessário ter cautela na interpretação desses achados avaliados e classificados como “nível 2”, de acordo com o risco de viés.

#### **5.1.3.2.3 Disfunção imunológica**

Em relação a possíveis disfunções imunológicas desencadeadas pela exposição ao benomil, as únicas evidências epidemiológicas disponíveis estão relacionadas a ocorrência de dermatite de contato, tendo em vista que essa reação é desencadeada por uma resposta imune específica do organismo contra determinadas substâncias químicas que entram em contato com a pele.

Um estudo transversal realizado no Panamá, com trabalhadores de plantações de banana, investigou, a partir do teste de contato, a relação entre a exposição dérmica a pesticidas e a ocorrência de reações alérgicas mediadas por mecanismo imune. A pesquisa foi realizada com diversos pesticidas e substâncias químicas, dentre elas o benzimidazol benomil, em uma concentração de 1%. Dos indivíduos expostos à pesticidas, apenas três (3,8% dos resultados positivos) apresentaram resultados positivos no teste de contato com benomil (PENAGOS, 2002).

O estudo realizado por Lisi e colaboradores (1986), com trabalhadores agrícolas, trabalhadores que exerciam atividades agrícolas no passado e indivíduos que nunca trabalharam em contato com agrotóxico, também apresentou resultados negativos em relação a ocorrência de dermatite após o teste de contato com benomil 0,1%. Dos 105 indivíduos testados com os adesivos do composto, apenas um participante do grupo não exposto à pesticidas apresentou resposta positiva ao teste de contato.

Diferentemente dos estudos anteriores, uma outra pesquisa realizada na Província de Kagoshima (Bansei e Chiran), no Japão, demonstrou resultados positivos no que diz respeito a manifestação alérgicas após o contato com o composto benomil 0,1%. A maior incidência de reação positiva (41%) foi encontrada em mulheres agricultoras na área de Bansei, onde a maioria utilizava o fungicida benomil, e por este motivo, já são mais hipersensíveis a essa substância, devido ao contato prolongado com ela. Na área de Chiran, cerca de 20% das agricultoras, que não utilizaram o ingrediente ativo, desenvolveram respostas positivas com a preparação dessa substância (MATSUSHITA; AOYAMA, 1981).

Os três estudos possuem erros sistemáticos ao longo do seu desenvolvimento e por este motivo, também são classificados como “nível 2”, principalmente pelo fato de nenhuma dessas pesquisas realizarem análises estatísticas dos dados encontrados. Embora, a maioria das evidências demonstraram não haver uma relação entre dermatite de contato e a exposição ao

benomil, uma resposta imune exacerbada foi observada após o contato dérmico com o composto em indivíduos expostos anteriormente a essa substância, evidenciando a necessidade de mais estudos epidemiológicos voltado para esse tema.

#### *5.1.3.3 Carbendazim*

Ao se tratar do composto benzimidazol carbendazim, evidências acerca de danos genéticos e câncer não foram identificadas, apenas um único estudo caso-controle relacionado a disfunções imunológicas.

Sharma e colaboradores (1990) investigaram a sensibilização de contato por vários compostos em 30 agricultores com dermatite de contato (casos) e em 20 indivíduos jovens saudáveis, sem dermatite de contato (controles). A manifestação alérgica na pele foi determinada através do teste de contato com adesivos de carbendazim 1%. Após todas as análises, nenhuma reação alérgica foi encontrada no grupo controle e apenas uma resposta positiva para carbendazim foi observada em um caso.

Embora tais informações demonstrem a inexistência de uma relação entre a exposição ao carbendazim e a ocorrência de reações alérgicas, mediadas por mecanismo imune, é importante destacar que nenhuma análise estatística foi realizada e o tamanho amostral foi muito reduzido. Além disso, o desenho do estudo e a forma como foi desenvolvido influenciou na classificação da pesquisa como “nível 2”, em relação ao risco de viés, tendo em vista os erros sistemáticos presentes em diversas etapas, assim como nos outros estudos anteriormente mencionados.

#### *5.1.3.4 Tiabendazol*

Assim como no carbendazim, apenas um estudo transversal relacionado a disfunções imunológicas e a exposição ao tiabendazol foi recuperado pelas buscas, não havendo evidências disponíveis sobre danos genéticos e câncer.

Penagos (2002), além de avaliar a relação entre a exposição dérmica ao benomil e a ocorrência de reações alérgicas, também analisou outro composto benzimidazol, o tiabendazol. Nesse contexto, observou-se que entre os indivíduos expostos a pesticidas (trabalhadores de plantações de banana), dez apresentaram resultados positivos no teste de contato com tiabendazol 0,1%, sendo considerado um dos sensibilizadores mais frequentes entre os resultados positivos (12,8%), quando comparado, por exemplo, ao benomil, citado anteriormente.

Novamente, por se tratar de um estudo com recorte seccional, a relação de

temporalidade entre a exposição e o desfecho não é assegurada e, somado ao fato de a exposição ter sido autorrelatada, sem a determinação quantitativa por métodos analíticos, e os dados não terem sido interpretados estatisticamente, o estudo foi avaliado como “nível 2” para os riscos de vieses.

#### 5.1.3.5 Tiofanato-metílico

Por fim, o tiofanato-metílico foi o último composto benzimidazol avaliado, somente em relação ao potencial carcinogênico, nos artigos epidemiológicos. Um estudo de caso-controle, realizado por Lombardi e colaboradores (2021), avaliou associações entre exposições a pesticidas específicos, que ocorreram durante a gravidez, e subtipos de tumor do sistema nervoso central (SNC) em crianças na Califórnia. Uma estimativa de exposição foi realizada, para cerca de 77 pesticidas, através de banco de dados secundários com informações sobre o uso dessas substâncias na localidade ou entorno da região onde as crianças e mãe residiam.

Notou-se um aumento de risco – nos modelos ajustados para outros pesticidas – para astrocitoma difuso (OR=1,64; IC95%=1,02-2,66) e ependimoma (OR=1,72; IC95%=1,10–2,68) em crianças expostas ao tiofanato-metílico durante a gravidez e/ou durante a infância. Em outras palavras, a chance de ser exposto ao tiofanato-metílico é, respectivamente, 1,64 e 1,72 vezes maior em casos de astrocitoma difuso e de ependimoma do que em crianças saudáveis (LOMBARDI *et al.*, 2021).

Embora seja maior a chance de as crianças com esses tipos de cânceres serem expostas ao tiofanato-metílico, do que aquelas saudáveis (sem nenhuma comorbidade), é necessário ter cautela na interpretação desse achado, tendo em vista que os resultados não foram estatisticamente significativos e, portanto, não foi possível rejeitar a hipótese nula de que não existe relação entre a exposição ao tiofanato-metílico e a ocorrência de astrocitoma difuso e ependimoma.

Ademais, considerando os erros sistemáticos introduzidos no estudo – determinação da exposição e do resultado em saúde através de dados secundários, ausência de evidências que comprovem que a exposição precedeu o desfecho e a grande taxa de perda e exclusão de participantes ao longo da pesquisa –, o mesmo foi categorizado como “nível 2”.

## 5.2 REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EXPERIMENTAIS

### 5.2.1 Busca das evidências

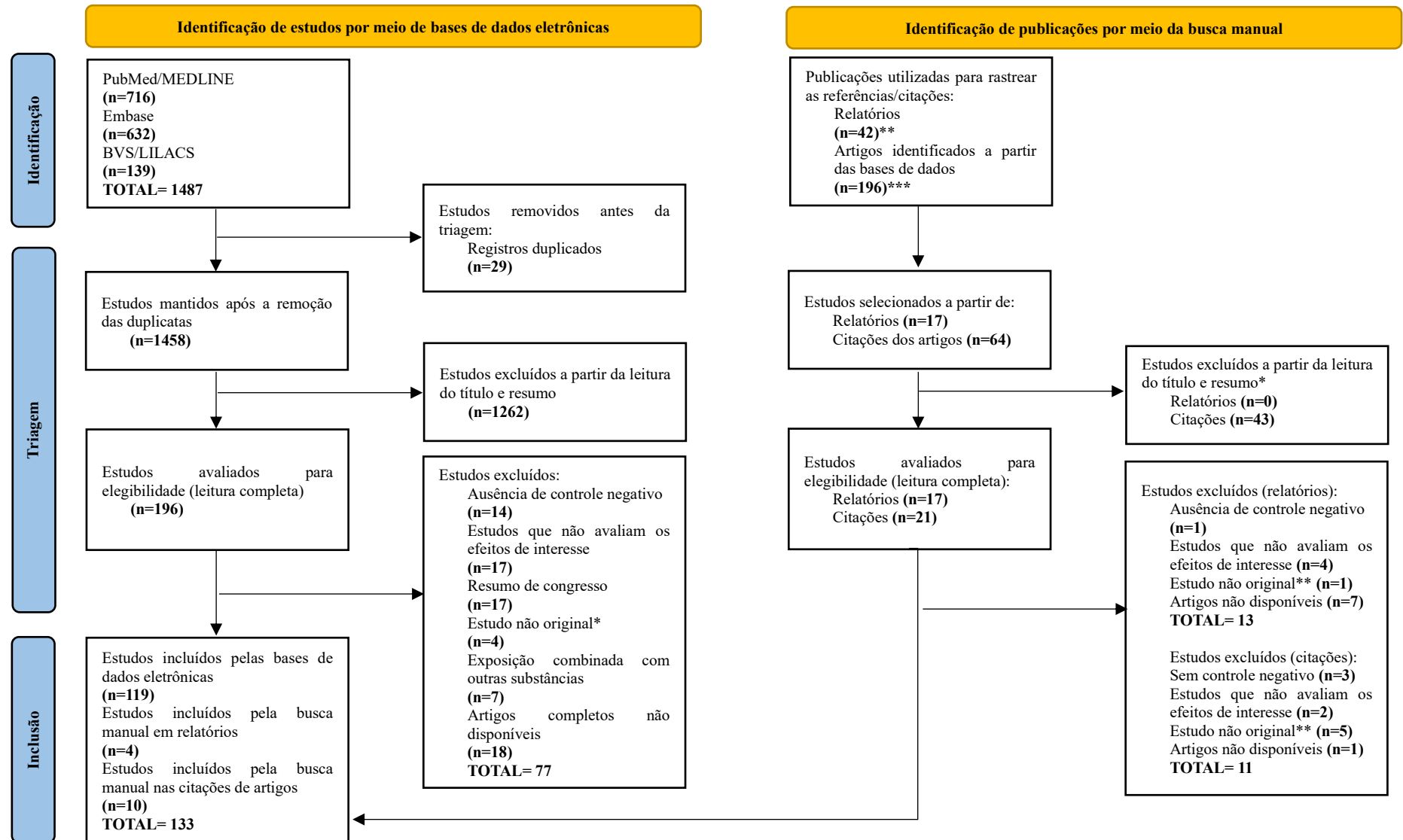
Assim como na revisão sistemática de estudos epidemiológicos, os estudos experimentais identificados, após a busca manual e nas bases de dados, foram selecionados após as etapas de triagem, elegibilidade e inclusão, como detalhado no fluxograma a seguir.

Em relação a busca nas bases de dados eletrônicas, 1487 artigos, no total, foram identificados nas bases do “PubMed/MEDLINE”, “Embase” e “BVS/LILACS”, entretanto apenas 1458 passaram pela etapa de triagem, já que 29 registros duplicados foram identificados e excluídos previamente. A partir da leitura do título e resumo, 1262 artigos foram excluídos, por não atenderem ao critério de inclusão da revisão, restando apenas 196 estudos que foram lidos integralmente. Desses, somente 119 foram incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais, tendo em vista que, baseado nos critérios de exclusão estabelecidos, 77 artigos foram removidos.

Adicionalmente, se referindo a busca manual, 42 relatórios e publicações de agências/órgãos governamentais, sobre os compostos benzimidazóis analisados, foram identificados. Esses arquivos, junto com os 196 artigos lidos de forma completa na busca nas bases de dados, tiveram suas referências e citações consultadas, a fim de recuperar alguma pesquisa disponível que não tenha sido incluída na revisão. Resumidamente, 17 e 64 artigos foram identificados nos relatórios e nas citações dos estudos analisados, respectivamente. Após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, foram incluídos 4 artigos pela busca manual em relatórios e 10 estudos pela busca manual nas citações de artigos.

Em suma, somando as três fontes de identificação de artigos, 133 estudos experimentais, incluindo modelos *in vitro* e *in vivo*, forneceram evidências sobre os efeitos genotóxicos, imunotóxicos e/ou carcinogênicos dos compostos benzimidazóis. Em contrapartida nenhum estudo experimental *ex vivo* disponível foi identificado.

Ao analisar o fluxograma e todas as etapas de identificação dos estudos, é importante destacar o número elevado de pesquisas excluídas da revisão. Resumidamente, 18 resumos de congressos foram removidos – por não fornecerem evidências e dados completos – e 26 artigos foram excluídos por não terem o acesso liberado, totalizando 44 estudos. Ambos os motivos de exclusão impossibilitaram a inclusão dessas pesquisas e, portanto, não puderam ser interpretados nesta revisão, introduzindo um viés no estudo que não pode ser evitado, tendo em vista que todas as tentativas de acesso foram realizadas.



\* Entende-se por estudo não original publicações que não apresentam dados inéditos, como: cartas, notas, revisões, editoriais, resenhas, relatórios, comentários, documentos emitidos por órgãos reguladores, capítulos de livros, meta-análises, diretrizes clínicas e artigos de opinião.

\*\* Identificou-se 42 relatórios publicados por organizações ou agências governamentais. Tais documentos foram consultados em busca de estudos que atendem-se ao critério de inclusão da revisão sistemática, mas que não foram recuperados pela busca nas bases de dados eletrônicas.

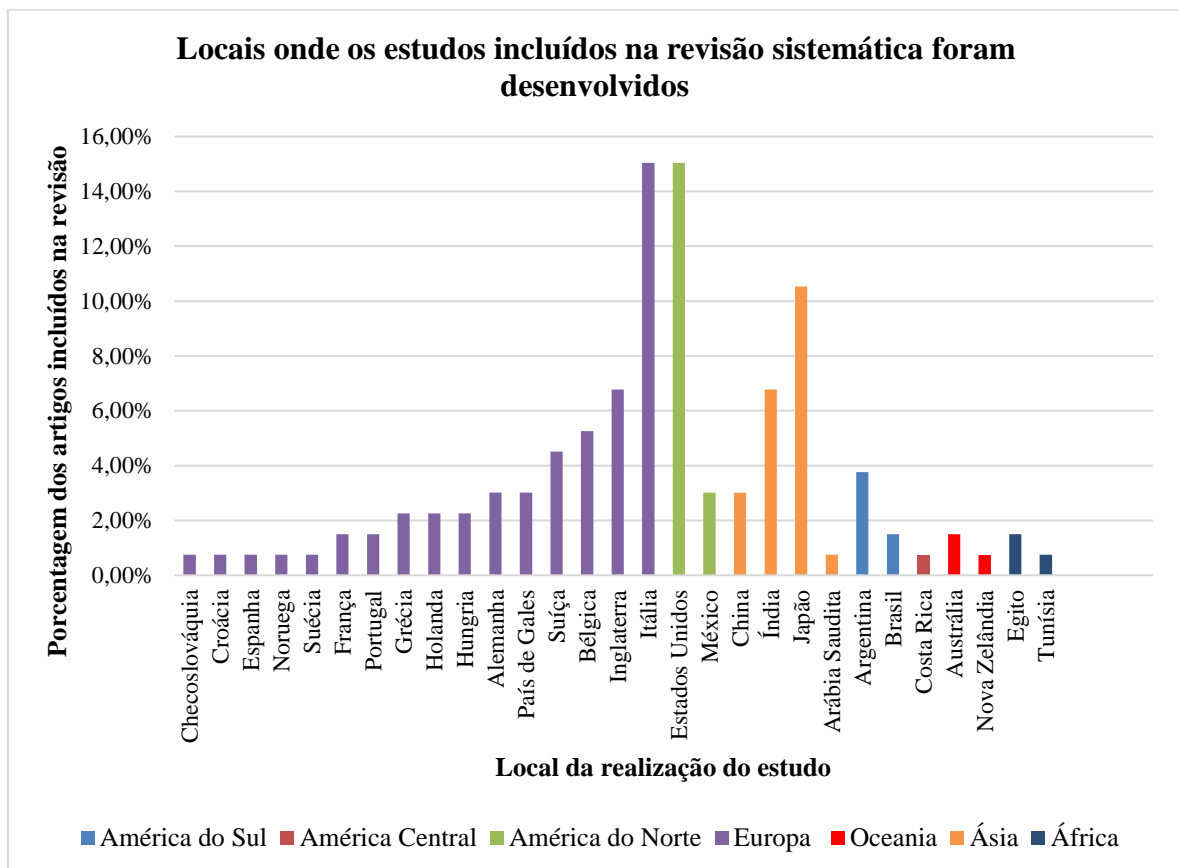
\*\*\* Consultou-se as referências citadas pelos 196 artigos recuperados pela busca nas bases de dados eletrônicas, que foram lidos integralmente, em busca de estudos que não tenham sido recu



### 5.2.2 Análise temporal e demográfica das publicações

Os locais onde os estudos experimentais (*in vitro* e *in vivo*), incluídos na revisão sistemática, foram desenvolvidos, se resumiram a diversos países de quase todos os continentes, com exceção da Antártida. Nota-se, na Figura 4, uma maior frequência de estudos desenvolvidos nos países europeus, sendo a Itália o país com maior número de estudos realizados e publicados sobre o tema (20 artigos), posição compartilhada com os Estados Unidos. O Japão, por sua vez, foi o terceiro país que mais desenvolveu as pesquisas incluídas na revisão (14 artigos). Mesmo em um cenário preocupante, com o alto consumo de pesticidas e anti-helmínticos, o Brasil produziu e publicou apenas 2 estudos sobre os efeitos genotóxicos, imunotóxicos e/ou carcinogênicos dos compostos benzimidazóis em modelos *in vitro* e *in vivo*, o que corresponde a apenas 1,8% dos artigos incluídos nesta revisão.

Figura 4- Locais onde os estudos experimentais, incluídos na revisão sistemática, foram desenvolvidos.



Nota: Levando em consideração que 100% equivale a 133 artigos.

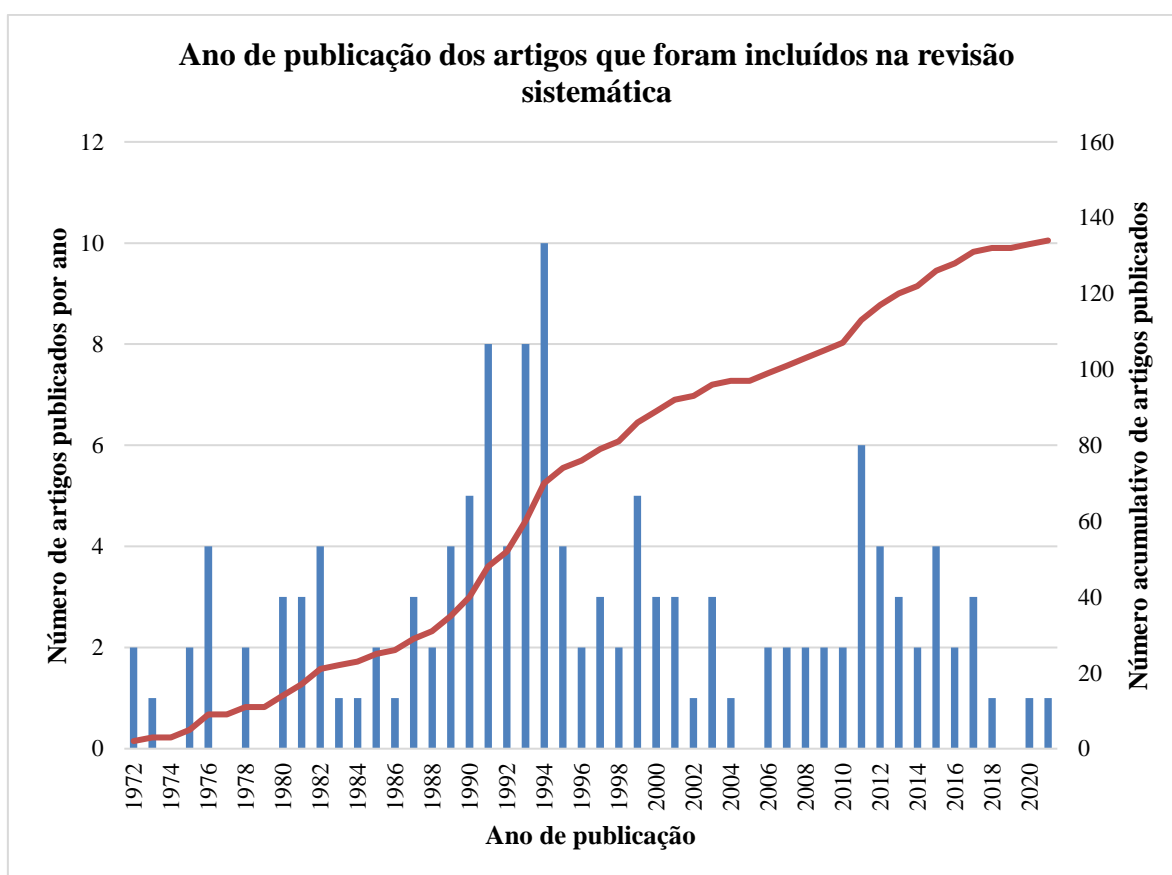
Fonte: Do autor.

Em relação ao ano de publicação, levando em consideração que nenhuma restrição de data foi aplicada, os 133 artigos incluídos foram publicados entre os anos de 1972 e 2021

(Figura 5). A década de 90 foi o período com o maior número de publicações – principalmente nos anos de 1991, 1993 e 1994 –, marcada com um aumento acentuado, quando comparado a década anterior. Posteriormente, no início dos anos 2000, houve um declínio seguido por um aumento, mais atenuado, de artigos publicados na década de 2010.

Em relação aos dados cumulativos, observa-se um aumento no número de publicações com o passar do tempo, estabilizando a partir do ano de 2017. Ressalta-se o fato de nenhuma pesquisa, incluída na revisão, ter sido publicado nos anos de 1974, 1977, 1979, 2005 e 2019.

Figura 5- Distribuição por ano das publicações dos artigos experimentais incluídos na revisão sistemática.



Fonte: Do autor.

### 5.2.3 Análise dos dados e avaliação do risco de viés

Em relação aos efeitos investigados nesta revisão sistemática (genotóxico, imunotóxico e/ou carcinogênico), encontrou-se estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* relacionados ao composto benzimidazol, benomil, carbendazim, flubendazol, mebendazol, tiabendazol e tiofanato-metílico. Já em relação as substâncias albendazol, fembendazol e oxibendazol, apenas estudos experimentais *in vitro* foram identificados. Em contrapartida, apenas uma evidência

experimental *in vivo* foi recuperada quando se tratou do composto fuberidazol e oxfendazol (Quadro 10). Destaca-se que nenhum artigo experimental incluído na revisão sistemática analisou os compostos parabendazol e triclabendazol e, portanto, os objetivos não puderam ser analisados para essas substâncias. Os dados extraídos de cada pesquisa foram sintetizados em uma planilha, categorizada de acordo com o composto e os efeitos encontrados (Apêndice F), assim como a avaliação e classificação, relacionada ao risco de viés e qualidade do estudo (Apêndice G e H).

Salienta-se que não houve evidências sobre o potencial genotóxico, imunotóxico e carcinogênico de todas as substâncias analisadas. Benomil, carbendazim e tiabendazol foram os únicos compostos, cujo artigos incluídos na revisão sistemática forneceram evidências sobre todos os efeitos investigados. Em contrapartida, para as outras substâncias, somente um ou dois dos efeitos foram analisados (Quadro 11).

Quadro 10- Quantidade de artigos identificados relacionados a cada composto benzimidazol.

Substância	Tipo de estudo		
	Epidemiológico	Experimental <i>in vitro</i>	Experimental <i>in vivo</i>
Albendazol	-	5	-
Benzimidazol	1	2	1
Benomil	7	27	10
Carbendazim	1	24	35
Fembendazol	-	1	-
Flubendazol	-	3	1
Fuberidazol	-	-	1
Mebendazol	-	9	2
Oxfendazol	-	-	1
Oxibendazol	-	2	-
Parabendazol	-	-	-
Tiabendazol	1	22	18
Tiofanato-metílico	1	3	7
Triclabendazol	-	-	-

Nota: Tendo em vista que um único estudo pode analisar mais de um composto benzimidazol, de forma independente, os números de artigos expressos no quadro variam do número de artigos incluídos nas revisões sistemáticas.

Fonte: Do autor.

Quadro 11- Quantidade de estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* sobre os potenciais efeitos genotóxicos, imunotóxicos e/ou carcinogênicos dos compostos benzimidazóis.

Substância	Estudo experimental					
	<i>In vitro</i>			<i>In vivo</i>		
	Genotóxico	Imunotóxico	Carcinogênico	Genotóxico	Imunotóxico	Carcinogênico
Albendazol	5	-	-	-	-	-
Benzimidazol	1	-	-	2	-	-
Benomil	26	1	-	9	-	1
Carbendazim	24	-	-	29	4	3
Fembendazol	1	-	-	-	-	-
Flubendazol	3	-	-	1	-	-
Fuberidazol	-	-	-	1	-	-
Mebendazol	9	-	-	2	-	-
Oxfendazol	-	-	-	-	1	-
Oxibendazol	2	-	-	-	-	-
Parbendazol	-	-	-	-	-	-
Tiabendazol	22	-	-	12	3	3
Tiofanato-metílico	3	-	-	6	1	-
Triclabendazol	-	-	-	-	-	-

Nota: Tendo em vista que um único estudo pode analisar mais de um composto benzimidazol de forma independente, os números de artigos expressos no quadro variam do número de artigos incluídos na revisão sistemática.

Fonte: Do autor.

### 5.2.3.1 Albendazol

Após a busca das evidências, extração e análise dos dados, encontrou-se apenas estudos experimentais *in vitro* – 5 artigos no total – sobre o potencial genotóxico desse composto. As alterações no material genético investigadas nessas pesquisas incluídas se resumem a formação de micronúcleos, indução de perda cromossômica e não disjunção cromossômica em linhagem de células fúngicas (cepa de *Saccharomyces cerevisiae*), humanas e de animais. No Quadro 12 está sintetizado os principais achados de cada estudo, assim como a classificação deles em relação a avaliação da qualidade e risco de viés, levando em consideração os erros sistemáticos no desenvolvimento.

#### 5.2.3.1.1 Genotoxicidade

- Linhagem celular fúngica

Apenas um único estudo avaliou a genotoxicidade do albendazol na cepa D61.M de *Saccharomyces cerevisiae*. O objetivo do estudo foi avaliar a indução de perda cromossômica (CHRL) em culturas de levedura diplóide, após a exposição ao albendazol (0-30 µg/mL) por

18 horas. Mesmo que nenhuma análise estatística tenha sido realizada no estudo, é notório um grande aumento na CHRL em culturas tratadas com o albendazol, quando comparado ao controle negativo (solvente dimetilsulfóxido: DMSO). A maior indução de perda cromossômica ocorreu na dose mais alta (30 µg/mL), resultando em uma frequência de cerca de 222 perdas por 10<sup>6</sup> unidade formadora de colônia (CFU), um aumento de 44 vezes em relação ao efeito observado na dose ativa mais baixa (20 µg/mL), que gerou cerca de 5 perdas cromossômicas por 10<sup>6</sup> CFU. Embora esta frequência seja bem baixa, ela foi considerada positiva porque representou um aumento substancial em relação aos controles negativos (<0,20 por 10<sup>6</sup> CFU) (GOIN; MAYER, 1995).

- Linhagem celular animal

A genotoxicidade também foi avaliada em um estudo, desenvolvido por Ermler e colaboradores (2013), com células de ovário de hamster chinês. Os pesquisadores observaram, em comparação ao controle, um aumento estatisticamente significativo, dose-dependente, na formação de micronúcleos a partir da concentração 1,56 x 10<sup>-7</sup> M, que corresponde a aproximadamente 0,04 µg/mL. Ou seja, mesmo em concentrações bem baixas de albendazol, efeitos genotóxicos foram observados em modelos *in vitro*.

- Linhagem celular humana

Por fim, o potencial genotóxico também foi avaliado em células humanas (linfócitos e fibroblastos), a partir do ensaio de micronúcleo, análise de não disjunção cromossômica e alteração na morfologia dos microtúbulos.

Em relação a formação de micronúcleos, observou-se um aumento estatisticamente significativo do número de células micronucleadas em culturas tratadas com: 0,1 e 1,0 µM de albendazol (RAMÍREZ; EASTMOND; HERRERA, 2007); 10 e 100 µM de albendazol (RAMÍREZ *et al.*, 2001). O mesmo foi observado em dois estudos realizados com o metabólito farmacologicamente ativo do albendazol (ABZ), onde notou-se um aumento estatisticamente significativo na frequência de micronúcleo (MN) em células tratadas com o 10 e 100 µM de sulfóxido de albendazol (ABZSO) (RAMÍREZ *et al.*, 2001; RAMÍREZ *et al.*, 2003).

Em contrapartida, duas pesquisas realizadas com o ABZSO e outro metabólito farmacologicamente inativo (albendazol sulfona: ABZSO<sub>2</sub>) demonstraram o oposto. Ambos os metabólitos foram incapazes de induzir um aumento na frequência de células micronucleadas quando comparado ao grupo controle negativo (RAMÍREZ *et al.*, 2001; RAMÍREZ; EASTMOND; HERRERA, 2007).

Ainda em relação ao ABZ e ABZSO, há evidências de que, mesmo em concentrações baixas (0,1-10  $\mu\text{M}$ ), estas substâncias induziram um aumento significativo na porcentagem de células que apresentaram eventos de não disjunção cromossômica, ou seja, em determinado momento da divisão celular, a distribuição dos cromossomos ou das cromátides ocorreu de maneira incorreta. Tais alterações resultam em eventos mutantes, devido a ocorrência de alterações cromossômicas numéricas (aneuploidias) (RAMÍREZ; EASTMOND; HERRERA, 2007).

Por fim, cultura de fibroblastos de seres humanos tratados com ABZSO apresentaram aumento significativo na frequência de alterações morfológicas dos microtúbulos (27,7%), quando comparado ao controle negativo (3,0%) (RAMÍREZ *et al.*, 2003). Vale destacar a importância dessas estruturas não só para a morfologia das células, como também para a divisão celular, podendo resultar então em alterações no material genético.

Resumidamente, as evidências experimentais *in vitro* demonstram que o composto benzimidazol albendazol possui capacidade genotóxica em todas as linhagens celulares testadas (fúngica, animal e humana), principalmente no que diz respeito a indução na formação de micronúcleos e na não disjunção cromossômica. Em relação ao metabólito ativo ABZSO, os dados das pesquisas discordam entre si, enquanto alguns estudos demonstraram haver uma relação entre efeitos genotóxicos (micronúcleo e não disjunção cromossômica) e a exposição ao ABZSO, outras, por sua vez, concluíram que tais compostos não induzem a formação de micronúcleo e não alteram a estrutura dos microtúbulos.

#### **5.2.3.1.2 Avaliação do risco de viés**

Os critérios estabelecidos, de qualidade de estudo e risco de viés, foram aplicados para os estudos experimentais *in vitro*. Das cinco pesquisas, três foram categorizadas como “nível 1” (ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013; RAMÍREZ *et al.*, 2003; RAMÍREZ; EASTMOND; HERRERA, 2007) e duas como “nível 2” (GOIN; MAYER, 1995; RAMÍREZ *et al.*, 2001). Os artigos classificados como “nível 1” não relataram se os pesquisadores estavam cegos ao tipo de tratamento das culturas, viés que pode conduzir a resultados falsos positivos ou falsos negativos e interferir nas questões de reprodutibilidade dos estudos (BEGLEY; IOANNIDIS, 2015). Além desse viés, aqueles classificados como “nível 2”, possuíam adicionalmente outros erros sistemáticos identificados, como: número não adequado de replicatas; e a não realização de análises estatísticas dos resultados encontrados.

Quadro 12- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vitro* relacionados a exposição ao albendazol e seus metabólitos.

Referência	Concentração testada	Linhagem celular	Efeitos observados				Avaliação do risco de viés
			Indução de perda cromossômica	Não disjunção cromossômica	Micronúcleo	Alteração na morfologia dos microtúbulos	
<b>Albendazol</b>							
(GOIN; MAYER, 1995)	15; 20; 25; 30 µg/mL	Cepa D61.M de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	●				Nível 2
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	0-0,001 M	Célula de ovário de hamster chinês			++		Nível 1
(RAMÍREZ; EASTMOND; HERRERA, 2007)	0,1; 1; 10 µM	Linfócitos de sangue periférico humano		+	+		Nível 1
(RAMÍREZ <i>et al.</i> , 2001)	0,1; 1; 10; 100 µM				+		Nível 2
<b>Sulfóxido de albendazol</b>							
(RAMÍREZ; EASTMOND; HERRERA, 2007)	0,1; 1; 10 µM	Linfócitos de seres humanos		+	-		Nível 1
(RAMÍREZ <i>et al.</i> , 2001)	0,1; 1; 10; 100 µM	Linfócitos de seres humanos			+		Nível 2
RAMÍREZ <i>et al.</i> , 2003)	10 µM	Linfócitos de seres humanos			+		Nível 1
	10 µM	Fibroblastos de seres humanos				+	
<b>Albendazol sulfona</b>							
(RAMÍREZ <i>et al.</i> , 2001)	0,1; 1; 10; 100 µM	Linfócitos de seres humanos			-		Nível 2

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, culturas expostas ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência de efeitos, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: M (molar); mL (mililitro); µg (micrograma); µM (micromolar).

Fonte: Do autor.

### 5.2.3.2 Benzimidazol

Levando em consideração a classe benzimidazol, alguns estudos avaliaram, de forma geral, a genotoxicidade desse grupo. Após a extensa busca, encontrou-se dois estudos experimentais *in vitro* e um estudo experimental *in vivo*, que avaliaram alterações no material genético, como micronúcleos, perda cromossômica e mutação.

#### 5.2.3.2.1 Genotoxicidade

##### 5.2.3.2.1.1 Estudos experimentais *in vitro*

As duas pesquisas realizadas com benzimidazol, a partir de modelos *in vitro*, são contraditórias e com informações escassas, em relação a capacidade dessa substância em causar efeitos genotóxicos nas linhagens testadas.

Seiler (1972) observou que, em cepas de *Salmonella typhimurium*, a exposição ao benzimidazol, por um determinado tempo e concentração (informações não especificadas no artigo), provocou um aumento na formação de colônias das bactérias, em comparação com o controle negativo (solvente DMSO), evidenciando a mutagenicidade dessa substância na desconhecida concentração testada. Em contrapartida, em uma outra pesquisa realizada, quando comparado ao controle negativo correspondente, nenhuma concentração de benzimidazol testada (450; 600; 750; 900; 1050 µg/mL) induziu perda cromossômica em *Saccharomyces cerevisiae*, após 18 horas de exposição (GOIN; MAYER, 1995). Em ambos os estudos, nenhuma análise estatística foi realizada com os dados encontrados, os autores apenas compararam os resultados entre as culturas (controle negativo e expostas).

##### 5.2.3.2.1.2 Estudos experimentais *in vivo*

O único estudo experimental *in vivo* que analisou a formação de micronúcleos em camundongos ICR expostos por 30 horas, através da via intraperitoneal, ao benzimidazol (100 e 300 mg/kg), não observou nenhum efeito genotóxico, e sim o oposto. Quando comparado ao controle negativo (animais não tratados com nenhuma substância), notou-se uma redução na frequência de micronúcleos com o aumento da dose, como se o composto fosse um fator protetivo contra a genotoxicidade. Na dose de 100 mg/kg de benzimidazol, a frequência de micronúcleo foi de 4,3 por 1000 eritrócitos policromáticos e na de 300 mg/kg foi de 3,1, valor inferior ao controle não tratado (3,6 por 1000 eritrócitos policromáticos). Em contrapartida, esses dados não foram analisados estatisticamente, não sendo possível, portanto, a confirmação da diferença entre os valores (SEILER, 1976).

Sinteticamente, as poucas evidências disponíveis, indicaram que o composto



benzimidazol foi mutagênico para cepas de *Salmonella typhimurium* em testes *in vitro*. Todavia, estudos *in vitro* e *in vivo* evidenciaram que tal substância não danificou a informação genética de uma célula a partir de mecanismo de modificação na sequência nucleotídica ou na estrutura do DNA, de um organismo vivo, como perda cromossômica e micronúcleos.

#### **5.2.3.2.2 Avaliação do risco de viés**

Após a aplicação de todos os critérios estabelecidos para a avaliação da qualidade do estudo e risco de viés, todas as pesquisas sobre o composto benzimidazol (GOIN; MAYER, 1995; SEILER, 1972, 1976), mencionadas anteriormente foram classificadas como “nível 2”. Essa categorização foi resultado de alguns erros sistemáticos introduzidos ao longo dos estudos, como a não utilização de um número adequado de replicatas/animais e a não realização de análises estatísticas dos dados obtidos ou utilização de métodos estatísticos inadequados. Ademais, nenhum dos estudos relataram que os pesquisadores estavam cegos ao tipo de tratamento das culturas e, no estudo *in vivo*, a dose administrada ou o nível de exposição não foram randomizados entre os animais. É importante destacar que no artigo publicado por Seiler (1972), informações relevantes como duração da exposição e a(s) concentração(s) testada(s) nas culturas não foram mencionadas e, portanto, é necessário ter cautela nas interpretação/conclusões dos resultados.

#### **5.2.3.3 Benomil**

Benomil foi o terceiro composto benzimidazol mais investigado nos artigos incluídos nessa revisão sistemática. No total, foram recuperados 27 estudos experimentais *in vitro*, sendo 26 sobre o potencial genotóxico e um sobre a imunotoxicidade dessa substância. Em relação as pesquisas *in vivo*, nove artigos avaliaram a genotoxicidade e um a carcinogenicidade.

##### **5.2.3.3.1 Genotoxicidade**

###### **5.2.3.3.1.1 Estudos experimentais *in vitro***

A capacidade do composto benomil em causar danos/alterações genéticas, em modelos *in vitro*, foi avaliada em diferentes linhagens celulares e a partir de diversos métodos. No Quadro 13 está sintetizado os principais achados de cada estudo, assim como a classificação deles em relação a avaliação da qualidade e risco de viés.







Quadro 13- Principais efeitos genotóxicos observados nos estudos experimentais *in vitro* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de benomil.

Referência	Linhagem celular	Concentração testada	Efeitos observados									Avaliação do risco de viés	
			Mutagênico	Má segregação cromossômica	Aneuploidia	Poliploidia	Distúrbio mitótico	Aberração no fuso	MN	SCE	AC		
<b>• Linhagem celular humana</b>													
(DOLARA <i>et al.</i> , 1992)	Linfócitos de sangue periférico humano	2; 4; 6 µg/mL									±		Nível 2
(GEORGIEVA <i>et al.</i> , 1990)	Linfócitos humanos	0,025-4 µg/placa			+						+	-	Nível 2
(RAIMONDI <i>et al.</i> , 1989)	Linfócitos de sangue periférico humano	1; 3; 10 µg/mL			•								Nível 2
(BENTLEY <i>et al.</i> , 2000)	Linfócitos binucleados humanos	25-3293 ng/mL			++								Nível 1
(KOCHENDÖRFER <i>et al.</i> , 1996)	Fibroblastos derivados da biópsia do tendão de Aquiles	0,1; 0,5; 1; 5; 10 µg/mL							•				Nível 2
(BIANCHI-SANTAMARIA <i>et al.</i> , 1997)	Linfócitos de sangue periférico humano	1; 10; 100 µg/mL								+			Nível 1

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (±) associação não significativa entre a exposição e o efeito observado; (•) em comparação com o controle, culturas expostas ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência de efeitos, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) as culturas de controle negativo e expostas ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: AC (aberração cromossômica); M (molar); mL (mililitro); MN (micronúcleo); ng (nanograma); ppm (parte por milhão); SCE (troca de cromátides irmãs); µg (micrograma); µM (micromolar).

Fonte: Do autor.

- Linhagem celular bacteriana

A capacidade mutagênica do ingrediente ativo benomil e de formulações comerciais a base dessa substância foi avaliada em seis estudos experimentais *in vitro*, que investigaram diferentes cepas bacterianas de *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli*, a partir de métodos como: teste de flutuação; frequência de mutantes do tipo r; testes de manchas/pontos não sobrepostos; teste de Ames; e ensaio microssomal.

A maior concentração de Benlate<sup>®</sup> (formulação comercial a base de benomil) testada foi entorno de 1078 µg/mL (KVELLAND, 1982) e 5000 µg/placa (FICSOR; BORDAS; STEWART, 1978) e, em ambos os estudos, nenhuma atividade mutagênica foi observada. Ficsor e colaboradores (1978) também avaliaram o princípio ativo benomil e outra formulação comercial a base da mesma substância (Fundazol<sup>®</sup>) e, da mesma forma, não encontraram efeitos mutagênicos para as doses testadas. Resultados negativos para mutagenicidade também foram observados em pesquisas realizadas com concentrações mais baixas da formulação comercial Benlate<sup>®</sup> (SARRIF *et al.*, 1994) e do princípio ativo benomil (CARERE *et al.*, 1978; GEORGIEVA *et al.*, 1990; SARRIF *et al.*, 1994).

Apenas um único estudo incluído nesta revisão encontrou resultados positivos para atividade mutagênica da formulação Benlate<sup>®</sup>. Kappas e colaboradores (1976) avaliaram diferentes cepas bacterianas e observaram, em relação a mutagenicidade, resultados negativos para *Escherichia coli* WP2, *Escherichia coli* CM611 *uvrA* *exrA* e *Salmonella typhimurium* TA1538. Em contrapartida, nas cepas com deficiência de excisão (*Escherichia coli* WP2 *uvrA* e *Salmonella typhimurium* TA1535), observou-se efeito mutagênico significativo em doses até 1,0 µg/mL. Em concentrações superiores houve um declínio na mutagenicidade da substância devido aos efeitos tóxicos na célula.

Tal estudo observou que a lesão pré-mutagênica, provocada pelo benomil, é suscetível ao reparo por excisão, o que justifica os resultados positivos apenas nas cepas incapazes de realizar este tipo de reparo. Neste contexto, é sugerido que o benomil provoca mutações, não por incorporação incorreta durante a replicação normal do DNA, mas por reparo incorreto de lacunas no DNA recém-sintetizado.

- Linhagem celular fúngica

Assim como em modelos *in vitro* com linhagem celular bacteriana, experimentos realizados com fungos (*Aspergillus nidulans* e *Saccharomyces cerevisiae*) também demonstraram que o composto benomil não é mutagênico para a maioria das cepas (ALBERTINI; BRUNNER; WÜRGLER, 1993; BIANCHI *et al.*, 1994; BERTOLDI *et al.*,

1980), a partir de métodos como o teste de flutuação, indução da conversão do gene mitótico e recombinação mutagênica.

A mutagenicidade do benomil também foi analisada por Kappas e Bridge (1981), que observaram diferentes efeitos entre as cepas fúngicas avaliadas. A exposição a este composto não induziu nenhuma atividade mutagênica em *Aspergillus nidulans* UT439 (proficiente em reparo por excisão), entretanto mutações reversas foram induzidas, de uma forma estatisticamente significativa, na cepa UT540 (adD3 uvsA1O1) e, dependente da dose, na cepa UT517 (uvsD53), ambas com excisão deficiente e sensível a UV (KAPPAS; BRIDGES, 1981). Esses achados confluem com as informações elucidadas nos estudos anteriores sobre a atividade mutagênica do benomil em estudos experimentais *in vitro* com linhagem celular bacteriana, indicando que a lesão de DNA está envolvida na ação mutagênica de benomil que é detectável e excisável por endonuclease UV.

Outros efeitos genotóxicos, além da mutação, também foram observados em pesquisas com esse tipo de organismo. Estudos realizados com *Saccharomyces cerevisiae* D61.M encontraram aumentos, estatisticamente significativos e dependentes da dose de benomil, na frequência de má segregação cromossômica (ALBERTINI, 1991; ALBERTINI; BRUNNER; WÜRGLER, 1993), o que resulta em eventos de aneuploidia, mesmo em concentrações baixas, como também foi observado em outra cepa de *Saccharomyces cerevisiae* (RSY6) (HOWLETT; SCHIESTL, 2000).

- Linhagem celular vegetal

Em relação aos efeitos genotóxicos do composto benomil em células vegetais, apenas um único estudo foi incluído nesta revisão sistemática. Nicoloff e Kappas (1987), com o objetivo de avaliar os efeitos do benomil na mitose de *Hordeum vulgare*, observaram que as doses testadas desse composto não induziram nenhuma aberração no fuso. Por outro lado, os pesquisadores observaram um aumento de 40 e 60 vezes nos distúrbios mitóticos das culturas tratadas, respectivamente, com 0,00003 (4,2%) e 0,0001 M (6,5%) de benomil, quando comparado ao controle (0,1%).

Os principais distúrbios presentes foram: perturbações da formação do fuso, condensação cromossômica anormal, não disjunção mitótica e cromossômica e atraso cromático, seguido pela formação de micronúcleos ou células aneuplóides. Apesar disso, é fundamental ressaltar que nenhuma análise estatística foi realizada pelos pesquisadores ao longo do artigo, sendo observado apenas as diferenças nas frequências entre o grupo controle e exposto.

- Linhagem celular animal

A genotoxicidade do benomil também foi investigada em sete estudos experimentais *in vitro* com células de animais mamíferos, entre eles, diferentes espécies de ratos, hamster e camundongos. Antecipando, todas essas pesquisas incluídas demonstraram um aumento na ocorrência de efeitos genotóxicos após a exposição ao composto de interesse.

Assim como em outros tipos de organismos, o benomil induziu aneuploidia em linhagens celulares de animais. Em um estudo realizado com células de hamster chinês V79/AP4, embora análises estatísticas não tenham sido realizadas, as frequências de células aneuplóides, em culturas tratadas por 12 horas – adicionado de 2, 4, 6 e 8 horas de recuperação – com concentrações de 2,5 (5,55%-21,05%) e 10 µg/mL (4,34%-37,89%) de benomil, foram substancialmente maiores do que no grupo controle negativo (0,14%). Em ambas as concentrações houve um aumento da frequência de células aneuplóides em relação ao aumento do tempo de recuperação (RAINALDI *et al.*, 1987).

A capacidade do benomil em induzir aneuploidia nesse tipo de linhagem celular foi confirmada em um artigo publicado por Gibson e colaboradores (1995), que avaliaram esse efeito genotóxico a partir da frequência de transformação morfológica das células. Um aumento significativo e dose/dependente na frequência de transformação morfológica foi notório em uma concentração de benomil de 2,0 µg/mL (81%), quando comparado ao controle negativo, após 24 horas de exposição. Em contrapartida, nenhum efeito foi observado nas culturas tratadas por sete dias.

Evidências disponíveis demonstraram haver uma relação entre a exposição a este benzimidazol, mesmo em concentrações baixas, e o aumento na frequência de micronúcleo em células de animais. A maioria dos estudos apresentaram uma diferença estatisticamente significativa na frequência de micronúcleo entre as células controle e tratadas com benomil, de forma dependente da concentração (EASTMOND; TUCKER, 1989; ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013; PIATTI; MARABINI; CHIESARA, 1994).

Ainda que a pesquisa desenvolvida por Sternes & Vig (1989) não tenha realizado análises estatísticas, um dado importante foi descrito, onde a frequência dos micronúcleos cinetocoros positivos (17,58%-31%) foi muito maior do que a frequência dos micronúcleos cinetocoros negativos (2,9-5,9%), sugerindo que os micronúcleos induzidos *in vitro* por benomil são causados por um mecanismo aneugênico. É necessário destacar que quando um cinetocoro é detectado no micronúcleo, presume-se que este micronúcleo contém um cromossomo inteiro, logo o núcleo principal da célula contém menos cromossomos do que o normal (aneuploidia) (MILLER; ADLER, 1990).



A maioria dos efeitos genotóxicos provocados pelo benomil podem ser explicados pelo modo de ação dessa substância, que impede a formação dos microtúbulos, estruturas responsáveis pela formação do fuso mitótico, afetando, portanto, a divisão celular. Nesse contexto, Kochendörfer e colaboradores (1996) demonstraram que este benzimidazol foi capaz de provocar fusos aberrantes, com a frequência variando de 25% (0,1 µg/mL) até 100% (5 e 10 µg/mL) em células de hamster chinês V79, e de 21% (0,1 e 0,5 µg/mL) até 99% e 98% (5 e 10 µg/mL, respectivamente) em fibroblastos embrionários de camundongos 3T3.

- Linhagem celular híbrida

Células híbridas, originadas a partir da fusão de células de animais e de humanos, também foram avaliadas após a exposição ao benomil. Embora testes estatísticos não tenham sido feitos, os dois estudos encontrados, ao analisar células híbridas entre células de camundongo e humanas (ATHWAL; SANDHU, 1985) e de hamster chinês-humano (ZELESCO; BARBIERI; GRAVES, 1990), observaram um aumento na frequência de células aneuplóides, mesmo em baixas concentrações de benomil, quando comparado aos respectivos controles negativos. Além disso, em ambas as pesquisas, também foi encontrado um aumento substancial na frequência de células poliplóides, principalmente em altas concentrações, com valores superiores inclusive a da aneuploidia.

- Linhagem celular humana

De modo final, a genotoxicidade também foi investigada em células humanas, como linfócitos e fibroblastos. As evidências publicadas estão em conformidade com os outros estudos apresentados anteriormente. Nenhum aumento no número de aberrações estruturais cromossômicas foi notado em cultura de linfócitos humanos – único resultado negativo para efeitos genotóxicos indicado nas pesquisas relacionadas a esse tipo de linhagem celular (GEORGIEVA *et al.*, 1990). Em contrapartida, de forma inédita, Georgieva e colaboradores (1990) demonstraram, após a exposição ao benomil, um aumento estatisticamente significativo na indução de troca de cromátides irmãs (SCE) em culturas de linfócitos humanos. Embora Dolar e colaboradores (1992) também tenham observado um aumento de SCE nas culturas tratadas com benomil, quando comparado ao controle negativo, diferenças estatísticas não foram encontradas e, portanto, não é possível rejeitar a hipótese nula de que essa substância não provoca troca de cromátides irmãs.

Ao analisar o potencial de causar aneuploidia, observou-se que a exposição ao benomil, inclusive a baixas concentrações, resultou em aumentos no número de células aneuplóides,

quando comparado ao grupo controle negativo (RAIMONDI *et al.*, 1989), principalmente na primeira e na segunda divisão mitótica (GEORGIEVA *et al.*, 1990). É importante salientar que um estudo, desenvolvido por Bentley e colaboradores (2000), demonstrou que a não disjunção foi o evento aneuplóide mais observado, com uma relação dose-resposta bem evidente.

Outros eventos genotóxicos também foram descritos, após exposição ao benomil, em culturas de fibroblastos e linfócitos. Kochendörfer e colaboradores (1996), após um tratamento com benomil por 24 horas, demonstraram um expressivo aumento na frequência de fusos aberrantes nas concentrações de 5 µg/mL (92%) e 10 µg/mL (96%), quando comparado as culturas do controle negativo, mas nenhum teste estatístico foi aplicado aos dados. Ademais, o mesmo composto também provocou um aumento estatisticamente significativo, que não foi relacionado com as doses, na frequência de micronúcleo em células binucleadas de linfócitos humanos (BIANCHI-SANTAMARIA *et al.*, 1997).

#### 5.2.3.3.1.2 Estudos experimentais *in vivo*

Os possíveis efeitos genotóxicos, provocados pela exposição ao benomil, também foram avaliados em modelos experimentais *in vivo* com vegetais e animais mamíferos. Os dados extraídos dessas pesquisas foram sintetizados e as evidências foram classificadas em relação a avaliação da qualidade e risco de viés (Quadro 14).

- Vegetais

Todas as concentrações de Benlate® testadas em espécies de vegetais (*Allium cepa*, *Allium sativum* e *Vicia faba*) causaram aberrações cromossômicas, dose-dependente e estatisticamente significativas, em todos os sistemas de teste, como: quebras cromossômicas e cromátides; lacunas; trocas; e/ou pontes.

- Animais mamíferos

Assim como a maioria dos experimentos *in vitro*, benomil demonstrou não ser uma substância mutagênica. Ratos machos expostos diariamente por sete dias, pela via oral, através da ingestão de alimentos adicionados de Benlate® (0,025; 0,125; 0,250%), não sofreram nenhum tipo de mutação letal dominante (SHERMAN; CULIK; JACKSON, 1975). Exposições mais prolongadas (70 dias) foram avaliadas por Georgieva e colaboradores (1990), que também não encontraram nenhum efeito positivo para mutações letais dominantes em ratos tratados, por via oral (gavagem), com 10, 50 e 200 mg/kg de Fundazol®.

Mailhes & Aardema (1992), ao avaliar camundongos fêmeas expostos de forma aguda

(17 horas) a altas concentrações de benomil (500; 1000; 1500; 1750; 2000 mg/kg), observaram aumentos estatisticamente significativos na frequência de oócitos hiperplóides, quando comparado ao controle, caracterizando uma aneuploidia correspondente ao tipo hiperplóidia, quando há a adição de um ou mais cromossomos ao cariótipo somático da espécie correspondente (SYBENGA, 1992). Além disso, os mesmos pesquisadores demonstraram que o benomil é capaz de induzir poliploidia, tendo em vista a presença de ovócitos poliplóides na etapa da metáfase II, em animais tratados com esse composto. A poliploidia também foi observada em camundongos albinos suíços tratados por via oral (gavagem) com uma elevada dose única (1 g/kg), onde células poliplóides aumentaram significativamente, em relação ao nível do controle, após 30 horas do início do tratamento (BARALE *et al.*, 1993).

A capacidade do benomil em induzir a formação de micronúcleos foi bem descrita nos estudos experimentais *in vitro* e é reforçado nos ensaios *in vivo*. Após curtos períodos de exposição (6-48 horas), o composto administrado por via oral (gavagem) em dose única ou dupla, induziu, em camundongos, quando comparado ao grupo controle, um aumento na frequência de micronúcleos nas altas concentrações avaliadas: 500 e 1000 mg/kg (SEILER, 1976); 1 g/kg (BARALE *et al.*, 1993). Levando em consideração uma exposição crônica (70 dias), 50 mg/kg de benomil também foi capaz de induzir a formação de micronúcleos em ratos (GEORGIEVA *et al.*, 1990).

De acordo com Sarrif e colaboradores (1994), a exposição a esse ingrediente ativo, além de induzir um aumento estatisticamente significativo na frequência de micronúcleos em eritrócitos policromáticos (MNPCE), nas concentrações de 2500 e 5000 mg/kg, também provocou uma elevação na frequência de micronúcleos cinetocoros positivos (K<sup>+</sup>). A maioria dos micronúcleos induzidos por este composto foram K<sup>+</sup> (média de 82%), sugerindo fortemente que os micronúcleos induzidos por benomil são causados por um mecanismo aneugênico.

Camundongos alimentados com grãos de trigo tratados com 1, 2 e 4 g/kg de benomil, e armazenados por 6 e 12 semanas, apresentaram um aumento, dependente da dose, na frequência de troca de cromátides irmãs. O prolongamento do período de armazenamento dos grãos afetou na ocorrência de SCE, tendo em vista que animais alimentados com os grãos armazenados por períodos mais longos tiveram um aumento na frequência de SCE altamente significativo (AMER; DONYA; ALY, 2003).

Por fim, aberrações cromossômicas também foram descritas ao avaliar a genotoxicidade do benomil. Embora Barale (1993) não tenha observado nenhuma aberração cromossômica em células de medula óssea de camundongos tratados via oral, com dose única de 1 g/kg do ingrediente ativo, outros pesquisadores demonstraram haver uma relação entre a exposição a

este benzimidazol e a ocorrência de aberrações cromossômicas (ADHIKARI; GROVER, 1988; AMER; DONYA; ALY, 2003). Assim como ocorrido com a frequência de SCE, Amer e colaboradores (2003) observaram um aumento gradual nas aberrações cromossômicas induzidas, conforme a concentração de benomil e o período de alimentação dos camundongos com os grãos tratados.

#### **5.2.3.3.2 Imunotoxicidade**

Em relação à capacidade imunotóxica do benomil, apenas um estudo experimental *in vitro* foi identificado e incluído nesta revisão sistemática. De acordo com Ohnishi e colaboradores (2008), ao comparar com o controle negativo, a exposição a esta substância gerou maiores taxas de inibição da ativação do promotor do interferon beta (IFN- $\beta$ ), induzida por lipopolissacarídeo, em culturas de células de camundongo RAW 264. Ou seja, levando em consideração que o IFN- $\beta$  é uma glicoproteína responsável pela resposta imune inata contra infecções virais, o composto benomil, neste estudo, diminuiu a capacidade de resposta do sistema imune dos animais. No entanto, nenhuma diferença estatística foi encontrada, não sendo possível, portanto, refutar a hipótese nula de que esse ingrediente ativo não inibe a ativação do promotor do IFN- $\beta$ .

#### **5.2.3.3.2 Carcinogenicidade**

No que se refere a carcinogenicidade do benomil, o único estudo experimental *in vivo* identificado e incluído nesta revisão sistemática (Quadro 14), concluiu que esta substância não foi capaz de causar câncer em camundongos suíços, após a exposição oral a 600 mg/kg, por 180 dias, tendo em vista que nenhum tumor foi identificado (BÖRZSÖNYI; PINTÉR, 1977).

Quadro 14- Efeitos observados nos estudos experimentais *in vivo* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações de benomil.

(continua)

Referência	Espécie ou linhagem do animal utilizado	Via/duração da exposição	Concentração testada	Efeitos observados							Avaliação do risco de viés
				Carcinogênico	Mutagênico	Aneuploidia	Poliploidia	MN	SCE	AC	
<b>• Experimentos <i>in vivo</i> com vegetais</b>											
(SHARMA; KAUR, 1990)	- <i>Allium cepa</i> ; - <i>Allium sativum</i> ; - <i>Vicia faba</i> .	- Sistemática - Vegetal exposto por 2 horas	250; 500; 1000 ppm							++	Nível 2
<b>• Experimentos <i>in vivo</i> com animais mamíferos</b>											
(SHERMAN; CULIK; JACKSON, 1975)	Ratos adultos machos ChR-CD	- Oral (alimentar) - Dose diária por 7 dias	0,025; 0,125; 0,250%		o						Nível 2
(GEORGIEVA <i>et al.</i> , 1990)	Ratos Wistar machos e fêmeas	- Oral (gavagem) - Dose diária por 70 dias	10; 50; 200 mg/kg		-			+			Nível 1
(SEILER, 1976)	Camundongos ICR	- Oral (gavagem) - 2 doses com intervalo de 24 hrs	500; 1000 mg/kg					•			Nível 2
(SARRIF <i>et al.</i> , 1994)	Camundongos machos e fêmeas B6D2F1/Cr-IBR (BDF1)	- Oral (gavagem) - Dose única	100; 2500; 5000 mg/kg					+			Nível 1
(BARALE <i>et al.</i> , 1993)	Camundongos albinos suíços machos	- Oral (gavagem) - Dose única	1g/kg				+	+		-	Nível 1
(AMER; DONYA; ALY, 2003)	Camundongos suíços brancos machos	- Oral (alimentar) - Dose diária por 2, 4 e 6 semanas	1; 2; 4 g/kg						++	+	Nível 2
(ADHIKARI; GROVER, 1988)	Ratos albinos machos de raça aleatória da cepa Wistar	- Intraperitoneal - 2 doses com intervalo de 24 hrs	250; 500; 1000 mg/kg							++	Nível 2

Quadro 15- Efeitos observados nos estudos experimentais *in vivo* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações de benomil.

Referência	Espécie ou linhagem do animal utilizado	Via/duração da exposição	Concentração testada	Efeitos observados							Avaliação do risco de viés
				<i>Carcinogênico</i>	<i>Mutagênico</i>	<i>Aneuploidia</i>	<i>Poliploidia</i>	<i>MN</i>	<i>SCE</i>	<i>AC</i>	
(MAILHES; AARDEMA, 1992)	Camundongos ICR fêmeas virgens	- Oral (gavagem) - Dose única	500; 1000; 1500; 1750; 2000 mg/kg			+	+				Nível 2
(BÖRZSÖNYI; PINTÉR, 1977)	Camundongo suíço fêmea	- Oral (gavagem) - 2 doses por semana durante 180 dias	600 mg/kg	-							Nível 1

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (±) associação não significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, os grupos expostos ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência dos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) o grupo controle e exposto ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada.

Nota: AC (aberração cromossômica); ChR-CD (Charles River-Caesarean Derived); g (grama); hrs (horas); kg (quilograma); mg (miligrama); MN (micronúcleo); ppm (parte por milhão); SCE (troca de cromátides irmãs).

Fonte: Do autor.

#### 5.2.3.3.4 Avaliação do risco de viés

Os critérios estabelecidos, de qualidade de estudo e risco de viés, foram aplicados para os 37 estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* analisados. Como demonstrado no Quadro 13 e 14, 16 pesquisas foram categorizadas como “nível 1” e 21 como “nível 2”. Os artigos classificados como “nível 1” tiveram relativamente poucos vieses identificados ao longo do estudo, como: não cegamento da equipe de pesquisa quanto ao tipo de tratamento dos grupos; não realização das análises estatísticas; e/ou não randomização dos grupos em relação as doses de tratamento. Além desses vieses, aqueles classificados como “nível 2”, cometeram adicionalmente outros erros sistemáticos, como: não caracterização adequada da exposição; número inadequado de animais/replicatas por grupo; as condições experimentais não eram idênticas entre os grupos de estudo; e/ou o resultado não foi avaliado por métodos adequados.

#### 5.2.3.4 Carbendazim

Os artigos sobre o carbendazim incluídos nesta revisão sistemática forneceram informações sobre todos os efeitos investigados. Como mencionado anteriormente, foram recuperados 24 estudos experimentais *in vitro* sobre genotoxicidade do carbendazim. Em relação as pesquisas experimentais *in vivo*, 29 são sobre os efeitos genotóxicos, 4 relacionados a imunotoxicidade e 3 sobre a carcinogenicidade dessa substância.

##### 5.2.3.4.1 Genotoxicidade

###### 5.2.3.4.1.1 Estudos experimentais *in vitro*

A capacidade do composto carbendazim em causar danos/alterações genéticas, em modelos *in vitro*, foi avaliada em diferentes linhagens celulares e a partir de diversos métodos. No Quadro 15 está sintetizado os principais achados de cada estudo, assim como a classificação deles em relação a avaliação da qualidade e risco de viés.

- Linhagem celular bacteriana

A mutagenicidade do ingrediente ativo carbendazim e de formulações comerciais a base dessa substância foi avaliada em cinco estudos experimentais *in vitro*, que investigaram diferentes cepas bacterianas de *Salmonella typhimurium*, a partir de métodos como: testes de manchas/pontos não sobrepostos; teste de Ames; e ensaio microsomal.

Mesmo que a maioria dos estudos, incluídos nesta seção, não tenham analisados

estatisticamente os seus resultados, o ingrediente ativo, em comparação com as culturas do controle, não apresentou nenhuma atividade mutagênica nas cepas TA100, TA1530, TA1531, TA1532 his D 3052, TA1534, TA1535 e TA1950 de *Salmonella typhimurium* (FICSOR; BORDAS; STEWART, 1978; SARRIF *et al.*, 1994; SEILER, 1972). Em contrapartida, esses pesquisadores observaram que em algumas cepas, da mesma bactéria, o carbendazim foi mutagênico.

Seiler e colaboradores (1976) encontraram um aumento no número de colônias mutantes nas culturas de *S. typhimurium* LT-2, hisG42 e TA1530 tratadas com concentrações de carbendazim não mencionados no artigo, contradizendo o estudo de Ficsor e colaboradores (1978) que demonstraram não haver uma associação entre a exposição a este composto e a ocorrência de mutações na cepa TA1530. Por outro lado, este último estudo encontrou uma atividade mutagênica estatisticamente significativa do carbendazim em *S. typhimurium* his G46 em uma dose de 100 µg/placa.

A mutagenicidade também foi observada em *S. typhimurium* TA98 e TA1537, que são cepas sensíveis a mutagênicos frameshift, ou seja, substâncias que provocam mutações em que o número de pares de bases deletados/inseridos não é divisível por três, resultando na leitura incorreta de toda a sequência de DNA após a mutação. Quando comparado ao controle negativo, o aumento desse efeito só foi observado em concentrações superiores a 5000 µg/placa e na presença da mistura de ativação metabólica (S9) (SARRIF, 1994).

Avaliações com a formulação comercial à base de 50% de carbendazim (Bavistin®) foram realizadas e resultados negativos para a mutagenicidade também foram observados em cepas de *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA102 e TA1535 (ALBERTINI, 1989; PANDITA, 1988). Em contrapartida, no mesmo teste de Ames com S9, o Bavistin® mostrou um aumento no número de seus revertentes positivos nas cepas TA97, TA98, TA1537 e TA1538 quando comparado ao controle negativo, porém nenhuma análise estatística foi realizada (ALBERTINI, 1989).





Quadro 15- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vitro* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Linhagem celular	Concentração testada	Efeitos observados									Avaliação do risco de viés	
			Mutagênico	Aneuploidia	Poliploidia	MN	AC	SCE	Danos ao DNA	Recombinação intragênica	Recombinação intergênica		
(ALBERTINI, 1991)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D61.M	2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 20 µg/mL		•									Nível 2
• <b>Linhagem celular animal</b>													
(FELLOWS <i>et al.</i> , 2011)	Células de linfoma de camundongo L5178Y T K+/-	5; 8; 10; 13; 16 µmol/L	+										Nível 1
(SEELBACH <i>et al.</i> , 1993)	Células de pulmão de hamster chinês (V79)	0,6; 1,9; 6,1; 19,1 µg/mL					•						Nível 1
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	Células de ovário de hamster chinês (CHO) K1	0-0,001 M					++						Nível 1
(DE STOPPELAAR <i>et al.</i> , 2000)	Fibroblastos primários de ratos machos RIV (Tox Wistar)	0,5; 1; 2,5; 5 µg/mL					++						Nível 2
		0,5; 1; 2,5 µg/mL		+									
		1; 2,5; 5; 10; 20 µg/mL			+								
(VIGREUX <i>et al.</i> , 1998)	Células de ovário de hamster chinês	25; 50; 250 µM						+		-			Nível 1
• <b>Linhagem celular humana</b>													
(HUMMELEN; ELHAJOUJI; KIRSCH-VOLDERS, 1995)	Linfócitos de periférico humano	5; 10; 15; 20; 25 µM					++						Nível 1
(VERMA <i>et al.</i> , 2017)	Células linfoblastóides humanas TK6	0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,0; 1,6 µg/mL					+						Nível 2
(VERMA <i>et al.</i> , 2018)	Células linfoblastóides humanas TK6 e MCL-5	0,8; 1,0; 1,6 µg/mL					+						Nível 1

Quadro 15- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vitro* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(conclusão)

Referência	Linhagem celular	Concentração testada	Efeitos observados									Avaliação do risco de viés	
			Mutagênico	Aneuploidia	Poliploidia	MN	AC	SCE	Danos ao DNA	Recombinação intragênica	Recombinação intergênica		
(ELHAJOUJI; CUNHA; KIRSCH-VOLDERS, 1998)	Linfócitos humanos	0,03; 0,05; 0,10; 0,20; 0,30; 0,50; 0,75; 1,00; 1,50; 2,00 µg/mL				++							Nível 1
(ELHAJOUJI; VAN HUMMELEN; KIRSCH-VOLDERS, 1995)	Linfócitos humanos	0-10 µM				++							Nível 1
(DECORDIER <i>et al.</i> , 2009)	Linfócitos humanos	2,5; 5,0; 7,5 µg/mL				●							Nível 2
(PANDITA, 1988)	Linfócitos de periférico humano	1; 5; 10; 20; 40;60 µg/mL						+					Nível 2
(BANDUHN; OBE, 1985)	Linfócitos de periférico humano	0,000001-0,0001 M					-	-					Nível 2
		0,00001-0,0001 M			●								
		0,000005-0,00001 M				●							
(LAMB; LILLY, 1980)	Linfócitos de periférico humano	0,5 mg/mL					-						Nível 1
(BENTLEY <i>et al.</i> , 2000)	Linfócitos humanos	21-5000 ng/mL		++									Nível 1
(LEBAILLY <i>et al.</i> , 1997)	Linfócitos humanos	25; 50; 100; 200; 300; 500 µM							-				Nível 1

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (±) associação não significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, culturas expostas ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência de efeitos, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) as culturas de controle negativo e expostas ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: AC (aberração cromossômica); L (litro); mg (miligrama); mL (mililitro); mM (milimolar); MN (micronúcleo); ng (nanograma); SCE (troca de cromátides irmãs); µg (micrograma); µM (micromolar); µmol (micromol)

Fonte: Do autor.

- Linhagem celular fúngica

Ainda que nenhum estudo tenha realizado análise estatística dos dados encontrados, a genotoxicidade do ingrediente ativo carbendazim e das suas formulações comerciais também foram avaliadas em culturas de *Saccharomyces cerevisiae*. Em comparação com o controle negativo – culturas tratadas com solvente DMSO –, nenhuma atividade mutagênica foi observada em culturas de leveduras tratadas com doses de 10-40 µg/mL de carbendazim (WOOD, 1982) e com 0,01 e 0,04 mM de Bavistin® (ALBERTINI, 1989), que equivale a aproximadamente a concentrações de 1,91 e 7,65 µg/mL, respectivamente. De forma mais específica, Wood (1982) também encontrou resultados negativos em relação a recombinação intragênica, ou seja, o carbendazim não induziu inserções, deleções e/ou duplicações de genes do genoma (BÁNYAI; PITZER, 2016). Em contrapartida, quando comparado ao controle negativo, o mesmo composto provocou um aumento de 5 a 20 vezes na frequência de recombinantes mitóticos intergênicos após o tratamento com carbendazim, isto é, recombinações do trecho de sequências de DNA localizadas entre os genes (WOOD, 1982).

Efeitos poliplóides e aneuplóides também foram observados em culturas de *S. cerevisiae* tratadas com carbendazim ou suas formulações comerciais. Células expostas ao ingrediente ativo por 24 horas tiveram um aumento de 20 vezes na poliploidia quando comparado ao controle não tratado (WOOD, 1982). Ademais, altos níveis de ganho cromossomo mitótico e meiótico (WHITTAKER *et al.*, 1990) e má segregação cromossômica (ALBERTINI, 1991) também foram evidenciados em culturas tratadas com Bavistin®, caracterizando eventos de aneuploidia.

- Linhagem celular animal

Um ensaio *in vitro* com células de linfoma de camundongo L5178Y T K+/- encontrou aumentos estatisticamente significativos na frequência mutante (MF) em culturas tratadas com 13 µmol/L (318-430 x 10<sup>-6</sup> MF) e 16 µmol/L (568 x 10<sup>-6</sup> MF) de carbendazim. Contudo, tal efeito só foi observado em concentrações consideradas altamente tóxicas, onde o crescimento total relativo da cultura foi inferior a 17% (FELLOWS *et al.*, 2011).

Assim como os outros compostos benzimidazóis, pesquisas disponíveis demonstraram haver uma relação entre a exposição ao carbendazim, mesmo em baixas concentrações, e o aumento na frequência de micronúcleos em células de animais (espécies de hamster e ratos). Dois estudos apresentaram uma diferença estatisticamente significativa e dose-dependente na frequência do micronúcleo entre as células controle e tratadas com carbendazim (DE STOPPELAAR *et al.*, 2000; ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013). Stoppelaar e

colaboradores (2000) evidenciou que havia intervalos de concentração em que as células mostravam uma porcentagem de linha de base de MNs que não se alterava com os aumentos nas concentrações, até que um determinado limite de concentração fosse atendido (0,00000181 M).

Ainda que Seelbach e colaboradores (1993) não tenham analisado estatisticamente os dados, os autores observaram que 88% das células micronucleadas eram cinetocoros positivos, sugerindo que os micronúcleos induzidos *in vitro* por carbendazim são causados por um mecanismo aneugênico, assim como o benomil.

Em células de ovário de hamster chinês tratadas com carbendazim (25; 50; 250  $\mu$ M), Vigreux (1998) e colaboradores não detectaram, a partir do ensaio cometa, nenhum aumento estatisticamente significativo de danos ao DNA. Embora aberrações cromossômicas estruturais também não tenham sido observadas, os autores notaram um aumento estatisticamente significativo na frequência de aberrações cromossômicas numéricas em todas as concentrações testadas, em comparação ao controle negativo (VIGREUX *et al.*, 1998), concordando com os resultados positivos para aneuploidia encontrados em outros estudos.

É necessário destacar que a aneuploidia e a poliploidia também foram evidenciadas após a exposição ao carbendazim. Um estudo realizado com fibroblastos primários de ratos machos RIV destacou a ocorrência de eventos aneuplóides, como um aumento estatisticamente significativo na frequência de perda de cromossomo em culturas tratadas com 1 e 2,5  $\mu$ g/mL do ingrediente ativo. Embora a frequência de quebras cromossômicas tenha sido aumentada na cultura tratada com 2,5  $\mu$ g/mL de carbendazim, não houve diferença estatisticamente significativa quando confrontado com controle negativo. Essa mesma pesquisa evidenciou que a citocalasina B interferia na indução de poliploidia, levando a uma redução na frequência de células poliplóides tratadas com 2,5  $\mu$ g/mL de carbendazim (0,3%), quando comparado ao controle negativo (4,5%). Ao retirar essa substância da metodologia, observou-se um aumento estatisticamente significativo de células poliplóides em culturas tratadas com a mesma concentração do ingrediente ativo. A maior frequência (40-50%) foi alcançada na concentração de 20  $\mu$ g/mL de carbendazim (DE STOPPELAAR *et al.*, 2000).

- Linhagem celular humana

De modo final, a genotoxicidade também foi investigada em células humanas, como linfócitos e linfoblastóides. A maioria das evidências publicadas estão em conformidade com os outros estudos apresentados anteriormente. Nenhum dano ao DNA foi detectado em culturas expostas por 24 horas a concentrações crescentes de carbendazim (25-500  $\mu$ M) (LEBAILLY *et*

*al.*, 1997). Entretanto, apesar de ter sido constatado aberrações cromossômicas em células de ovário de hamster chinês (VIGREUX *et al.*, 1998), em cultura de linfócitos humanos de sangue periférico as baixas concentrações de carbendazim testadas (aproximadamente 0,000019-0,5 mg/mL) não induziram aumento na frequência de aberrações cromossômicas (BANDUHN; OBE, 1985; LAMB; LILLY, 1980).

Bentley e colaboradores (2000) observaram que, em intervalos de baixas concentrações, as células mostravam uma linha de base de eventos aneuplóides que não se alterava, até que um determinado limite de concentração fosse atendido. Após o alcance da concentração limite (1000 ng/mL), houve aumentos estatisticamente significativos, e dependente da dose, na aneuploidia, principalmente relacionados a frequência de não disjunção cromossômica. Embora análises estatísticas não tenham sido realizadas, houve um aumento na frequência de células poliplóides – principalmente tetraplóide e octoplóide – em culturas de linfócitos humanos tratadas com baixas concentrações de carbendazim (0,00001-0,0001 M), quando comparado ao controle negativo (BANDUHN; OBE, 1985).

Assim como em outros tipos de organismos, o carbendazim induziu, mesmo em baixas concentrações, a formação de micronúcleos em culturas de células humanas. A maioria dos estudos apresentaram uma diferença estatisticamente significativa na frequência do micronúcleo entre os linfócitos controle e aqueles tratados com este composto, de forma dependente da concentração (ELHAJOUJI; CUNHA; KIRSCH-VOLDERS, 1998; ELHAJOUJI; VAN HUMMELEN; KIRSCH-VOLDERS, 1995; HUMMELEN; ELHAJOUJI; KIRSCH-VOLDERS, 1995). Ainda que os dados não tenham sido analisados estatisticamente, comparando com as culturas não tratadas, as células expostas ao carbendazim apresentaram uma maior frequência de células micronucleadas (BANDUHN; OBE, 1985; DECORDER *et al.*, 2009).

Por fim, embora a exposição ao ingrediente ativo carbendazim não tenha induzido a troca de cromátides irmãs (BANDUHN; OBE, 1985), a formulação comercial Bavistin<sup>®</sup> provocou este efeito. O fungicida afetou a frequência de troca da cromátide irmã na concentração de 20 µg/mL e um aumento estatisticamente significativo nas doses de 30 e 40 µg/mL, quando comparado ao controle negativo (PANDITA, 1988).

#### 5.2.3.4.1.2 Estudos experimentais *in vivo*

Os possíveis efeitos genotóxicos, provocados pela exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim, também foram avaliados em modelos experimentais *in*

*vivo*, com vegetais, animais mamíferos e não mamíferos (Quadro 16).

- Vegetais

Em experimentos *in vivo* com *Hordeum vulgare L*, a exposição ao ingrediente ativo carbendazim provocou aumentos estatisticamente significativos na frequência de aberrações cromossômicas estruturais, quando comparado ao controle negativo (SINGH; SRIVASTAVA; SINGH, 2008). Diferenças estatisticamente significativas e dependentes da dose também foram observadas em modelos com *Allium cepa*, *Allium sativum* e *Vicia faba* tratadas com formulações comerciais a base de carbendazim: Bavistin® (SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983) e Kvistin® (KUCHY; WANI; KAMILI, 2016).

Em adição, relatou-se um aumento progressivo na porcentagem de células micronucleadas, de maneira dependente da dose de Kvistin® e da duração do tratamento. No grupo exposto por 24 horas, a frequência de células micronucleadas variou de 0,32% (250 ppm) até 0,68% (1000 ppm), enquanto após 48 horas de exposição, a frequência de micronúcleos observados foi entre 0,42% (250 ppm) e 0,87% (1000 ppm) (KUCHY; WANI; KAMILI, 2016).

- Animais não mamíferos

A relação entre a exposição ao carbendazim e a indução de aberrações cromossômicas e micronúcleos, assim como danos ao DNA, também foram bem descritos em modelos experimentais *in vivo* com animais não mamíferos, entres eles: crustáceos, minhocas, peixes e aves.

Após uma exposição de 24 horas (SILVA *et al.*, 2015) e de 21 dias (SILVA *et al.*, 2017) ao carbendazim, foi observado um aumento significativo de danos ao DNA em *Daphnia magna* K6, entretanto a recuperação do dano não pareceu ocorrer, tendo em vista que nenhuma diminuição no dano ao DNA foi observada após uma exposição de 13 dias da espécie ao meio limpo (SILVA *et al.*, 2015). Uma relação dose-resposta significativa de danos ao DNA foi observada em *Donax faba* (JANAKIDEVI *et al.*, 2013) e *Eisenia foetida* (HUAN *et al.*, 2016) após a exposição por 96 horas e 7-21 dias, respectivamente.

A genotoxicidade do ingrediente ativo também foi investigada em peixes e aves. Espécies de *Chanos chanos* (PALANIKUMAR *et al.*, 2013) e ovos de galinha Leghorn branca (GREYWE *et al.*, 2012) ao serem expostos ao carbendazim apresentaram um aumento estatisticamente significativo e dose-dependente de células micronucleadas – 6,0-24,33% e 0,3-6,1%, respectivamente –, quando comparado ao grupo controle.

Dixon e colaboradores (1999), ao expor a espécie *Pomatoceros lamarckii* a baixas

concentrações de carbendazim, que variaram de 0,00000001-0,0000033 M (o equivalente a aproximadamente 0,0019-0,6309 µg/mL), observaram aberrações cromossômicas estruturais na maior dose testada, como pontes cromossômicas e fragmentos acêntricos.

- Animais mamíferos

A relação observada entre a exposição ao carbendazim e ocorrência de danos ao DNA em espécies de organismos vivos listados anteriormente, também esteve presente em animais mamíferos. A partir do ensaio cometa, notou-se que a exposição ao ingrediente ativo provocou um aumento estatisticamente significativo de danos ao DNA em células de camundongos e ratos, quando comparado ao grupo controle negativo (ARANHA *et al.*, 2021; ĐIKIĆ *et al.*, 2012; HASHEM; MOHAMED; ATTIA, 2018; RAI; MERCURIO, 2020). Após um período de recuperação de 45 dias, esses efeitos demonstraram ser persistentes em camundongos machos expostos a baixas concentrações de carbendazim (20 µM) por 90 dias, através da via oral (alimentar) (RAI; MERCURIO, 2020). Em contrapartida, 15 dias após a cessação do fungicida, ratas fêmeas que foram expostas por 14 dias ao composto, apresentaram reparo nos danos ao DNA (HASHEM; MOHAMED; ATTIA, 2018).

As maiores doses de carbendazim testadas (1000; 1500; 2000 mg/kg/dia) também danificaram as moléculas de DNA de ratos machos, todavia foi acompanhado por um aumento na toxicidade não observado em doses mais baixas, e, portanto, foram interpretados com cautela, podendo estar relacionados à citotoxicidade da concentração da substância (BOWEN *et al.*, 2011).

Embora duas pesquisas, ausente de análise estatística dos resultados, relataram não haver diferença na frequência de micronúcleo entre o grupo tratado e controle (DE STOPPELAAR *et al.*, 2000; SEILER, 1976), a maioria dos estudos incluídos nesta revisão notaram um aumento no número de células micronucleadas estatisticamente significativo (BARALE *et al.*, 1993; COFFING *et al.*, 2011; HASHEM; MOHAMED; ATTIA, 2018; MATSUO; NAKAI; NASU, 1999; SARRIF *et al.*, 1994; VANHAUWAERT; VANPARYS; KIRSCH-VOLDERS, 2001) e relacionado a dose (BOWEN *et al.*, 2011; DE STOPPELAAR *et al.*, 2000; IGARASHI *et al.*, 2007; ITOH *et al.*, 2015; ITOH; HATTORI; NAGATA; SANBUISHO, 2012; ITOH; HATTORI; NAGATA; TAKASAKI, 2012) em animais mamíferos expostos ao carbendazim. Duas pesquisas, embora não tenham analisado estatisticamente os resultados, relataram não haver diferença na frequência de micronúcleo entre o grupo tratado e controle (DE STOPPELAAR *et al.*, 1999; SEILER, 1976).

Assim como em outros estudos, Sarrif e colaboradores demonstraram que a maioria das



células micronucleadas induzidas por carbendazim foram cinetocoros positivos (87%), sugerindo, assim como o benomil, a ação aneugênica dessa substância. Além disso, a formulação comercial Bavistin<sup>®</sup> também induziu um aumento estatisticamente significativo e dose-dependente da frequência de micronúcleos (PANDITA, 1988).

Outros efeitos genotóxicos provocados pelo carbendazim também foram relatados. Este composto induziu um aumento significativo no número de aberrações cromossômicas estruturais (BARALE *et al.*, 1993; HASHEM; MOHAMED; ATTIA, 2018) e numéricas (HASHEM; MOHAMED; ATTIA, 2018). Quando comparado ao controle negativo, nos animais tratados com 1000 mg/kg de carbendazim encontrou-se uma maior frequência de aberrações na mitose, como: metáfase com material de cromatina externa; anáfase com material de cromatina retardado; anáfase com ponte; anáfase tripolar e distribuição desigual de cromatina na anáfase; demonstrando a ação inibitória do carbendazim no aparelho do fuso (SEILER, 1976).

Aneuploidia e poliploidia foram dois efeitos cujo resultados se apresentaram de maneira contraditória. Enquanto Barale (1993) e Stoppelaar (2000) e colaboradores observaram um aumento estatisticamente significativo e relacionado a dose, respectivamente, no número de células hiperplóides, efeitos negativos para este efeito foi observado em estudos desenvolvido por Stoppelaar (1999) e Sheu (1990) e colaboradores.

Em relação a indução de poliploidia, o grupo tratado apresentou maior frequência quando comparado ao grupo controle negativo (DE STOPPELAAR *et al.*, 1999), sendo essa diferença estatisticamente significativo no estudo de Barale e colaboradores (1993). Em contrapartida, um estudo realizado com ratos Wistar machos expostos, intraperitonealmente com uma dose única do composto (2,5; 5; 10 mg/bolsa), constou uma redução significativa nas frequências de células poliplóides binucleadas e mononucleadas nos animais tratados (DE STOPPELAAR *et al.*, 2000).

Quadro 17- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vivo* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Espécie ou linhagem do animal utilizado	Via/duração da exposição	Concentração testada	Efeitos observados							Avaliação do risco de viés
				Carcinogênico	Dano ao DNA	Aneuploidia	Poliploidia	MN	AC	Aberração na mitose	
• Experimentos <i>in vivo</i> com vegetais											
(SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983)	- <i>Allium cepa</i> ; - <i>Allium sativum</i> ; - <i>Vicia faba</i> .	- Sistemática - Vegetal exposto por 2 hrs	250; 500; 1000 ppm						++		Nível 2
(KUCHY; WANI; KAMILI, 2016)	<i>Allium cepa</i>	- Sistemática - Vegetal exposto por 24 e 48 hrs	250; 500; 1000 ppm					++	++		Nível 2
(SINGH; SRIVASTAVA; SINGH, 2008)	<i>Hordeum vulgare L</i>	- Sistemática - Vegetal exposto por 6 hrs	0,05; 0,1; 0,5 %						+		Nível 1
• Experimentos <i>in vivo</i> com animais não mamíferos											
(SILVA <i>et al.</i> , 2017)	Crustáceo <i>Daphnia magna</i> K6 (geração F0, F6, F9 e F12)	- Sistemática - Duração não mencionada	5 µg/mL		+						Nível 1
(SILVA <i>et al.</i> , 2015)	Crustáceo <i>Daphnia magna</i> K6	- Sistemática - Exposição por 24 hrs	5; 20; 25 µg/L		+						Nível 1
(JANAKIDEVI <i>et al.</i> , 2013)	Bivalves <i>Donax faba</i>	- Sistemática - Exposição por 96 hrs	2,65; 105,32; 210,65; 421,3; 842,6 µg/L		++						Nível 1
(HUAN <i>et al.</i> , 2016)	<i>Eisenia foetida</i> adultas	- Sistemática - Exposição por 7, 14 e 21 dias	0,4; 1,2; 3,6 mg/kg de solo seco		++						Nível 1
(PALANIKUMAR <i>et al.</i> , 2013)	Peixe teleosteo <i>Chanos chanos</i>	- Sistemática - Exposição por 96 hrs (meio renovado a cada 24 hrs)	2,85; 5,45; 10,97; 20,17; 45,31 µg/L					++			Nível 1
(GREYWE <i>et al.</i> , 2012)	Ovos de galinha Leghorn branca (cepa Lohmann)	- Sistemática - Dose única	0,1; 1,0; 10; 20 mg/ovo					+			Nível 2
			0,01; 0,1; 1,0; 10 mg/ovo				++				

Quadro 16- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vivo* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Espécie ou linhagem do animal utilizado	Via/duração da exposição	Concentração testada	Efeitos observados							Avaliação do risco de viés
				Carcinogênico	Dano ao DNA	Aneuploidia	Poliploidia	MN	AC	Aberração na mitose	
(DIXON <i>et al.</i> , 1999)	Minhoca <i>Pomatoceros lamarckii</i>	- Sistemática - Exposição por 3 hrs	0,00000001; 0,0000001; 0,000001; 0,0000033 M						+		Nível 2
• Experimentos <i>in vivo</i> com animais mamíferos											
(ARANHA <i>et al.</i> , 2021)	Ratos Wistar machos	- Oral (gavagem) - Dose única	50 mg/kg		+						Nível 2
(ĐIKIĆ <i>et al.</i> , 2012)	Camundongos suíços	- Oral (gavagem) - Dose diária por 28 dias	20 mg/kg		+						Nível 2
(RAI; MERCURIO, 2020)	Camundongos Swiss Webster machos	- Oral (alimentar) - Exposição diária por 90 dias	20 µM		+						Nível 2
(BOWEN <i>et al.</i> , 2011)	Ratos machos Han-Wistar ou Sprague-Dawley	- Oral (gavagem) - 3 doses com intervalo de 24 hrs	1000; 1500; 2000 mg/kg/dia		-			++			Nível 2
(HASHIM; MOHAMED; ATTIA, 2018)	Ratas Sprague-Dawley fêmeas adultas	- Oral (gavagem) - Dose diária por 14 dias	200 mg/kg/dia		+			+	+		Nível 2
(VANHAUWAERT; VANPARYS; KIRSCH-VOLDERS, 2001)	Camundongos albinos Swiss SPF (CD1)	- Oral (gavagem) - Dose única	500; 1000 mg/kg					+			Nível 1
(SEILER, 1976)	Ratos ICR	- Intraperitoneal - 2 doses com intervalo de 24 hrs	500 mg/kg					○			Nível 2
		- Oral (gavagem) - 2 doses com intervalo de 24 hrs	50; 100; 500; 1000 mg/kg 1000 mg/kg.					●		●	
(SARRIF <i>et al.</i> , 1994)	Camundongos machos e fêmeas B6D2F1	- Oral (gavagem) - Dose única	6; 1646; 3293 mg/kg					+			Nível 1

Quadro 16- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vivo* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Espécie ou linhagem do animal utilizado	Via/duração da exposição	Concentração testada	Efeitos observados						Avaliação do risco de viés	
				Carcinogênico	Dano ao DNA	Aneuploidia	Poliploidia	MN	AC		Aberração na mitose
(PANDITA, 1988)	Ratos albinos suíços	- Intraperitoneal - 2 doses com intervalo de 24 hrs	100; 500; 1000; 2000; 3000 mg/kg					++			Nível 1
(COFFING <i>et al.</i> , 2011)	Ratos Sprague Dawley	- Oral (gavagem) - 2 doses com intervalo de 24 hrs	500; 1000; 2.000 mg/kg					+			Nível 2
(IGARASHI <i>et al.</i> , 2007)	Ratos consanguíneos ddY machos	- Oral (gavagem) - Dose única	125; 250; 500; 1000 mg/kg					++			Nível 2
(ITOH; HATTORI; NAGATA; SANBUISHO, 2012)	Ratos F344/DuCrj machos	- Oral (gavagem) - Dose única	62,5; 125; 250 mg/kg					++			Nível 2
(ITOH; HATTORI; NAGATA; TAKASAKI, 2012)	Ratos F344/DuCrj machos e fêmeas	- Oral (gavagem) - Dose única	62,5; 125 mg/kg					++			Nível 2
(ITOH <i>et al.</i> , 2015)	Ratos F344/DuCrj machos	- Oral (gavagem) - Dose única	62,5; 125; 250 mg/kg					++			Nível 2
(MATSUO; NAKAI; NASU, 1999)	Ratos machos Sprague-Dawley	- Oral (gavagem) - Dose única	50; 100; 400 mg/kg					+			Nível 2
(DE STOPPELAAR <i>et al.</i> , 2000)	Ratos Wistar machos	- Intraperitoneal - Dose única	2,5; 5; 10 mg/bolsa			++	-	++			Nível 2
(BARALE <i>et al.</i> , 1993)	Camundongos albinos suíços machos	- Oral (gavagem) - Dose única	0,5 g/kg			+	+	+	+		Nível 1
(DE STOPPELAAR <i>et al.</i> , 1999)	Ratos machos Wistar Unilever	- Oral (gavagem) - Dose única	50, 150, 450 ou 800 mg/kg			○	●	○			Nível 2
			2,5; 5; 10; 20; 30; 40; 50; 100; 150; 450; 800 mg/kg			○	●	○			

Quadro 16- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vivo* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

Referência	Espécie ou linhagem do animal utilizado	Via/duração da exposição	Concentração testada	Efeitos observados						Avaliação do risco de viés	
				Carcinogênico	Dano ao DNA	Aneuploidia	Poliploidia	MN	AC		Aberração na mitose
(SHEU <i>et al.</i> , 1990)	Hamsters chineses machos de raça aleatória	- Intraperitoneal - Dose única	100; 500; 1000 mg/kg			-					Nível 2
(BÖRZSÖNYI <i>et al.</i> , 1976)	Camundongo suíço fêmea grávida	- Oral (gavagem) - Exposição semanal (gravidez)	2500 mg/kg	○							Nível 1
(BÖRZSÖNYI; CSIK, 1975)	Camundongo suíço fêmea grávida	- Oral (gavagem) - Exposição semanal (gravidez)	500 mg/kg	○							Nível 1
(BÖRZSÖNYI; PINTÉR, 1977)	Camundongo suíço fêmea	- Oral (gavagem) - 2 doses por semana (gravidez)	600 mg/kg	○							Nível 1

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, os grupos expostos ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência dos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) o grupo controle e exposto ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada. Nota: AC (aberração cromossômica); g (grama); hrs (horas); kg (quilograma); L (litro); M (molar); mg (miligrama); mL (mililitro); MN (micronúcleo); ppm (parte por milhão); µg (micrograma); µM (micromolar). Fonte: Do autor.

#### **5.2.3.4.2 Imunotoxicidade**

Em relação à capacidade imunotóxica do carbendazim, apenas quatro estudos experimentais *in vivo* foram identificados e incluídos nesta revisão sistemática. Nenhuma pesquisa acerca das formulações comerciais a base desse ingrediente ativo foi detectada. Hashem e colaboradores (2018) relataram uma redução nos níveis de neutrófilos, mas em contrapartida, os níveis de leucócitos, linfócitos e eosinófilos – importantes células de defesa dos organismos vivos – foram elevados após a exposição de ratas fêmeas ao carbendazim.

Embora a exposição a alta concentração desse composto (200 ppm) tenha provocado uma redução estatisticamente significativa na proliferação de linfócitos B, imunoglobulina M, imunoglobulina A e imunoglobulina G (SINGHAL *et al.*, 2003) e no nível de transcrição de CCL1, interleucina 1b e fator de necrose tumoral alfa (JIANG *et al.*, 2014) – células e anticorpos responsáveis pela resposta imune –, outros estudos observaram que o carbendazim não diminuiu a resposta imunológica de um organismo, pelo contrário, o contato com essa substância aumentou a expressão de proteínas e polipeptídeos relevantes para a imunidade, como: interleucina 1b, quimiocina CXCL-C1C e quimiona CCL-1 (JIANG *et al.*, 2015). Os achados se opõem e, portanto, devem ser interpretados com cautela.

#### **5.2.3.4.3 Carcinogenicidade**

A capacidade do carbendazim em induzir casos de câncer também só foi investigada em modelos experimentais *in vivo* com o ingrediente ativo. Totalizando, três artigos foram identificados e nenhum deles realizaram análises estatísticas durante o estudo. Portanto, comparando com grupo controle não tratado com o composto, nenhum tumor foi encontrado na prole dos animais tratados intragastricamente com doses de 500 (BÖRZSÖNYI *et al.*, 1976) e 2500 mg/kg (BÖRZSÖNYI; PINTÉR, 1977) de carbendazim, durante a gravidez (cerca de 20 dias). Adicionalmente, animais expostos a 600 mg/kg do ingrediente ativo por 180 dias também não manifestaram nenhum câncer (BÖRZSÖNYI; CSIK, 1975). Perante o desfecho investigado (câncer), salienta-se que o tempo de exposição foi curto, tendo em vista os períodos de curto e médio prazo analisados (20-180 dias), que não permitem, com confiabilidade, a manifestação da patologia.

#### **5.2.3.4.4 Avaliação do risco de viés**

Os critérios estabelecidos foram aplicados para os 59 estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* analisados. Como demonstrado no Quadro 15 e 16, 31 pesquisas foram categorizadas como “nível 1” e 28 como “nível 2”. O principal erro sistemático identificado nos estudos

experimentais *in vitro* foi a inadequação do número de repetições por grupo de estudo, um critério considerado como chave na avaliação de qualidade de estudo e risco de viés, sendo classificados, portanto, como “nível 2”. Vieses nos critérios chaves também foram observados nos estudos experimentais *in vivo* categorizados no “nível 2”, como: caracterização inadequada da exposição; número inadequado de animais por grupo. Adicionalmente, outros erros sistemáticos foram identificados nos estudos, principalmente aqueles relacionados aos métodos estatísticos utilizados/não utilizados, não cegamento da equipe de pesquisa quanto ao tipo de tratamento dos grupos e não randomização dos grupos em relação as doses de tratamento.

#### 5.2.3.5 *Fembendazol*

Em relação ao composto fembendazol, também pertencente a classe benzimidazol, apenas um único estudo experimental *in vitro* foi incluído nesta revisão sistemática, a partir dos critérios de inclusão/exclusão.

##### 5.2.3.5.1 *Genotoxicidade*

A pesquisa desenvolvida por Goin e Mayer (1995) determinou a capacidade do fembendazol (5,0; 17,5; 20,0; 22,5; 25,0 µg/mL) em induzir a perda cromossômica em culturas de *Saccharomyces cerevisiae*, após 18 horas de exposição.

Ainda que aparentemente nenhuma análise estatística tenha sido aplicada nos dados encontrados, os pesquisadores destacaram que, em comparação com as culturas não tratadas (inferior a 1 por 10<sup>6</sup> CFU), as culturas expostas ao carbendazim apresentaram maiores frequências de perda cromossômica a partir da dose ativa mais baixa (17,5 µg/mL= 13 por 10<sup>6</sup> CFU), atingindo o máximo na maior dose testada (25,0 µg/mL= 275 por 10<sup>6</sup> CFU), demonstrando, assim como os outros compostos da classe benzimidazol, a capacidade do fembendazol em provocar aneuploidia (GOIN; MAYER, 1995).

##### 5.2.3.5.2 *Avaliação do risco de viés*

Após a avaliação da qualidade do estudo, a pesquisa desenvolvida por Goin e Mayer (1995) foi classificada como “nível 2”, devido aos prováveis alto risco de vieses identificados, tendo em vista que informações relevantes não foram mencionadas, como: número de repetições por grupo de estudo; cegamento dos pesquisadores para o grupo teste; métodos estatísticos utilizados (há evidências indiretas que nenhuma análise foi realizada).

#### 5.2.3.6 *Flubendazol*

Após a extensa busca, encontrou-se três estudos experimentais *in vitro* e um estudo

experimental *in vivo*, que avaliaram, após a exposição ao ingrediente ativo flubendazol, efeitos genotóxicos, como: alterações no material genético, micronúcleos, aberrações cromossômicas e poliploidia.

#### **5.2.3.6.1 Genotoxicidade**

##### 5.2.3.6.1.1 Estudos experimentais *in vitro*

As três pesquisas realizadas com flubendazol, a partir de modelos *in vitro*, tiveram resultados positivos em relação a genotoxicidade do composto nas linhagens celulares avaliadas. Em células de ovário de hamster chinês, após uma exposição por 24 horas a diluições seriadas (0-0,001 M) de flubendazol, observou um aumento, dependente da concentração e estatisticamente significativo, na formação de micronúcleos, a partir de um limite de concentração (0,0000000922 M) (ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013).

Tweats e colaboradores (2016) também encontraram uma relação entre a exposição a este composto e o aumento da frequência de micronúcleos. Após uma curta exposição (3 horas) a este composto, aumentos estatisticamente significativos de linfócitos binucleados micronucleados (MNBN) foram observados em doses de flubendazol superiores a 5,0 µg/mL (sem ativação metabólica S9) e superiores 14,0 µg/mL (com ativação metabólica S9). É importante destacar que culturas sem S9 apresentaram maiores frequências de micronúcleo do aquelas com S9, o que sugere que os metabólitos do flubendazol formados pelo fígado de rato S9 podem ser menos tóxicos do que a molécula original.

Exposições a um período maior (24 horas) também induziram aumentos estatisticamente significativos na frequência de micronúcleos a partir de baixas concentrações de flubendazol (0,25 µg/mL). Assim como nas outras substâncias da classe benzimidazol, a maior parte dos micronúcleos induzidos foram centrômeros positivos (80-88%), indicando que o flubendazol é um agente aneugênico (TWEATS *et al.*, 2016).

Poliploidia também foi observada em fibroblastos de pulmões de hamsters chineses recém-nascidos tratados com diferentes concentrações de flubendazol. Após 24 e 48 horas de exposição, a frequência de poliploidia atingiu 75% e 96% na dose de 0,78 µg/mL, sendo estatisticamente significativa e dose-dependente, em comparação com 0% de células poliplóides em controles tratados com solvente. Com ativação metabólica S9 nenhuma poliploidia foi induzida, assim como aberrações cromossômicas estruturais – na ausência ou presença da mistura S9 (HUANG *et al.*, 1994).



#### 5.2.3.6.1.2 Estudos experimentais *in vivo*

O único estudo experimental *in vivo* que analisou a formação de micronúcleos em ratas fêmeas Han Wistar jovens expostas por 48 horas, através da via oral (gavagem), ao flubendazol (65; 130; 400 mg/kg), encontrou um aumento estatisticamente significativo na frequência de micronúcleos em todas as doses (variando de 1,35-2,31%), quando comparado ao controle (0,21%), concordando com os dados dos estudos experimentais *in vitro* (TWEATS *et al.*, 2016).

#### 5.2.3.6.1 Avaliação do risco de viés

Após a aplicação de todos os critérios estabelecidos para a avaliação da qualidade do estudo e risco de viés, as pesquisas sobre o composto flubendazol, mencionadas anteriormente foram classificadas como “nível 1” (ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013; TWEATS *et al.*, 2016) e “nível 2” (HUANG *et al.*, 1994; TWEATS *et al.*, 2016). Essa categorização foi resultado de alguns erros sistemáticos introduzidos ao longo dos estudos, como: número inadequado de replicatas; não cegamento dos pesquisadores; e a não randomização da dose administrada entre os animais.

#### 5.2.3.7 Fuberidazol

No que diz respeito ao fuberidazol, apenas uma única investigação experimental *in vivo* acerca da genotoxicidade foi rastreada e analisada.

#### 5.2.3.7.1 Genotoxicidade

Sahu e colaboradores (1983) ao avaliar *Allium cepa*, *Allium sativum* e *Vicia faba*. expostas, em sistemas experimentais *in vivo*, a altas concentrações (250; 500; 1000 ppm) de Veronit® – formulação comercial a base do ingrediente ativo fuberidazol – não encontraram nenhuma diferença estatisticamente significativa na frequência de aberrações cromossômicas estruturais (lacunas, trocas e quebras cromossômicas) quando comparado ao controle negativo (organismos não tratados com Veronit®).

#### 5.2.3.7.2 Avaliação do risco de viés

Após a avaliação da qualidade do estudo, a pesquisa desenvolvida por Sahu e colaboradores (1983) foi classificada como “nível 2”, devido aos prováveis alto risco de erros sistemáticos identificados, tendo em vista que informações relevantes não foram mencionadas, como: número de repetições por grupo de estudo e cegamento dos pesquisadores para o grupo teste. Além disso, alguns resultados medidos não foram relatados e, portanto, não puderam ser

analisados ao longo desta revisão sistemática, introduzindo mais um viés na pesquisa.

#### 5.2.3.8 *Mebendazol*

Os artigos científicos sobre o ingrediente ativo mebendazol e suas formulações comerciais incluídos nesta revisão sistemática forneceram informações apenas sobre a genotoxicidade desse composto. Como mencionado anteriormente, foram recuperados nove estudos experimentais *in vitro* e três pesquisas experimentais *in vivo*.

##### 5.2.3.8.1 *Genotoxicidade*

###### 5.2.3.8.1.1 Estudos experimentais *in vitro*

A capacidade do composto mebendazol em causar danos/alterações genéticas, em modelos *in vitro*, foi avaliada em diferentes linhagens celulares e a partir de diversos métodos. No Quadro 17 está sintetizado os principais achados de cada estudo, assim como a classificação deles em relação a avaliação da qualidade e risco de viés.

- Linhagem celular bacteriana

A mutagenicidade da formulação comercial a base de mebendazol (Vermox<sup>®</sup>) foi avaliada em um estudo realizada por Paulíková e Dobiás (1981). Embora nenhuma análise estatística tenha sido empregada, após avaliar cepas de *Salmonella typhimurium* (TA100, TA98, TA1535 e TA1538) expostas a diferentes concentrações de Vermox<sup>®</sup> (62,5; 125; 250; 500; 1000 µg/placa), os pesquisadores não evidenciaram mutagenicidade do composto em bactéria, com ou sem ativação metabólica pela fração microssomal S9.

- Linhagem celular fúngica

Ainda que os dados não tenham sido interpretados de forma estatística, em cultura de *Saccharomyces cerevisiae* D61.M, o ingrediente ativo mebendazol, após 18 horas de exposição, induziu um aumento na frequência de perda cromossômica a partir da concentração de 10 µg/mL (16 por 10<sup>6</sup> CFU), quando comparado ao controle negativo (1 por 10<sup>6</sup> CFU), atingindo uma maior frequência de indução na dose de 17,5 µg/mL (152 por 10<sup>6</sup> CFU) (GOIN; MAYER, 1995). Em contrapartida, na cepa haplóide de *Aspergillus nidulans* concentrações inferiores do composto (0,1; 2,5 µg/mL) não foram capazes de induzir perdas cromossômicas (DE LA TORRE *et al.*, 1994).

De la Torre e colaboradores (1994) demonstraram que a exposição ao mebendazol (0,50; 1,00; 2,50 µg/mL) induziu um aumento estatisticamente significativo na frequência de

segregação mitótica (crossing-over mitótico e não disjunção cromossômica) na cepa diplóide D30 de *Aspergillus nidulans*, indicando um claro efeito genotóxico. Assim como em culturas de bactérias, os pesquisadores não encontraram nenhuma atividade mutagênica do composto.

- Linhagem celular animal

Em células de ovário de hamster chinês, baixas concentrações de mebendazol (0,05; 0,1; 0,2; 0,5 µg/mL) provocaram um aumento significativo na frequência de aberrações cromossômicas estruturais, principalmente formação de ponte, lacuna e quebra cromossômica, após uma exposição de 32 horas (MUDRY *et al.*, 1990). Na mesma linhagem celular, Ermler e colaboradores (2013) observaram que o ingrediente ativo mebendazol induziu a formação de micronúcleos de forma dependente da concentração a partir da concentração limite de 0,000000112 M, que equivale a aproximadamente a 0,0331 µg/mL.

- Linhagem celular humana

Diferentemente do que foi relatado anteriormente, em culturas de linfócitos humanos não houve diferenças significativas na frequência de aberrações cromossômicas entre as culturas de controle e as culturas tratadas com mebendazol (5; 10; 20 µg/mL) (ANTUNES; TAKAHASHI, 1994).

Em contrapartida, uma clara relação entre a exposição ao ingrediente ativo e formação de micronúcleo foi estabelecida pelos três estudos selecionados, evidenciando a ação genotóxica do composto por este mecanismo. Cultura de linfócitos humanos expostas a diferentes concentrações do mebendazol apresentaram um aumento estatisticamente significativo e dependente da concentração na ocorrência de micronúcleos (ELHAJOUJI; VAN HUMMELEN; KIRSCH-VOLDERS, 1995; HUMMELEN; ELHAJOUJI; KIRSCH-VOLDERS, 1995), atingindo frequências superiores a do controle negativo em cerca de 150-300% (ELHAJOUJI; CUNHA; KIRSCH-VOLDERS, 1998).

#### 5.2.3.8.1.2 Estudos experimentais *in vivo*

Assim como no sistema *in vitro* com linfócitos humanos citado anteriormente, o mebendazol também não induziu nenhuma diferença estatística em relação ao número de aberrações cromossômicas em ratos Wistar expostos pela via oral a altas concentrações do ingrediente ativo (1300; 1750; 3500; 7000 mg/kg) (ANTUNES; TAKAHASHI, 1994).

A capacidade do mebendazol em induzir micronúcleos também foi confirmada em

modelos experimentais *in vivo*. Mudry e colaboradores (1990) observaram um aumento estatisticamente significativo na frequência de micronúcleos em camundongos CFW tratados intraperitonealmente com 25 (17,4%) e 50 mg/kg (17,9%) de mebendazol, quando comparado ao controle negativo (7,9%).

#### **5.2.3.8.2 Avaliação do risco de viés**

Dos nove estudos experimentais *in vitro*, quatro foram definidos como “nível 1” e cinco como “nível 2”. Aqueles categorizados como “nível 1” tiveram todos os critérios classificados como definitivamente ou provavelmente baixo risco de viés, com exceção do cegamento do grupo teste, tendo em vista que há evidências indiretas ou não há informações suficientes de que os pesquisadores não foram cegados adequadamente para o grupo de estudo. Além desse viés, aqueles classificados como “nível 2”, possuíam adicionalmente outros erros sistemáticos identificados, como: número não adequado de replicatas; e/ou a não realização ou descrição das análises estatísticas dos resultados encontrados.

Em relação aos estudos experimentais *in vivo*, os dois foram classificados como “nível 1” e os erros sistemáticos identificados nas pesquisas consistiu em: inadequação ou inexistência de randomização da dose de mebendazol administradas entre os animais; e o não cegamento dos pesquisadores em relação ao grupo de estudo (exposto).

Quadro 18- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vitro* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de mebendazol.

Referência	Linhagem celular	Concentração testada	Efeitos observados					Avaliação do risco de viés
			Mutagênico	MN	AC	Perda cromossômica	Segregação mitótica	
<b>• Linhagem celular bacteriana</b>								
(PAULÍKOVÁ; DOBIÁS, 1981)	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA100, TA98, TA1535 e TA1538)	62,5; 125; 250; 500; 1000 µg/placa	○					Nível 2
<b>• Linhagem celular fúngica</b>								
(GOIN; MAYER, 1995)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D61.M	7,5; 10,0; 12,5; 15,0; 17,5 µg/mL				●		Nível 2
(DE LA TORRE <i>et al.</i> , 1994)	Cepa haplóide FGSC#219 de <i>Aspergillus nidulans</i>	0,1; 2,5 µg/mL				-		Nível 2
	Cepa diplóide D30 de <i>Aspergillus nidulans</i>	0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 1,00; 2,50 µg/mL					+	
<b>• Linhagem celular animal</b>								
(MUDRY <i>et al.</i> , 1990)	Células de ovário de hamster chinês	0,05; 0,1; 0,2; 0,5 µg/mL			+			Nível 2
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	Células de ovário de hamster chinês	0-0,001 M		++				Nível 1
<b>• Linhagem celular humana</b>								
(ANTUNES; TAKAHASHI, 1994)	Linfócitos de sangue periférico humano	5; 10; 20 µg/mL			-			Nível 2
(HUMMELEN; ELHAJOUJI; KIRSCH-VOLDERS, 1995)	Linfócitos de sangue periférico humano	0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5 µM		++				Nível 1
(ELHAJOUJI; CUNHA; KIRSCH-VOLDERS, 1998)	Linfócitos humanos	0,05; 0,10; 0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 0,90; 1,00; 2,00; 3,00 µg/mL		++				Nível 1
(ELHAJOUJI; VAN HUMMELEN; KIRSCH-VOLDERS, 1995)	Linfócitos humanos	0-1 µM		++				Nível 1

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, culturas expostas ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência de efeitos, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) as culturas de controle negativo e expostas ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: AC (aberração cromossômica); M (molar); mL (mililitro); MN (micronúcleo); µg (micrograma); µM (micromolar).

Fonte: Do autor.

#### 5.2.3.9 *Oxfendazol*

No que diz respeito ao composto oxfendazol, apenas uma única investigação experimental *in vivo* acerca da imunotoxicidade foi rastreada e analisada.

##### 5.2.3.9.1 *Imunotoxicidade*

Stankiewicz e colaboradores (1994) ao avaliarem cordeiros Romney expostos a diferentes concentrações de oxfendazol (valores não mencionados) observaram uma redução na proliferação de linfócitos, quando comparado aos animais não tratados com esse composto. Isto é, o oxfendazol demonstrou ter um efeito marcante nas respostas imunológicas, atuando como um supressor na proliferação dos linfócitos, importante células do sistema imunológico relacionadas com a defesa do organismo.

##### 5.2.3.9.2 *Avaliação do risco de viés*

O estudo publicado por Stankiewicz e colaboradores (1994) foi classificado como “nível 1”, após a avaliação da qualidade do estudo e risco de viés. Todos os critérios foram categorizados como “definitivamente ou provavelmente baixo risco de viés”, com exceção do cegamento do grupo teste, tendo em vista que não há informações suficientes de que os pesquisadores não foram cegados adequadamente para o grupo de estudo.

#### 5.2.3.10 *Oxibendazol*

No que se refere ao oxibendazol, dois estudos experimentais *in vitro* sobre a genotoxicidade do composto foram identificados e avaliados nessa revisão sistemática.

##### 5.2.3.10.1 *Genotoxicidade*

A exposição ao oxibendazol provocou efeitos genotóxicos em células de ovário de hamster chinês. Culturas dessa linhagem celular expostas a diluições seriadas do ingrediente ativo, que variaram de 0 até 0,001 M, apresentaram um aumento estatisticamente significativo e dose-dependente na frequência de micronúcleos a partir da 0,000000131 M (concentração limite), que equivale a aproximadamente a 0,03265 µg/mL (ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013).

Goin e colaboradores (1995) encontraram resultados negativos em relação a perda cromossômica em culturas de *Saccharomyces cerevisiae* D61.M expostas a concentrações não especificadas de oxibendazol. Todavia, é importante ter cautela na interpretação dessa evidência, tendo em vista que as doses utilizadas precipitaram fortemente no meio utilizado.

### 5.2.3.10.2 Avaliação do risco de viés

Após a avaliação da qualidade do estudo, o artigo publicado por Ermler e colaboradores (2013) foi classificado como “nível 1”, já que todos os critérios foram categorizados como “definitivamente ou provavelmente baixo risco de viés”, com exceção do cegamento do grupo teste. O mesmo erro sistemático também foi identificado na pesquisa desenvolvida por Goin e colaboradores (1995) com adição do erro sistemático relacionado ao número inadequado de replicatas por grupo de estudo e ausência de análise estatística dos dados, sendo portanto, classificada como “nível 2”.

### 5.2.3.11 Tiabendazol

Os artigos, sobre o tiabendazol e suas formulações comerciais, incluídos nesta revisão sistemática forneceram informações sobre todos os efeitos investigados. Como mencionado anteriormente, foram recuperados 22 estudos experimentais *in vitro* sobre genotoxicidade do carbendazim. Em relação as pesquisas experimentais *in vivo*, doze são sobre os efeitos genotóxicos, três relacionados a imunotoxicidade e três sobre a carcinogenicidade dessa substância.

#### 5.2.3.11.1 Genotoxicidade

##### 5.2.3.11.1.1 Estudos experimentais *in vitro*

A capacidade do composto em causar danos/alterações genéticas, em modelos *in vitro*, foi avaliada em diferentes linhagens celulares (fúngica, vegetal, animal e humana) e a partir de diversos métodos. No Quadro 18 está sintetizado os principais dados extraídos de cada estudo, assim como a classificação deles em relação a avaliação ao risco de viés.

- Linhagem celular fúngica

A genotoxicidade do tiabendazol foi avaliada a partir do teste de perda cromossômica na linhagem diplóide D61.M de *Saccharomyces cerevisiae*. Embora nenhuma análise estatística tenha sido aplicada nos resultados obtidos, após uma exposição de 26 horas a concentrações variadas do ingrediente ativo (10; 15; 30; 60; 90; 120 µg/mL), a cultura de levedura apresentou altas taxas de perda cromossômica, quando comparado ao controle negativo. A dose ativa mais baixa do composto (30 µg/mL) induziu uma frequência de perda cromossômica de cerca de 15 por 10<sup>6</sup> CFU, atingindo a maior indução na dose mais alta testada (120 µg/mL), com uma frequência de 344 por 10<sup>6</sup> CFU (GOIN; MAYER, 1995).

Quadro 19- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vitro* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.

(continua)

Referência	Linhagem celular	Concentração testada	Efeitos observados								Avaliação do risco de viés
			<i>Perda cromossômica</i>	<i>Aneuploidia</i>	<i>Poliploidia</i>	<i>MN</i>	<i>AC</i>	<i>SCE</i>	<i>Danos ao DNA</i>	<i>Inibição da polimerização da tubulina</i>	
<b>• Linhagem celular fúngica</b>											
(GOIN; MAYER, 1995)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D61.M	10; 15; 30; 60; 90; 120 µg/mL	•								Nível 2
(CREBELLI <i>et al.</i> , 1991)	Cepa diplóide PI de <i>Aspergillus nidulans</i>	1,2; 4; 12; 40 µg/mL		+							Nível 2
<b>• Linhagem celular animal</b>											
(WARR; PARRY; PARRY, 1993)	Células LUC2 de hamster chinês ( <i>Cricetulus griseus</i> )	2,5; 5; 10; 25; 50; 100 µg/mL			+						Nível 2
(GIBSON <i>et al.</i> , 1995)	Células embrionárias primárias de hamsters Golden Syrian	12,5; 15; 20; 25; 30; 35; 50; 75 µg/mL		-							Nível 2
(NATARAJAN <i>et al.</i> , 1993)	Fibroblastos embrionárias de hamster chinês	50; 83; 150 µg/mL		•							Nível 2
(BRUNNER; ALBERTINI; WÜRGLER, 1991)	Tubulina cerebral suína	100; 250; 400 e 500 µM								•	Nível 2
(WALLIN; HARTLEY-ASP, 1993)	Tubulina cerebral de bovinos	10; 100; 1000 µM								•	Nível 1
(SEELBACH <i>et al.</i> , 1993)	Células de pulmão de hamster chinês (V79)	10,0; 31,6; 100,0; 316,4 µg/mL				•					Nível 1
(LYNCH; PARRY, 1993)	Células LUC2 de hamster chinês ( <i>Cricetulus griseus</i> )	10; 20; 25; 40; 50; 80; 100; 150 µg/mL				+					Nível 1
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	Célula de ovário de hamster chinês	0-0,001 M				-					Nível 1
(HASHIMOTO <i>et al.</i> , 2010)	Fibroblasto de pulmão de hamster chinês	19; 26; 36; 51; 71; 100 µg/mL				++					Nível 2



Quadro 20- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vitro* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.

(continua)

Referência	Linhagem celular	Concentração testada	Efeitos observados								Avaliação do risco de viés
			<i>Perda cromossômica</i>	<i>Aneuploidia</i>	<i>Poliploidia</i>	<i>MN</i>	<i>AC</i>	<i>SCE</i>	<i>Danos ao DNA</i>	<i>Inibição da polimerização da tubulina</i>	
(ANTOCCIA <i>et al.</i> , 1991)	Células CI-1 de hamster	2,5; 5; 10; 15; 25 µg/mL				++					Nível 1
(MUDRY <i>et al.</i> , 1990)	Célula de ovário de hamster chinês	0,06; 0,12; 0,24; 0,6 µg/mL					+				Nível 2
(CARBALLO <i>et al.</i> , 2006)	Célula de ovário de hamster chinês	50; 100 µg/mL						+			Nível 1
<b>• Linhagem celular humana</b>											
(SBRANA <i>et al.</i> , 1993)	Linfócitos humanos	150; 300; 450; 600; 900 µg/mL		±	+						Nível 1
(HUMMELEN; ELHAJOUJI; KIRSCH-VOLDERS, 1995)	Linfócitos de sangue periférico humano	100; 150; 200; 300 µM				-					Nível 1
(CLARE <i>et al.</i> , 2006)	Linfócitos humanos	11-1000 µg/mL				-					Nível 1
(MIGLIORE; NIERI, 1991)	Linfócitos humanos	0,1; 0,3; 1; 3; 10; 30; 50; 100; 150; 200; 250; 300 µg/mL				-					Nível 2
(SANTOVITO; CERVELLA; DELPERO, 2011)	Linfócitos de sangue periférico humano	0,5; 5; 50 µg/mL				+					Nível 2
(HUMMELEN; KIRSCH-VOLDERS, 1992)	Linfócitos humanos	2,5; 5; 10; 30; 40 µg/mL				-					Nível 1
(BONATTI <i>et al.</i> , 1992)	Fibroblastos diplóides humanos	0,05; 0,15; 0,45 µg/mL				+					Nível 1
(VINDAS <i>et al.</i> , 2004)	Células brancas de sangue humano	25; 50; 75; 100 µg/mL							-		Nível 1

Quadro 21- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vitro* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.

Referência	Linhagem celular	Concentração testada	Efeitos observados							Avaliação do risco de viés	
			<i>Perda cromossômica</i>	<i>Aneuploidia</i>	<i>Poliploidia</i>	<i>MN</i>	<i>AC</i>	<i>SCE</i>	<i>Danos ao DNA</i>		<i>Inibição da polimerização da tubulina</i>
(CARBALLO <i>et al.</i> , 2006)	Linfócitos de sangue periférico humano	50; 100 µg/mL						-			Nível 1

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (±) associação não significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, culturas expostas ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência de efeitos, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: AC (aberração cromossômica); M (molar); mL (mililitro); MN (micronúcleo); SCE (troca de cromátides irmãs); µg (micrograma); µM (micromolar).

Fonte: Do autor.

Em culturas de *Aspergillus nidulans*, o tiabendazol demonstrou ser capaz de perturbar a segregação cromossômica mitótica e, conseqüentemente induzir aneuploidia. As culturas expostas ao ingrediente ativo apresentaram aumentos estatisticamente significativos na segregação de cromossomos inteiros na faixa de dose de 4 a 40 µg/mL, em comparação ao controle negativo (culturas não tratadas com tiabendazol) (CREBELLI *et al.*, 1991).

- Linhagem celular animal

Em relação a culturas de linhagem celular animal, as evidências sobre aneuploidia foram contraditórias. Nataranjan e colaboradores (1993) não utilizaram métodos estatísticos, entretanto encontraram aumentos na frequência de indução de aneuploidia, em células embrionárias de hamster chinês, atingindo uma frequência de células aneuplóides de 35,7% na maior concentração avaliada 150 µg/mL. Destaca-se que dentre as células aneuplóides, as hipoplóides estavam em maior frequência do que as hiperplóides, sugerindo que a aneuploidia foi induzida pela perda de um ou mais cromossomos.

Gibson e colaboradores (1995) avaliaram a capacidade do tiabendazol em induzir aneuploidia em células embrionárias de hamster-sírio, a partir da frequência de transformação morfológica das células. Ao contrário do observado anteriormente, nenhum aumento significativo na frequência de transformação morfológica foi observado, após os períodos de exposição (24 horas e 7 dias) e as concentrações avaliadas (12,5; 15; 20; 25; 30; 35; 50; 75 µg/mL). Entretanto, as concentrações utilizadas nesse estudo foram menores que as utilizadas no estudo anterior.

Em células de animais, também se observou uma resposta positiva e estatisticamente significativa entre a exposição ao tiabendazol e aneuploidia. A concentração de 100 µg/mL induziu um aumento na frequência de células tetraplóides em cultura de células LUC2 de hamster chinês (*Cricetulus griseus*) (WARR; PARRY; PARRY, 1993). Aberrações cromossômicas também foram induzidas pelo ingrediente ativo tiabendazol, só que em células embrionárias de hamster chineses. Em todas as concentrações testadas, as pontes (73-95%) foram a alteração de anáfase anormal mais frequente (MUDRY DE PARGAMENT; LABAL DE VINUESA; LARRIPA, 1987).

Assim como os outros compostos benzimidazóis, pesquisas disponíveis demonstraram haver uma relação entre a exposição ao carbendazim e o aumento na frequência de micronúcleos em células de hamster, exceto em concentrações extremamente baixas. A maioria dos estudos apresentaram uma diferença estatisticamente significativa (LYNCH; PARRY, 1993) e dose-dependente (ANTOCCIA *et al.*, 1991; HASHIMOTO *et al.*, 2010) na frequência do

miconúcleo entre as células controle e tratadas com carbendazim.

Ainda que Seelbach e colaboradores (1993) não tenham analisado estatisticamente os dados, os autores observaram que 80% das células micronucleadas induzidas eram cinetocoros positivas, o que foi confirmado em outros estudos onde a porcentagem de micronúcleos com centrômeros positivos variou entre 53-83% (HASHIMOTO *et al.*, 2010) e entre 76,2-81,2% (ANTOCCIA *et al.*, 1991), sugerindo fortemente que os micronúcleos induzidos *in vitro* por tiabendazol são causados por um mecanismo aneugênico, assim como outros compostos benzimidazóis.

Dentre as pesquisas incluídas na revisão, o estudo publicado por Ermler e colaboradores (2013) foi o único que não encontrou nenhum aumento na formação de micronúcleos, após culturas de células de ovário de hamster chinês serem tratadas com tiabendazol, com concentrações que variaram de 0 a aproximadamente 201,25 µg/mL.

Os efeitos genotóxicos do tiabendazol podem estar associados ao mecanismo de ação dessa substância. Como confirmado em dois estudos, em comparação com o grupo controle, o ingrediente ativo provocou um aumento na taxa de inibição da polimerização *in vitro* da tubulina cerebral suína e bovina e uma redução da velocidade desse processo (BRUNNER; ALBERTINI; WÜRGLER, 1991; WALLIN; HARTLEY-ASP, 1993). A concentração necessária para reduzir o nível de equilíbrio da montagem da tubulina em 30% foi de 500 µg/mL (BRUNNER; ALBERTINI; WÜRGLER, 1991).

Em culturas de células de animais, o estudo realizado por Carballo e colaboradores (2006) foi o único que forneceu dados sobre a genotoxicidade de uma formulação comercial a base de tiabendazol (Foldan<sup>®</sup>). Na ausência de ativação metabólica (S9), um aumento significativo na frequência de troca de cromátides irmãs foi observado nas células de ovário de hamster chinês expostas apenas à dose mais alta (100 µg/mL) de Foldan<sup>®</sup>. Por outro lado, quando as células cresceram na presença do ativador metabólico, a frequência de troca de cromátides irmã mostrou um aumento significativo em ambas as concentrações testadas.

- Linhagem celular humana

A indução de aneuploidia e poliploidia também esteve presente em cultura de linfócitos humanos expostas ao tiabendazol. Após 72 e 96 horas do tratamento, o ingrediente ativo induziu células hipodiplóides e hiperdiplóides (aneuploidia) nas doses mais altas testadas (450-900 µg/mL), mas sem alcançar significância estatística quando comparada ao controle. Em relação a células tetraplóides, após 72 horas do tratamento, houve um aumento estatisticamente significativo nas doses de 600 (9,3%) e 900 µg/mL (8,6%), quando comparado ao controle

(1,3%) (SBRANA *et al.*, 1993).

De maneira oposta ao que foi descrito anteriormente em culturas de células animais, o tiabendazol não induziu a formação de micronúcleos em culturas de linfócitos humanos. A maioria dos estudos não encontraram nenhum aumento na frequência de células micronucleadas após as concentrações e tempo de exposição testados (CLARE *et al.*, 2006; HUMMELEN; ELHAJOUJI; KIRSCH-VOLDERS, 1995; HUMMELEN; KIRSCH-VOLDERS, 1992; MIGLIORE; NIERI, 1991), com exceção de duas pesquisas.

Os resultados publicados por Santovito e colaboradores (2011) indicaram que a exposição ao tiabendazol aumentou significativamente a frequência do micronúcleo em comparação com o controle negativo (1,2%), em culturas de linfócitos humanos expostas a todas as concentrações de tratamento (variando de 2,15-3,55%). Aumentos no número de células micronucleadas também foram observados em culturas de fibroblastos humano expostos a concentração de 0,15 µg/mL (12,6/1000 células), quando comparado ao controle não tratado (7,6/1000 células). Complementarmente, o ingrediente ativo gerou uma proporção significativamente aumentada de micronúcleos cinetecoros positivos, quando comparados aos cinetecoros negativos, evidenciando que a atuação do composto como um aneugênico, assim como os outros benzimidazóis (BONATTI *et al.*, 1992).

Formulações comerciais a base de tiabendazol não demonstraram atividade genotóxica em cultura de células humana. Concentrações de 50 e 100 µg/mL do composto Foldan<sup>®</sup> não provocou nenhum aumento na frequência de troca de cromátide irmãs (CARBALLO *et al.*, 2006). Um estudo realizado por Vindas e colaboradores (2004), com uma outra formulação comercial não especificada com 22% do ingrediente ativo tiabendazol, não encontrou nenhum aumento estatisticamente significativo na ocorrência danos ao DNA nas concentrações estudadas.

Quadro 22- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vivo* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.

(continua)

Referência	Espécie ou linhagem do animal utilizado	Via/duração da exposição	Concentração testada	Efeitos observados								Avaliação do risco de viés
				Dano ao DNA	Aneuploidia	Poliploidia	MN	AC	SCE	Imunotóxico	Carcinogênico	
<b>• Experimentos <i>in vivo</i> com vegetais</b>												
(SANDHU <i>et al.</i> , 1991)	Cepa Neatby's de trigo chinês	- Sistemática - Vegetal exposto por 24 hrs	1; 5; 25; 100; 500 µg/mL		+							Nível 2
(ANDRIOLI; MUDRY, 2011)	<i>Allium cepa</i>	- Sistemática - Vegetal exposto por 30 hrs	50; 100; 250 µg/mL				+	+				Nível 1
(SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983)	- <i>Allium cepa</i> - <i>Allium sativum</i> - <i>Vicia faba</i>	- Sistemática - Vegetal exposto por 2 hrs	250; 500; 1000 ppm					-				Nível 2
<b>• Experimentos <i>in vivo</i> com animais não mamíferos</b>												
(DIXON <i>et al.</i> , 1999)	Minhoca <i>Pomatoceros lamarckii</i>	- Sistemática - Exposição por 3 hrs	0,00000001; 0,0000001; 0,000001; 0,0000033 M					++				Nível 2
(MARTINI <i>et al.</i> , 2010)	Girinos <i>Xenopus laevis</i>	- Sistemática - 4 doses em um intervalo de 8 dias	0,7 µg/mL							-		Nível 1
<b>• Experimentos <i>in vivo</i> com animais mamíferos</b>												
(SCHMID; XU; ADLER, 1999)	Camundongos machos (102/ElxC3H/El) F1	- Oral (gavagem) - Exposição diária por 11 dias	100; 300 mg/kg		+							Nível 1
(MARRAZZINI <i>et al.</i> , 1994)	Camundongos machos Swiss CD-I	- Intraperitoneal - Dose única	100; 250; 500 mg/kg		±		±	±				Nível 1
(LEOPARDI <i>et al.</i> , 1993)	Camundongos machos (C57Bl/CnexC3H/Cne)	- Intraperitoneal - Dose única	62,5 mg/kg		-	-	+					Nível 1

Quadro 19- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vivo* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.

(continua)

Referência	Espécie ou linhagem do animal utilizado	Via/duração da exposição	Concentração testada	Efeitos observados							Avaliação do risco de viés	
				Dano ao DNA	Aneuploidia	Poliploidia	MN	AC	SCE	Imunotóxico		Carcinogênico
(ADLER <i>et al.</i> , 1991)	Camundongos machos e fêmeas (102/E1xC3H/E1)	- Intraperitoneal	125; 250; 375; 500 mg/kg				-					Nível 1
	Camundongos albinos suíços machos e fêmeas	- Dose única	640 mg/kg				-					
(MUDRY DE PARGAMENT; LABAL DE VINUESA; LARRIPA, 1987)	Camundongos CFW machos e fêmeas	- Intraperitoneal - Dose única	50; 100; 200 mg/kg				+					Nível 1
		- Intraperitoneal - 2 doses em um intervalo de 9 hrs						-				
(MUDRY DE PARGAMENT <i>et al.</i> , 1981)	<i>Saimiri sciureus</i>	- Oral (alimentar) - Exposição diária por 5 dias	40 mg/kg						+			Nível 2
(SASAKI <i>et al.</i> , 1997)	Camundongos CD-1 machos	- Oral (gavagem) - Dose única	200 mg/kg	+								Nível 1
(SASAKI <i>et al.</i> , 2002)	Camundongos ddY machos	- Oral (gavagem) - Dose única	10; 100; 200 mg/kg	+								Nível 1
(DONSKAYA <i>et al.</i> , 1982)	Camundongos fêmeas C57BI/6J	- Intraperitoneal - Dose única	20 mg/kg							-		Nível 1
(DONSKAYA <i>et al.</i> , 1982)	Camundongos fêmeas C57BI/6J	- Intraperitoneal - Dose única	20 mg/kg							-		Nível 1

Quadro 19- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vivo* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.

(continua)

Referência	Espécie ou linhagem do animal utilizado	Via/duração da exposição	Concentração testada	Efeitos observados								Avaliação do risco de viés	
				<i>Dano ao DNA</i>	<i>Aneuploidia</i>	<i>Poliploidia</i>	<i>MN</i>	<i>AC</i>	<i>SCE</i>	<i>Imunotóxico</i>	<i>Carcinogênico</i>		
(TADA <i>et al.</i> , 2001)	Camundongos ICR machos e fêmeas	- Oral (alimentar) - Exposição diária por 78 semanas	0,031; 0,125; 0,5%									-	Nível 2
(FUJII <i>et al.</i> , 1986)	Ratos F344/DuCrj	- Oral (alimentar) - Exposição diária por 13 e 65 semanas	126 mg/kg									-	Nível 2
(FUJII; MIKURIYA; SASAKI, 1991)	Ratos F344/DuCrj	- Oral (alimentar) - Exposição diária por 104 semanas	0,05; 0,1; 0,2; 0,4%									+	Nível 2

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (±) associação não significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, os grupos expostos ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência dos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) o grupo controle e exposto ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada. Nota: AC (aberração cromossômica); hrs (horas); kg (quilograma); M (molar); mg (miligrama); mL (mililitro); MN (micronúcleo); ppm (parte por milhão); µg (micrograma); SCE (troca de cromátides irmãs).

Fonte: Do autor.



#### 5.2.3.11.1.2 Estudos experimentais *in vivo*

Os possíveis efeitos genotóxicos, provocados pela exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base do tiabendazol, também foram avaliados em modelos experimentais *in vivo*, com vegetais, animais mamíferos e não mamíferos (Quadro 19).

- Vegetais

Experimentos *in vivo* com cepas de trigo chinês expostas por 24 horas a concentrações variadas (1-500 µg/mL) de tiabendazol encontraram uma resposta positiva para indução de aneuploidia apenas na dose de 25 µg/mL (SANDHU *et al.*, 1991).

Adicionalmente, formulações comerciais a base de tiabendazol também foram analisadas. Andrioli e Mudry (2011) observaram aumentos significativos na frequência de aberrações cromossômicas e de micronúcleo em *Allium cepa* tratadas com concentrações de 50, 100 e 250 µg/mL de Foldan®. Em contrapartida as formulações de pesticidas Tecto® e Mertecto® não induziram nenhum tipo de aberrações em *Allium cepa*, *Allium sativum* e *Vicia faba* (SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983).

- Animais não mamíferos

Aberrações cromossômicas também foram descritas em modelo experimental *in vivo* com animal não mamífero. Minhocas *Pomatoceros lamarckii* expostas sistematicamente a baixas concentrações de tiabendazol, por três horas, apresentaram um aumento estatisticamente significativo e dose-dependente na frequência de aberrações cromossômicas estruturais na faixa de dose mais alta, que variaram de 0,0000001 até 0,0000033 M (equivalente a aproximadamente 0,02-0,66 µg/mL) (DIXON *et al.*, 1999).

- Animais mamíferos

A relação observada entre a exposição ao tiabendazol e a aneuploidia em espécies de organismos vivos listados anteriormente, também esteve presente em animais mamíferos. Em comparação com o controle negativo (0,023%), o tratamento diário com 300 mg/kg do ingrediente ativo induziu um aumento significativo de espermatozoide diplóide (0,047%) em camundongos machos expostos por onze dias (SCHMID; XU; ADLER, 1999). Embora Marrazzini e colaboradores (1994) não tenham encontrado diferença estatisticamente significativa, camundongos machos Swiss CD-I tratados com tiabendazol, através da via intraperitoneal, apresentaram maiores frequências de células hiperplóides e de aberrações cromossômicas em células da medula óssea, quando confrontado com os animais tratados

apenas com o solvente DMSO (controle negativo).

Leopardi e colaboradores (1993), por sua vez, não observaram nenhum aumento no índice de aneuploidia e poliploidia em camundongos tratados com tiabendazol. Contudo, a dosagem testada (62,5 mg/kg) foi inferior as concentrações avaliadas nos estudos anteriores que apresentaram uma relação positiva entre a exposição ao ingrediente ativo e esse efeito genotóxico.

Assim como nos modelos experimentais *in vitro*, as evidências sobre a formação de micronúcleos após a exposição intraperitoneal a uma dose única de tiabendazol foram contraditórias. Quando comparado aos respectivos grupos de controle negativo, observou-se aumentos na frequência de micronúcleos em camundongos tratados com o composto benzimidazol (MARRAZZINI *et al.*, 1994), alguns deles estatisticamente significativos (LEOPARDI *et al.*, 1993; MUDRY DE PARGAMENT; LABAL DE VINUESA; LARRIPA, 1987). Entretanto, refutando esses dados, na pesquisa desenvolvida por Adler e colaboradores (ADLER *et al.*, 1991), o tiabendazol não induziu a formação de micronúcleos em células da medula óssea de camundongo em nenhuma das concentrações avaliadas (125-600 mg/kg).

Doses de 50, 100 e 200 mg/kg de tiabendazol não foram capazes de provocar troca de cromátides irmãs em camundongos machos e fêmeas CFW expostos intraperitonealmente a duas doses do composto, em um intervalo de nove horas (MUDRY DE PARGAMENT; LABAL DE VINUESA; LARRIPA, 1987). Em contrapartida, primatas *Saimiri sciureus* expostos diariamente por 5 dias, através da via oral, a uma concentração mais baixa de ingrediente ativo (40 mg/kg) tiveram a média de SCE (8,7) estatisticamente diferente do grupo controle (5,6) (MUDRY DE PARGAMENT *et al.*, 1981).

A ação genotóxica do tiabendazol através de danos ao DNA também foi demonstrada. Após três horas de exposição, esse composto induziu danos ao DNA em órgãos de camundongos (estômago, colón, fígado, rim, bexiga, pulmão, cérebro e medula óssea), com diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo não tratado (SASAKI *et al.*, 1997; SASAKI *et al.*, 2002).

#### **5.2.3.11.2 Imunotoxicidade**

Os três estudos experimentais *in vivo* demonstram que o tiabendazol não possui capacidade imunotóxica em animais mamíferos e não mamíferos. Contrariamente o composto atuou como um estimulador do sistema imune (imunoestimulador). De acordo com Martini e colaboradores (2010) o ingrediente ativo induziu um aumento estatisticamente significativo, em relação ao controle negativo, na expressão do RNA mensageiro de IL-1 $\beta$  de girinos *Xenopus*

*laevis*, durante todos os tempos de exposição (7, 24 e 72 hrs; 6 e 9 dias). Essa interleucina é um dos principais agentes mediadores na resposta imune contra invasão bacteriana, inflamação, infecções e lesões teciduais. Ademais, em camundongos fêmeas, o tiabendazol induziu efeitos significativos no desenvolvimento e diferenciação de células linfoides no timo, medula óssea (DONSKAYA *et al.*, 1982), baço e linfonodos (DONSKAYA *et al.*, 1982), importantes células do sistema imunológico, relacionadas a imunidade adaptativa e inata.

#### **5.2.3.11.3 Carcinogenicidade**

A carcinogenicidade do tiabendazol foi investigada em camundongos e ratos expostos *in vivo* cronicamente. Camundongos expostos pela via oral (alimentar) ao ingrediente ativo por 78 semanas manifestaram hiperplasia ou metaplasia escamosa do epitélio transicional e um papiloma de células transicionais (TADA *et al.*, 2001). Nenhum tumor maligno foi observado, assim como no estudo realizado por Fujii e colaboradores (1986), que após 65 semanas, apenas um tumor benigno foi evidenciado em um grupo de 15 ratos (1/15).

Ao avaliar a exposição de ratos a um período maior (104 semanas), Fujii e colaboradores (1991) notaram que o tiabendazol induziu hiperplasia de células de transição da pelve renal e/ou papila e adenoma de glândula prepucial, com tendências positivas significativas. Mesmo que reduzido, também foi observado incidência de papiloma de células de transição ou carcinoma do sistema urinário nos grupos tratados com o ingrediente ativo.

#### **5.2.3.11.4 Avaliação do risco de viés**

Os critérios estabelecidos foram aplicados para os 40 estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* analisados. Como demonstrado no Quadro 18 e 19, 23 pesquisas foram categorizadas como “nível 1” e 17 como “nível 2”. Os estudos *in vitro* categorizados como “nível 2” não tiveram um número adequado de repetições por grupo de estudo – critério chave no processo de avaliação da qualidade da pesquisa. Adicionalmente, vieses relacionados ao cegamento dos pesquisadores para o grupo teste e utilização de métodos estatísticos adequados também estiveram presente.

Nas pesquisas *in vivo* categorizadas como “nível 2” a exposição dos organismos vivos não foi adequadamente caracterizada e/ou número de animais por grupo não foi apropriado (critérios chaves). Além do cegamento dos pesquisadores ao longo do estudo e a metodologia estatística, em alguns estudos a dose administrada ou à randomização nível de exposição também foram fonte de vieses na pesquisa.

Os estudos *in vitro* e *in vivo* classificados como “nível 1” foram categorizados como “definitivamente ou provavelmente baixo risco de viés” para todos os critérios chaves pré-

estabelecidos.

#### 5.2.3.12 Tiofanato-metílico

Os artigos sobre o tiofanato-metílico e suas formulações comerciais, incluídos nesta seção da revisão, forneceram informações sobre a genotoxicidade e imunotoxicidade do composto. Como mencionado anteriormente, foram recuperados três estudos experimentais *in vitro* e seis *in vivo* sobre a capacidade genotóxica do tiofanato-metílico. A imunotoxicidade da substância foi avaliada apenas por um modelo experimental *in vivo*.

##### 5.2.3.12.1 Genotoxicidade

###### 5.2.3.12.1.1 Estudos experimentais *in vitro*

A capacidade do composto em causar danos/alterações genéticas, em modelos *in vitro*, foi avaliada a partir de diversos métodos em cultura de linfócitos humanos. Baixas concentrações de tiofanato-metílico, que variaram entre 34,24 e 68,48 µg/mL (SAQUIB *et al.*, 2009) e entre 0,3 e 30 µg/mL (HRELIA *et al.*, 1996), induziram aumentos estatisticamente significativos e dose-dependente, respectivamente, na frequência de células micronucleadas. Diferentemente dos compostos benzimidazóis aqui listados nessa revisão sistemática, o tiofanato-metílico foi a única substância mais ativa na indução de micronúcleo centrômero negativo (73-81%), confirmando que o composto atua através de um mecanismo clastogênico (FIMOIGNARI; NÜSSE; HRELIA, 1999; HRELIA *et al.*, 1996).

O tratamento das culturas de linfócitos humanos *in vitro*, com diferentes concentrações de tiofanato-metílico (3-300 µg/mL), na ausência da mistura S9, induziu aumentos relacionados a dose e estatisticamente significativos nas aberrações cromossômicas estruturais, principalmente quebra cromática e alguns rearranjos cromossômicos. A frequência atingiu, na dose mais alta, valores até nove vezes maiores do que o controle negativo (1%) (HRELIA *et al.*, 1996).

O ingrediente ativo em questão demonstrou atuar diretamente no DNA, causando danos nessas moléculas. Em um estudo realizado por Saquib e colaboradores (2009), após a realização do ensaio cometa em culturas de linfócitos humanos tratadas com concentrações de tiofanato-metílico que variaram de 0,25 a 1,0 mM – o que corresponde a aproximadamente 47,80 a 191,19 µg/mL –, encontrou-se um aumento dose-dependente no comprimento das caudas dos cometas (93,94-201,22%) e do DNA na cauda (15,46-44,39%), com redução concomitante no tamanho da cabeça.

#### 5.2.3.12.1.2 Estudos experimentais *in vivo*

A genotoxicidade do tiofanato-metílico e suas formulações comerciais também foram avaliadas em modelos experimentais *in vivo*, com vegetais, animais mamíferos e não mamíferos (Quadro 20).

- Vegetais

Sahu e colaboradores (1983) ao avaliarem *Allium cepa*, *Allium sativum* e *Vicia faba*, expostas por duas horas a altas concentrações (250; 500; 1000 ppm) de três formulações comerciais a base de tiofanato-metílico (Mildothane<sup>®</sup>, Cercobin-M<sup>®</sup>, Topsin-M<sup>®</sup>). não encontraram nenhuma diferença estatisticamente significativa na frequência de aberrações cromossômicas estruturais, quando comparado ao controle negativo (organismos não tratados com esses compostos).

Em compensação, concentrações semelhantes de Topsin-M<sup>®</sup> (100; 300; 500; 1000 µg/mL) em contato com *Allium cepa*, por um período mais longo (6, 24 e 48 hrs), induziram um aumento na frequência de efeitos clastogênicos como fragmentação de cromossomos, lacunas, quebras e pontes, assim como na formação de micronúcleos. Embora nenhuma análise estatística tenha sido realizada, as taxas dos efeitos no grupo tratado com a formulação comercial foram maiores do que nos animais não tratados (SOMASHEKAR; GOWDA; VENKATASUBBAIAH, 1984).

- Animais não mamíferos

O único estudo disponível sobre o potencial genotóxico do tiofanato-metílico em animais não mamíferos foi desenvolvido com a espécie de lagarto *Podarcis sicula*. Animais expostos por 15, 30 e 40 dias a concentrações de 1,5 mg/mL do ingrediente ativo apresentaram um aumento estatisticamente significativo e correlacionado com a duração da exposição na frequência de aberrações cromossômicas estruturais (lacunas, quebras e rearranjos), micronúcleos e do comprimento da cauda do cometa, paralelamente a uma redução no tamanho da cabeça, demonstrando a capacidade do tiofanato-metílico em induzir danos ao DNA (CAPRIGLIONE *et al.*, 2011).

- Animais mamíferos

Em concordância com o experimento anterior, o tiofanato-metílico também induziu um aumento estatisticamente significativo e relacionado a dose na frequência de danos ao DNA (quebras de fita simples de DNA), em ratos Wistar machos expostos pela via intraperitoneal a

doses únicas da substância (300; 500; 700 mg/kg) (BEN AMARA *et al.*, 2014).

Uma relação significativa entre a exposição ao tiofanato-metílico e a indução de poliploidia e micronúcleos também foi observada em ratos albinos suíços machos tratados com uma dose única de 1g/kg através da via oral (gavagem), tendo em vista que o número de células poliplóides e a média de micronúcleos ( $3,40 \pm 0,99\%$  MN/PCE) foi maior do que nos animais tratados apenas com o solvente DMSO (BARALE *et al.*, 1993).

Contrariamente ao que foi explicitado nos estudos experimentais *in vivo* com vegetais e animais não mamíferos, ratos machos albinos expostos a uma dose única pela via oral (gavagem) (BARALE *et al.*, 1993) e a doses diárias por cinco dias pela via intraperitoneal (MAKITA; HASHIMOTO; NOGUCHI, 1973) não manifestaram nenhuma aberração cromossômica.

#### **5.2.3.12.2 Imunotoxicidade**

A capacidade imunotóxica do tiofanato-metílico foi investigada indiretamente através de métodos relacionados a irritação dérmica subcrônica e sensibilização cutânea em diferentes cobaias (animais mamíferos). Um coelho albino macho adulto manifestou um ligeiro eritema na pele tratada, por 21 dias, com uma suspensão diária de tiofanato-metílico a 10%, que desapareceu alguns dias após o a finalização do tratamento. Em outras concentrações testadas, nenhuma irritação na pele (eritema, edema, sarna) foi observada (HASHIMOTO *et al.*, 2010).

Em relação as cobaias, os quatorze animais tratados com dez injeções intradérmicas de tiofanato-metílico a 10%, não exibiram nenhuma irritação primária, apenas um estado ligeiramente sensível a essa substância (HASHIMOTO *et al.*, 2010).

#### **5.2.3.12.3 Avaliação do risco de viés**

Após a avaliação do risco de viés, os três estudos experimentais *in vitro* sobre o tiofanato-metílico foram classificados como “nível 2”, já que não tiveram um número adequado de repetições por grupo de estudo – critério chave no processo de avaliação da qualidade da pesquisa – e o cegamento dos pesquisadores para o grupo teste não foi realizado.

Em relação aos modelos experimentais *in vivo*, em alguns estudos a exposição dos organismos vivos não foi adequadamente caracterizada e/ou número de animais por grupo não foi apropriado (critérios chaves). Além do cegamento dos pesquisadores ao longo do estudo e a metodologia estatística, a dose administrada ou a randomização do nível de exposição também foram fontes de vieses na pesquisa. Nesse contexto, quatro pesquisas *in vivo* foram classificadas como “nível 2”. Aqueles classificados como “nível 1” foram categorizados como “definitivamente ou provavelmente baixo risco de viés” para todos os critérios chaves.

Quadro 23- Principais efeitos observados nos estudos experimentais *in vivo* relacionados a exposição ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiofanato-metílico.

Referência	Espécie ou linhagem do animal utilizado	Via/duração da exposição	Concentração testada	Efeitos observados					Avaliação do risco de viés
				Dano ao DNA	Poliploidia	MN	AC	Imunotóxico	
<b>• Experimentos <i>in vivo</i> com vegetais</b>									
(SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983)	- <i>Allium cepa</i> - <i>Allium sativum</i> - <i>Vicia faba</i>	- Sistemática - Vegetal exposto por 2 hrs	250; 500; 1000 ppm				-		Nível 2
(SOMASHEKAR; GOWDA; VENKATASUBBAIAH, 1984)	<i>Allium cepa</i>	- Sistemática - Vegetal exposto por 6, 24 e 48 hrs	100; 300; 500; 1000 µg/mL			●	●		Nível 2
<b>• Experimentos <i>in vivo</i> com animais não mamíferos</b>									
(CAPRIGLIONE <i>et al.</i> , 2011)	Espécies machos e fêmeas de <i>Podarcis sicula</i> (lagartos)	- Oral (alimentar) - 2 doses por semana durante 15, 30 e 40 dias	1,5 mg/mL	+		+	+		Nível 2
<b>• Experimentos <i>in vivo</i> com animais mamíferos</b>									
(BEN AMARA <i>et al.</i> , 2014)	Ratos Wistar machos	- Intraperitoneal - Dose única	300; 500; 700 mg/kg	++					Nível 1
(BARALE <i>et al.</i> , 1993)	Ratos albinos suíços machos	- Oral (gavagem) - Dose única	1 g/kg		+	+	-		Nível 1
(MAKITA; HASHIMOTO; NOGUCHI, 1973)	Ratos machos albinos Wistar	- Intraperitoneal - Dose diária por 5 dias	62,5; 125; 250; 500; 1000 mg/kg				○		Nível 2
(HASHIMOTO <i>et al.</i> , 2010)	Coelhos albinos machos adultos	- Dérmica - Dose diária por 21 dias	0,1; 1; 10%					○	Nível 1
	Cobaias machos albinos	- Intradérmica - 10 doses alternadas em um intervalo de 34 dias	1%					○	

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (±) associação não significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, os grupos expostos ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência dos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) o grupo controle e exposto ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada. Nota: AC (aberração cromossômica); g (grama); hrs (horas); kg (quilograma); mg (miligrama); mL (mililitro); MN (micronúcleo); ppm (parte por milhão); µg (micrograma). Fonte: Do autor.

### 5.3 INTEGRAÇÃO DAS EVIDÊNCIAS

A integração das evidências só pode ser realizada caso existam pesquisas epidemiológicas e experimentais sobre o tema, com exceção daquelas classificadas como “nível 3” na avaliação do risco de viés. Este estudo tratou-se da capacidade da classe benzimidazol e das treze substâncias pertencentes ao grupo em causar efeitos genotóxicos, imunotóxicos e carcinogênicos. Ou seja, a integração foi realizada apenas para as substâncias que tiveram ambos os tipos de evidência (experimental e epidemiológica) incluídas na revisão para cada efeito investigado.

O composto benzimidazol, benomil, carbendazim e tiabendazol foram as únicas substâncias analisadas nos estudos epidemiológicos e, portanto, somente elas puderam ser avaliadas nesse tópico. É importante destacar que todas as pesquisas foram classificadas, em relação ao risco de viés, como “nível 1” e “nível 2”.

Embora o tiofanato-metílico também tenha apresentado ambas as evidências, o único estudo epidemiológico incluído na revisão sistemática está relacionado a capacidade carcinogênica do composto, e nenhuma evidência experimental, *in vitro* ou *in vivo*, sobre este efeito foi identificada.

Os resultados são apresentados por substância e divididos em:

- Integração das evidências para estudos experimentais através dos critérios: consistência, magnitude, especificidade, temporalidade, resposta à exposição, concordância biológica e analogia;
- Integração das evidências entre os domínios experimental e epidemiológico através dos aspectos de Bradford Hill: consistência, força de associação, coerência, plausibilidade biológica, gradiente biológico, temporalidade, especificidade, analogia e evidência experimental.

Para resumir, no último tópico realizou-se uma integração das informações de todas as substâncias pertencentes a classe benzimidazol, buscando semelhanças entre os efeitos e padrões de respostas após a exposição.

#### 5.3.1 Benzimidazol

A integração das evidências para a classe benzimidazol só pode ser realizada para os efeitos genotóxicos, através dos dois estudos experimentais *in vitro*, um *in vivo* e um epidemiológico.



### 5.3.1.1 Genotoxicidade

#### 5.3.1.1.1 Integração das evidências para estudos experimentais

- Consistência

Os resultados encontrados sobre o composto benzimidazol são contraditórios e inconsistentes. Embora a substância tenha sido mutagênica para cepas da bactéria *Salmonella typhimurium* em experimentos *in vitro* (SEILER, 1972), o composto não provocou nenhuma alteração genética (perda cromossômica) em culturas de fungos *Saccharomyces cerevisiae* (GOIN; MAYER, 1995), espécie alvo do composto benzimidazol.

O único estudo experimental *in vivo* com animais (camundongos ICR) também apresentou resultados negativos quanto a genotoxicidade da substância, tendo em vista que não foi observado nenhum aumento na indução de micronúcleos (SEILER, 1976).

- Magnitude

Não foi possível avaliar a magnitude dos estudos experimentais sobre a genotoxicidade do composto benzimidazol, tendo em vista que nenhuma análise estatística foi realizada para comparar quantitativamente os resultados entre a cultura/grupo exposto e o seu respectivo controle negativo.

- Especificidade

Nenhum dos estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* avaliaram a reversibilidade dos efeitos genotóxicos caso a exposição ao benzimidazol fosse interrompida.

- Temporalidade

Em todos os estudos, a relação de temporalidade foi bem definida, já que os efeitos foram avaliados após a exposição ao composto benzimidazol. Embora nenhuma análise tenha sido realizada antes da exposição, as culturas/animais tratados com a substância foram comparados com o controle negativo, que estavam sob as mesmas condições/tratamento, com exceção do fator exposição.

- Resposta à exposição

Não se justifica uma avaliação da relação exposição-resposta no estudo experimental *in vivo* com camundongos (SEILER, 1976) e *in vitro* com fungos (GOIN; MAYER, 1995), dada a sua consistência em mostrar a falta de indução de efeitos genotóxicos após a exposição ao benzimidazol. O único estudo que apresentou resultados positivos para a mutagenicidade não

observou uma relação dose-resposta em modelos experimentais *in vitro*, tendo em vista a ausência de análises estatísticas.

- Concordância biológica

O composto benzimidazol foi desenvolvido com a finalidade, principalmente, de atuar como fungicida sistêmico, através da ligação à tubulina e bloqueio da polimerização do microtúbulo. Nesse contexto, os resultados negativos do composto para a genotoxicidade não apresentam concordância biológica, tendo em vista que o mecanismo de ação atua diretamente em etapas importantes, como a divisão celular, e o bloqueio dessas ações pode resultar em alterações genéticas.

- Analogia

Em concentrações semelhantes, compostos da classe, como o albendazol, fembendazol, mebendazol, oxibendazol e tiabendazol (GOIN; MAYER, 1995), induziram perda cromossômica em culturas de *Saccharomyces cerevisiae*, contrariando o efeito negativo encontrado para a substância benzimidazol.

A capacidade de induzir mutações em cepas de *Salmonella typhimurium* também foi observada em análogos estruturais da classe, sob condições semelhantes, como: benomil (KAPPAS *et al.*, 1976) e carbendazim (ALBERTINI, 1989; SARRIF *et al.*, 1994; SEILER, 1972). Em contrapartida, um estudo publicado por Adler e colaboradores (1991), que avaliaram camundongos tratados pela mesma via (intraperitoneal) do estudo experimental *in vivo* com benzimidazol (SEILER, 1976), observaram resultados negativos para a indução de micronúcleo após a exposição ao tiabendazol.

Com base nessa avaliação, os critérios para avaliar se os resultados de estudos experimentais suportam uma relação causal não foram atendidos integralmente e, adicionado a quantidade restrita de artigos, as informações foram inadequadas para determinar a relação de causalidade.

#### **5.3.1.1.2 Integração das evidências entre os domínios**

- Consistência

Levando em consideração a existência de apenas um único estudo epidemiológico sobre uma mistura complexa de compostos benzimidazóis, não foi possível avaliar o aspecto “consistência”.

- Força de associação

Um aumento sutil na frequência de micronúcleos com centrômeros positivos foi observado em floricultores que utilizavam compostos dessa classe química, quando comparado aos não usuários, entretanto diferenças estatísticas não foram encontradas e fatores de confundimento não foram considerados (BOLOGNESI *et al.*, 2004). Dessa forma, o aspecto “força de associação” não foi atendido para associações positivas entre a exposição ao benzimidazol e a genotoxicidade.

- Coerência

A evidência epidemiológica, que demonstra um pequeno aumento na frequência de micronúcleos em floricultores expostos à benzimidazóis (BOLOGNESI *et al.*, 2004), não é coerente com estudo experimental *in vivo*, que opostamente demonstrou uma redução na frequência de micronúcleos com o aumento da dose do composto, atuando como um fator protetivo contra a genotoxicidade (SEILER, 1976).

- Plausibilidade biológica

Conforme indicado acima, a evidência experimental é inadequada para avaliar a causalidade e, portanto, não é possível avaliar o aspecto de plausibilidade biológica.

- Gradiente biológico

Além da exposição ter sido somente autorrelatada pelos participantes da pesquisa, não houve caracterização dos níveis/faixas de exposição dos compostos, apenas a divisão de "usuários de benzimidazóis" e "outros" e, portanto, não foi possível avaliar o aspecto “gradiente biológico” e a relação exposição-desfecho.

- Temporalidade

A relação de temporalidade não foi bem estabelecida porque o único estudo epidemiológico incluído é do tipo transversal e, conseqüentemente, não é possível confirmar que a exposição precedeu o efeito, já que a avaliação foi realizada em um recorte temporal e nenhum período de seguimento foi avaliado.

- Especificidade

Evidências que relacionam uma exposição e um resultado específico podem fortalecer uma inferência causal, porém qualquer desfecho pode possuir múltiplas causas. O micronúcleo não é um efeito genotóxico específico da exposição à benzimidazóis, pelo contrário, diversos fatores e substâncias induzem essas alterações. Nesse contexto, o aspecto de especificidade para associações entre exposição ao benzimidazol e efeitos genotóxicos não é atendido.

- Analogia

Existem poucos estudos epidemiológicos sobre as substâncias da classe benzimidazol. Apenas uma coorte prospectiva investigou a exposição ao benomil e a ocorrência de aberrações cromossômicas numéricas, encontrando uma relação positiva temporária (NEHÉZ; DÉSI, 1996). Baseado na única evidência epidemiológica disponível, o aspecto de analogia foi parcialmente atendido, tendo em vista a carência de informações e as fragilidades do estudo.

- Evidência experimental

Não há evidências experimentais especificamente para exposição ao benzimidazol que forneçam evidências de alterações na frequência do evento investigado após mudanças da exposição.

### **5.3.1.1.3 Conclusão causal**

A grande maioria dos aspectos de Bradford Hill não foram atendidos ou não puderam ser analisados devido à escassez de informações. Assim, a evidência como um todo foi inadequada para determinar a relação causal entre a exposição ao benzimidazol e a genotoxicidade.

## **5.3.2 Benomil**

A integração das evidências para o composto benomil ocorreu para os três efeitos investigados (genotoxicidade, imunotoxicidade e carcinogenicidade), devido a existência concomitante de estudos experimentais (*in vitro* e *in vivo*) e epidemiológicos sobre tema.

### **5.3.2.1 Genotoxicidade**

Foram incluídos na revisão 26 estudos experimentais *in vitro* e nove *in vivo* que avaliaram a capacidade do benomil em induzir efeitos genotóxicos, além de um estudo epidemiológico.

#### **5.3.2.1.1 Integração das evidências para estudos experimentais**

- Consistência

Embora algumas inconsistências tenham sido encontradas, a maioria dos resultados apresentados pelos artigos confluem para uma relação positiva entre a exposição ao benomil e a ocorrência de danos genotóxicos em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*.

A maior parcela dos estudos experimentais *in vitro* demonstraram que o composto

investigado não possui atividade mutagênica na maioria das cepas bacterianas (CARERE *et al.*, 1978; FICSOR; BORDAS; STEWART, 1978; GEORGIEVA *et al.*, 1990; KAPPAS *et al.*, 1976; KVELLAND, 1982; SARRIF *et al.*, 1994) e fúngicas testadas (ALBERTINI; BRUNNER; WÜRGLER, 1993; BIANCHI *et al.*, 1994; BERTOLDI *et al.*, 1980; KAPPAS; BRIDGES, 1981), o que foi confirmado em estudos experimentais *in vivo* com animais tratados pela via oral (gavagem e alimentar) com benomil (GEORGIEVA *et al.*, 1990; SHERMAN; CULIK; JACKSON, 1975). Uma relação positiva entre a exposição e a ocorrência de mutações só foi observada em cepas de bactérias (KAPPAS *et al.*, 1976) e fungos (KAPPAS; BRIDGES, 1981) com deficiência de excisão e sensível a UV, demonstrando que a lesão pré-mutagênica, provocada pela substância, é suscetível ao reparo por excisão.

Em modelos experimentais *in vitro*, efeitos genotóxicos como má segregação cromossômica, distúrbios mitóticos e aberrações no fuso foram observados em culturas de células de fungos (ALBERTINI, 1991; ALBERTINI; BRUNNER; WÜRGLER, 1993), vegetais (NICOLOFF; KAPPAS, 1987), animais e humanos (KOCHENDÖRFER *et al.*, 1996), respectivamente. Eventos de poliploidia e troca de cromátides irmãs também foram demonstrados em modelos experimentais *in vitro* (ATHWAL; SANDHU, 1985; DOLARA *et al.*, 1992; GEORGIEVA *et al.*, 1990; ZELESCO; BARBIERI; GRAVES, 1990) e *in vivo* (AMER; DONYA; ALY, 2003; MAILHES; AARDEMA, 1992).

Todas as evidências disponíveis demonstraram haver uma associação direta entre a exposição ao composto benomil e o aumento na frequência de células aneuplóides, em modelos experimentais *in vitro* com linhagens celulares de fungos (HOWLETT; SCHIESTL, 2000), animais (GIBSON *et al.*, 1995; RAINALDI *et al.*, 1987), humanos (GEORGIEVA *et al.*, 1990; RAIMONDI *et al.*, 1989) e híbridos (ATHWAL; SANDHU, 1985; ZELESCO; BARBIERI; GRAVES, 1990), inclusive em uma pesquisa *in vivo* com camundongos ICR, tratadas com doses únicas de benomil pela via oral (gavagem) (MAILHES; AARDEMA, 1992).

Culturas de células de animais (EASTMOND; TUCKER, 1989; ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013; PIATTI; MARABINI; CHIESARA, 1994; STERNES; VIG, 1989) e de humanos (KOCHENDÖRFER *et al.*, 1996) tratadas com a substância da classe apresentaram uma maior frequência de micronúcleos, assim como experimentos *in vivo* com ratos (GEORGIEVA *et al.*, 1990) e camundongos (BARALE *et al.*, 1993; SARRIF *et al.*, 1994; SEILER, 1976).

Por fim, a relação entre a exposição ao benomil e aberrações cromossômicas foi divergente entre os estudos encontrados. Em uma pesquisa *in vitro* com linfócitos humanos, foi evidenciado resultados negativos para o efeito (GEORGIEVA *et al.*, 1990), assim como em

camundongos albinos suíços machos expostos *in vivo* a uma alta concentração (BARALE *et al.*, 1993). Contraditoriamente, modelos *in vivo* com vegetais *A. cepa*, *A. sativum* e *Vicia faba* (SHARMA; KAUR, 1990) e animais mamíferos (camundongos suíços brancos e ratos albinos) (ADHIKARI; GROVER, 1988; AMER; DONYA; ALY, 2003) apresentaram um aumento na frequência de aberrações cromossômicas após a exposição ao benomil.

- Magnitude

Baseado nos diferentes efeitos genotóxicos que o benomil demonstrou induzir em modelos experimentais *in vitro*, existe uma forte relação entre a exposição e a ocorrência de: má segregação cromossômica em culturas fúngicas (ALBERTINI, 1991; ALBERTINI; BRUNNER; WÜRGLER, 1993); aneuploidia em células de fungos (HOWLETT; SCHIESTL, 2000), animais (GIBSON *et al.*, 1995) e humanos (GEORGIEVA *et al.*, 1990); micronúcleo em células de animais (EASTMOND; TUCKER, 1989; ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013; PIATTI; MARABINI; CHIESARA, 1994) e humanos (BIANCHI-SANTAMARIA *et al.*, 1997); e troca de cromátides irmãs em culturas de linfócitos humanos (GEORGIEVA *et al.*, 1990).

Em relação as pesquisas experimentais *in vivo*, a maioria dos estudos com animais mamíferos expostos ao benomil apresentaram uma forte magnitude no que diz respeito a eventos como: aneuploidia e poliplodia (BARALE *et al.*, 1993; MAILHES; AARDEMA, 1992); micronúcleo (BARALE *et al.*, 1993; GEORGIEVA *et al.*, 1990; SARRIF *et al.*, 1994); troca de cromátides irmãs (AMER; DONYA; ALY, 2003); e aberrações cromossômicas (ADHIKARI; GROVER, 1988; AMER; DONYA; ALY, 2003).

Em todos os artigos citados, a magnitude do efeito foi avaliada através de análises estatísticas entre os grupos de estudos, onde observou-se diferenças estatisticamente significativas entre as culturas/animais tratados com benomil e o seu respectivo controle negativo. No geral, as evidências confluíram para uma grande magnitude na associação entre efeitos genotóxicos e a exposição a substância de interesse.

- Especificidade

Todos os estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* não avaliaram a reversibilidade dos efeitos genotóxicos caso a exposição ao benomil fosse interrompida, com exceção da pesquisa desenvolvida por Rainaldi e colaboradores (1987). Após a interrupção do período de exposição (doze horas), as culturas de células de hamster chinês V79/AP4 passaram por um período de recuperação, em meio limpo, por mais duas, quatro, seis e oito horas. Nas concentrações

testadas (2,5 e 10 µg/mL) houve um aumento na frequência de células aneuplóides em relação ao aumento do tempo de recuperação, ou seja, mesmo após a cessação da exposição, os efeitos encontrados não foram reversíveis, pelo contrário, elevaram com o passar do tempo.

Baseado neste único estudo, o critério de especificidade é atendido para o evento de aneuploidia investigado. Entretanto, é necessário ter cautela na generalização dos achados, tendo em vista a falta de informações sobre essa questão.

- Temporalidade

Em todos os estudos, a relação de temporalidade foi bem definida, tendo em vista que os efeitos foram avaliados após a exposição ao benomil. Assim como ocorrido com o composto benzimidazol, embora nenhuma análise tenha sido realizada antes da exposição, as culturas/animais tratados com o ingrediente ativo foram comparados com o controle negativo, que estavam sob as mesmas condições de tratamento, com exceção do fator exposição.

- Resposta à exposição

A maior parcela dos estudos que encontraram uma relação positiva entre a exposição ao benomil e efeitos genotóxicos, também demonstraram haver um aumento da resposta com o aumento das concentrações do composto. Pesquisas realizadas a partir de modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* elucidaram um aumento dose-dependente de eventos como má segregação cromossômica (ALBERTINI, 1991; ALBERTINI; BRUNNER; WÜRGLER, 1993), aneuploidia (BENTLEY *et al.*, 2000; GIBSON *et al.*, 1995; HOWLETT; SCHIESTL, 2000), micronúcleo (EASTMOND; TUCKER, 1989; ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013; PIATTI; MARABINI; CHIESARA, 1994), aberrações cromossômicas (ADHIKARI; GROVER, 1988; SHARMA; KAUR, 1990) e trocas de cromátides irmãs (AMER; DONYA; ALY, 2003), em diferentes organismos (fungos, vegetais, animais e humanos). Neste caso, o critério de resposta à exposição foi atendido.

- Concordância biológica

Como mencionado anteriormente, o composto benomil foi desenvolvido para atuar como fungicida, através do bloqueio da polimerização dos microtúbulos dos fungos, o que impede, portanto, a sua replicação. Nessa circunstância, os resultados positivos do composto para a genotoxicidade apresentam concordância biológica bem estabelecida, já que, como o benomil atua diretamente na tubulina, o bloqueio dessa estrutura resulta em eventos genotóxicos, como os mencionados anteriormente (aneuploidia, micronúcleo, má segregação cromossômica, troca de cromátides irmãs, poliploidia etc.), não só em fungos, como em outros

organismos vivos (animais, vegetais, humanos).

- Analogia

Estudos com outros fungicidas da classe benzimidazol, como por exemplo o carbendazim, que atuam através do mesmo mecanismo de ação, também encontraram resultados positivos para a genotoxicidade *in vitro* e *in vivo* (BARALE *et al.*, 1993), como eventos de aneuploidia e poliploidia (DE STOPPELAAR *et al.*, 2000), micronúcleo (ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013), aberração cromossômica (VIGREUX *et al.*, 1998) e troca de cromátides irmãs (PANDITA, 1988).

Concomitante, achados contraditórios em relação a mutagenicidade também foram observados para o composto carbendazim, com associações positivas para cepas de *Salmonella typhimurium* hisG46 e negativas para *Salmonella typhimurium* TA100, TA1530, TA1535 e TA1950 (FICSOR; BORDAS; STEWART, 1978).

Com base nessa avaliação, todos os critérios para avaliar se os resultados de estudos experimentais suportam a causalidade foram completamente/parcialmente atendidos e, portanto, as informações determinam uma relação de causalidade entre a exposição ao benomil e efeitos genotóxicos.

#### 5.3.2.1.2 Integração das evidências entre os domínios

- Consistência

Levando em consideração a existência de apenas um único estudo epidemiológico sobre a exposição ao benomil e a ocorrência de efeitos genotóxicos, não foi possível avaliar o aspecto “consistência”.

- Força de associação

Após 48 horas da exposição ao benomil, as alterações cromossômicas numéricas aumentaram sutilmente, mas estatisticamente significativa, nos trabalhadores, em comparação com o grupo de controle. Entretanto, após um ano de cessação da exposição, os resultados voltaram ao nível quantificado antes da pulverização e, portanto, o aspecto de “força de associação” foi atendido parcialmente (NEHÉZ; DÉSI, 1996).

- Coerência

A evidência epidemiológica que demonstra um aumento na frequência de aberrações cromossômicas numéricas em trabalhadores expostos ao benomil (NEHÉZ; DÉSI, 1996) é consistente com estudos experimentais *in vitro* com células de vegetais e animais, que também



encontraram uma relação positiva. Opostamente, resultados negativos foram observados em cultura de linfócitos humanos (GEORGIEVA *et al.*, 1990) e em animais tratados com benomil (BARALE *et al.*, 1993).

O aspecto “coerência” foi parcialmente atendido, entretanto é importante ter cautela na generalização dos resultados.

- Plausibilidade biológica

Conforme indicado acima, a avaliação da evidência experimental suporta a relação de causalidade entre genotoxicidade e a exposição ao benomil, tendo em vista a associação positiva em modelos experimentais *in vitro* com células de fungos, animais e humanos e em pesquisas *in vivo* com animais expostos. Com base nessa conclusão, o aspecto de “plausibilidade biológica” é atendido para associações positivas entre a exposição ao composto e a ocorrência de efeitos genotóxicos.

- Gradiente biológico

Além da exposição ter sido somente autorrelatada pelos participantes da pesquisa – sem a quantificação dos níveis por métodos diretos e indiretos –, não houve caracterização dos níveis de exposição do benomil, apenas a divisão de "pulverizadores do composto" e "controle" e, portanto, não foi possível avaliar o aspecto “gradiente biológico” e a relação exposição-desfecho.

- Temporalidade

A relação de temporalidade foi bem estabelecida, levando em consideração o desenho de estudo epidemiológico do tipo coorte prospectiva e, sendo assim, a exposição ao benomil precedeu a ocorrência do desfecho. Por se tratar de um efeito agudo, o período seguimento da pesquisa curto não foi um empecilho para que o aspecto “temporalidade” fosse atendido.

- Especificidade

Assim como mencionado anteriormente, os efeitos genotóxicos podem ocorrer por múltiplas causas. A aberração cromossômica, investigada no estudo Nehéz e Dési (1996), não é um biomarcador de efeito específico da exposição ao benomil e, por este motivo, o aspecto de “especificidade” para associações entre exposição ao composto e a genotoxicidade não foi atendido.

- Analogia

Existem poucos estudos epidemiológicos que relacionam a exposição as substâncias da

classe benzimidazol e a genotoxicidade. Além desse estudo sobre o benomil, apenas um estudo transversal identificado encontrou porcentagens mais elevadas de um efeito genotóxico (MN C+) em floricultores usuários de uma mistura complexa de benzimidazóis. Baseado nessa única evidência epidemiológica disponível, o aspecto de analogia foi parcialmente atendido, tendo em vista a carência de informações, fragilidades e diferenças entre os estudos.

- Evidência experimental

Não há evidências experimentais especificamente para exposição ao benomil que forneçam evidências de alterações na frequência dos eventos genotóxicos após mudanças da exposição.

#### **5.3.2.1.3 Conclusão causal**

A maioria dos aspectos de Bradford Hill (mais de 50%) foram atendidos por completo ou parcialmente, mas é importante salientar que apenas um único estudo epidemiológico fez parte dessa avaliação, destacando a carência de pesquisas sobre o tema. Dessa forma, é mais provável que a evidência disponível (experimental e epidemiológica) entre a exposição ao benomil e a genotoxicidade demonstre uma sugestão de causalidade.

#### **5.3.2.2 Imunotoxicidade**

Nesta revisão sistemática, foi incluído um único estudo experimental *in vitro* e três epidemiológicos sobre a capacidade imunotóxica do composto benomil.

##### **5.3.2.2.1 Integração das evidências para estudos experimentais**

- Consistência

Como a consistência analisa a repetibilidade dos principais eventos e efeitos em espécies/projetos de estudo, o único estudo experimental *in vitro* identificado não permitiu a avaliação desse critério.

- Magnitude

Embora Ohnishi e colaboradores (2008), em comparação ao controle negativo, tenham encontrado maiores taxas de inibição da ativação do promotor do IFN- $\beta$ , em culturas de células de camundongos tratadas com benomil, nenhuma diferença estatística foi realizada, e por conseguinte, o critério “magnitude” não foi pode ser avaliado.

- Especificidade

O estudo de Ohnishi e colaboradores (2008) não avaliou a reversibilidade dos efeitos imunotóxicos após a interrupção da exposição ao benomil e, deste modo, não foi possível analisar o critério “especificidade”.

- Temporalidade

Embora nenhuma análise tenha sido realizada antes da exposição, a mesma ocorreu antes da avaliação dos efeitos imunotóxicos, que foram comparados com o controle negativo – grupos que estavam sob as mesmas condições de tratamento, com exceção do fator exposição. Nesse sentido, a relação de temporalidade entre os fatores foi atendida.

- Resposta à exposição

De acordo com Ohnishi e colaboradores (2008), o benomil inibiu a ativação do promotor do IFN- $\beta$  de maneira dependente da concentração, quando comparado ao controle, mas nenhuma análise estatística foi realizada para avaliar a relação dose-resposta e, por isso, o critério de “resposta à exposição” foi parcialmente atendido.

- Concordância biológica

Como já mencionado, o benomil atua como fungicida através do bloqueio da polimerização dos microtúbulos dos fungos. O mecanismo de ação do composto pode resultar em alterações genéticas em organismos, tendo em vista o sítio alvo da substância. Não existem evidências biológicas que demonstrem a ação do benomil no sistema imune, como observado no estudo de Ohnishi e colaboradores (2008).

Embora o benomil não seja utilizado para esta finalidade, muitos compostos da classe benzimidazol atuam como anti-helmínticos para humanos e animais, através da interferência no metabolismo energético dos parasitas. Por se tratar de um medicamento que atua no tratamento de parasitoses – situação de saúde em que os seres vivos estão vulneráveis – não é adequado e cabível que compostos dessa classe provoquem depressão do sistema imune, como observado no estudo de Ohnishi e colaboradores (2008).

Nesse contexto, adicionado de informações escassas, as evidências foram inadequadas para avaliar a concordância biológica.

- Analogia

Poucos estudos avaliaram experimentalmente a ação de compostos benzimidazóis no promotor do IFN- $\beta$ , importante glicoproteína no sistema imune dos organismos. Um estudo *in vivo* com larvas de peixe-zebra, tratadas por 96 horas com carbendazim, não demonstrou

nenhum efeito na transcrição de IFN- $\beta$  (JIANG *et al.*, 2014). Em contrapartida, larvas da mesma espécie, expostas por um período maior (4 e 8 dias), apresentaram um aumento significativo no nível de transcrição de IFN- $\beta$ , atuando como um estimulador do sistema imunológico. Perante esses achados antagonistas ao estudo com benomil, o critério “analogia” não foi atendido.

Com base nessa avaliação e, adicionado da quantidade limitada de artigos, as informações foram inadequadas para determinar a relação de causalidade.

#### 5.3.2.2.2 *Integração das evidências entre os domínios*

- **Consistência**

Os resultados encontrados sobre o composto benomil são contraditórios e inconsistentes. Embora Matsushita e Aoyama (1981) tenha demonstrado que a maior incidência de reação positiva para o teste de contato com benomil foi observada em mulheres agricultoras na área de Bansei, onde se utilizava este fungicida, outros dois estudos apresentaram resultados negativos em relação a ocorrência de dermatite após o teste de contato com o composto (LISI *et al.*, 1986; PENAGOS, 2002). Sendo assim, o aspecto “consistência” não foi atendido.

- **Força de associação**

Análises estatísticas não foram realizadas em nenhum dos três estudos epidemiológicos apresentados e, portanto, não foi possível avaliar o aspecto de “força de associação”.

- **Coerência**

Embora desfechos diferentes sejam avaliados, a evidência epidemiológica que demonstra um resultado positivo para a ocorrência de dermatite após o teste de contato com o benomil (MATSUSHITA; AOYAMA, 1981) é coerente com a inibição da transcrição do INF- $\beta$  em experimentos *in vitro*, tendo em vista que ambos observam efeitos imunotóxicos do composto (OHNISHI *et al.*, 2008). Entretanto, a classificação da evidência experimental como inadequada para determinar uma relação causal, adicionado de estudos epidemiológicos que demonstrem resultados negativos a ocorrência de dermatite após o contato com a substância, resulta na impossibilidade de avaliar o aspecto “coerência”.

- **Plausibilidade biológica**

Conforme indicado acima, a evidência experimental é inadequada para avaliar a causalidade e, portanto, não é possível avaliar o aspecto “plausibilidade biológica”.

- **Gradiente biológico**

Gradientes de exposição não foram avaliados em nenhum estudo epidemiológico sobre a imunotoxicidade do benomil e, dessa forma, não foi possível avaliar o aspecto “gradiente biológico” e a relação exposição-desfecho.

- Temporalidade

Levando em consideração que os três estudos epidemiológicos são do tipo transversais, não é possível afirmar que a exposição precedeu o efeito e, portanto, relação de temporalidade não foi bem estabelecida.

- Especificidade

Alterações na transcrição de IFN- $\beta$ , dermatite de contato e outros efeitos imunotóxicos podem ser induzidos por diferentes fatores e substâncias e, por este motivo, o aspecto “especificidade” para associações entre exposição ao benomil e a imunotoxicidade não foi atendido.

- Analogia

Existem poucos estudos epidemiológicos que relacionam a exposição as substâncias da classe benzimidazol e a imunotoxicidade. Em relação a ocorrência de dermatite de contato, as demais evidências também são contraditórias, enquanto que observou-se uma relação negativa entre a exposição ao carbendazim e a ocorrência de reações alérgicas (SHARMA *et al.*, 1990), um estudo realizado por Penagos (2002) demonstrou um aumento de resultados positivos no teste de contato com tiabendazol em indivíduos expostos a pesticidas.

Nesse contexto, o aspecto “analogia” foi parcialmente atendido, tendo em vista a carência de informações, as contradições, fragilidades e diferenças entre os estudos.

- Evidência experimental

Não há evidências experimentais especificamente para exposição ao benomil que forneçam evidências de alterações na frequência de eventos após mudanças da exposição.

### **5.3.2.2.3 Conclusão causal**

Com exceção da “analogia”, todos os aspectos de Bradford Hill ou não foram atendidos ou não puderam ser avaliados, devido à carência de pesquisas e informações. Desta maneira, a evidência como um todo foi inadequada para determinar a relação causal entre a exposição ao benomil e a imunotoxicidade.

### 5.3.2.3 Carcinogenicidade

Nesta revisão sistemática, foram incluídos um único estudo experimental *in vivo* e três epidemiológicos sobre a capacidade carcinogênica do composto benomil.

#### 5.3.2.3.1 Integração das evidências para estudos experimentais

- Consistência

O único estudo experimental *in vivo* identificado não permitiu a avaliação do critério, tendo em vista que a consistência analisa a repetibilidade dos principais eventos e efeitos em espécies/projetos de estudo.

- Magnitude

O único estudo *in vivo* realizado com camundongos suíços expostos, por 180 dias, pela via oral ao benomil não demonstrou nenhuma atividade carcinogênica do composto (BÖRZSÖNYI; PINTÉR, 1977). Como nenhuma análise estatística foi realizada, não foi possível avaliar a magnitude da falta de associação entre a exposição ao ingrediente ativo e o câncer.

- Especificidade

O estudo de Börzsönyi e Pintér (1977) não avaliou a reversibilidade dos efeitos após a interrupção da exposição ao benomil e, deste modo, não foi possível analisar o critério “especificidade”.

- Temporalidade

A relação de temporalidade foi bem definida, tendo em vista que os efeitos foram avaliados após a exposição ao composto benomil. Embora nenhuma análise tenha sido realizada antes da exposição, os animais tratados com a substância foram comparados com o grupo controle, que estavam sob as mesmas condições de tratamento, com exceção do fator exposição.

- Resposta à exposição

Dada a consistência do estudo experimental em mostrar a falta de indução de tumores mediante a exposição ao benomil e a avaliação de apenas uma dose do composto (600 mg/kg), não foi possível analisar o critério “resposta à exposição”.

- Concordância biológica

Como detalhado anteriormente, o mecanismo de ação do fungicida benomil e as

evidências disponíveis demonstraram que é provável que todas as evidências disponíveis demonstrem uma sugestão de causalidade entre exposição e genotoxicidade.

Não está claro a partir dos estudos mecanicistas disponíveis se danos ao DNA ocasionados pela exposição ao benomil podem levar à carcinogênese, embora mecanismos plausíveis para isso tenham sido hipotetizados para pesticidas e outras substâncias. De acordo com a IARC (SMITH *et al.*, 2016), a genotoxicidade de um composto é uma característica relevante para o mecanismo do câncer, por estar relacionada diretamente com a iniciação dessa doença – através de mutações, aberrações cromossômicas, deleções, duplicações, micronúcleos, quebra cromossômica etc.

Baseado nas informações limitadas, as evidências foram inadequadas para avaliar a concordância biológica.

- Analogia

Diferentes concentrações de carbendazim (BÖRZSÖNYI *et al.*, 1976; BÖRZSÖNYI; CSIK, 1975; BÖRZSÖNYI; PINTÉR, 1977) e de tiabendazol (TADA *et al.*, 2001) não foram capazes de induzir nenhuma formação de tumor, concordando com a evidência relativa ao benomil.

Após a avaliação, as evidências experimentais foram consideradas inadequadas para determinar a relação de causalidade entre exposição ao benomil e a carcinogenicidade.

#### **5.3.2.3.2 Integração das evidências entre os domínios**

- Consistência

Os resultados encontrados sobre o composto benomil são consistentes e os três estudos epidemiológicos incluídos apresentaram uma relação entre a exposição ao benomil e a ocorrência de alguns cânceres específicos. Exposições ao composto provocaram um aumento na incidência de: melanoma cutâneo em aplicadores de pesticidas (DENNIS *et al.*, 2010); leucemia infantil em crianças previamente expostas pela via parental (MONGE *et al.*, 2007); e câncer de mama em aplicadoras de pesticidas (WERDER *et al.*, 2020).

- Força de associação

Associações estatisticamente significativas só foram observadas para leucemia infantil (MONGE *et al.*, 2007) e melanoma cutâneo (DENNIS *et al.*, 2010). O estudo desenvolvido por Werder e colaboradores (2020) embora tenha encontrado um aumento na incidência de câncer de mama, esse resultado não foi estatisticamente significativo.

Entretanto, é importante destacar que esses indivíduos podem ter contato com múltiplas substâncias e, portanto, a ocorrência do câncer pode não estar associada somente a exposição ao benomil. Adicionalmente, vieses identificados ao longo do estudo enfraquecem a associação. Dessa forma, o aspecto “força de associação” não foi atendido.

- Coerência

A evidência experimental não é coerente com a associação positiva entre a exposição ao benomil e a carcinogenicidade encontrada nos estudos epidemiológicos.

- Plausibilidade biológica

Conforme indicado acima, a evidência experimental é inadequada para avaliar a causalidade e, portanto, não é possível avaliar o aspecto “plausibilidade biológica”.

- Gradiente biológico

O estudo desenvolvido por Dennis e colaboradores (2010) foi o único que avaliou e encontrou uma relação dose-resposta com melanoma cutâneo entre os aplicadores, tendo em vista que indivíduos expostos ao benomil por menos de 133 dias de exposição não apresentaram associação com a ocorrência desse câncer, diferentemente daqueles expostos por mais de 133 dias. Entretanto, é importante destacar que a exposição foi autorrelatada pelos indivíduos e que nenhuma quantificação direta dos níveis foi realizada. As demais pesquisas (MONGE *et al.*, 2007; WERDER *et al.*, 2020) não avaliaram níveis/faixas de exposição e, sendo assim, o aspecto “gradiente biológico” não foi atendido.

- Temporalidade

A pesquisa de Monge e colaboradores (2007) por ser um estudo observacional retrospectivo do tipo caso-controle não assegura que a exposição ao benomil precedeu o desfecho e, portanto, a manifestação do câncer pode estar associada a outros causas. Todavia, as coortes prospectivas de aplicadores de pesticidas (DENNIS *et al.*, 2010; WERDER *et al.*, 2020) podem discernir a relação de temporalidade, devido ao fato de a exposição preceder o desfecho. Dessa forma, o aspecto “temporalidade” foi parcialmente atendido.

- Especificidade

Tendo em vista o processo que leva à formação do câncer – mutações genéticas, por exemplo – diversos fatores e substâncias podem provocar esse tipo de alteração e, por isso, não se trata de uma condição de saúde específica da exposição ao benomil.



- Analogia

Além desta apresentada, a única evidência epidemiológica relacionada a carcinogenicidade das substâncias incluídas nesta revisão trata-se do tiofanato-metílico, um composto que não pertence a classe benzimidazol, mas é um importante precursor do carbendazim, atuando através do mesmo mecanismo de ação. Através de um estudo caso-controle observou-se riscos elevados para astrocitoma difusa e ependimoma em crianças expostas ao tiofanato-metílico durante a gravidez e/ou durante a vida (LOMBARDI *et al.*, 2021). Portanto, o aspecto “analogia” foi atendido.

- Evidência experimental

Não há evidências experimentais especificamente para exposição ao benomil que forneçam evidências de alterações na frequência do desfecho após mudanças na exposição.

#### 5.3.2.3.3 Conclusão causal

Embora alguns aspectos de Bradford Hill não tenham sido atendidos ou não puderam ser avaliados, uma parte significativa foi atendida, indicando que é mais provável que a evidência relacionada a exposição ao benomil e a carcinogenicidade seja sugestiva de causalidade.

### 5.3.3 Carbendazim

A integração das evidências para o carbendazim ocorreu apenas para a capacidade imunotóxica do composto, devido a existência concomitante de estudos experimentais (*in vivo*) e epidemiológicos sobre tema.

#### 5.3.3.1 Imunotoxicidade

Foram incluídos na revisão quatro estudos experimentais *in vivo* e um epidemiológico que avaliaram a capacidade do carbendazim em induzir efeitos imunotóxicos.

##### 5.3.3.1.1 Integração das evidências para estudos experimentais

- Consistência

Os resultados dos estudos sobre a imunotoxicidade do carbendazim se opõe e não permitem que o critério “consistência” seja plenamente atendido. Em larvas de peixe-zebra e ratas, o composto aumentou a expressão de proteínas e células relevantes para a imunidade (HASHIM *et al.*, 2018; JIANG *et al.*, 2015). Em contrapartida, o carbendazim atuou como um imunossupressor em aves, através da redução da proliferação de linfócitos, imunoglobulinas e

anticorpos responsáveis pela resposta imune (SINGHAL *et al.*, 2003), e em larvas de peixe-zebra, reduzindo o nível de transcrição de CCL1, interleucina 1b e fator de necrose tumoral alfa (JIANG *et al.*, 2014).

- Magnitude

No geral, uma avaliação da magnitude dos efeitos em todos os estudos experimentais não se justifica, dada a sua consistência em mostrar a falta de indução de supressão no sistema imune após a exposição ao carbendazim (HASHEM *et al.*, 2018; JIANG *et al.*, 2015). Apenas dois estudos encontraram uma associação estatisticamente significativa entre a exposição e os efeitos imunotóxicos (JIANG *et al.*, 2014; SINGHAL *et al.*, 2003).

- Especificidade

Nenhum dos estudos experimentais *in vivo* avaliou a reversibilidade dos efeitos imunotóxicos caso a exposição ao carbendazim fosse interrompida.

- Temporalidade

Embora nenhuma análise tenha sido realizada antes da exposição, os animais tratados com a substância foram comparados com o controle negativo, que estavam sob as mesmas condições de tratamento, com exceção do fator exposição. Desta forma, a relação de temporalidade foi bem definida, tendo em vista que os efeitos foram avaliados após a exposição ao composto carbendazim e comparado com seus respectivos controles.

- Resposta à exposição

Não se justifica uma avaliação da relação exposição-resposta no estudo experimental *in vivo* com ratos (HASHEM *et al.*, 2018) e larvas de peixe-zebra (JIANG *et al.*, 2015), dada a sua consistência em mostrar a falta de indução de efeitos imunotóxicos, após a exposição ao carbendazim. Os estudos que apresentaram resultados positivos para a imunotoxicidade não observaram uma relação dose-resposta com o aumento das concentrações (JIANG *et al.*, 2014; SINGHAL *et al.*, 2003).

- Concordância biológica

Assim como para outros compostos da classe benzimidazol, o carbendazim também atua através da inibição da polimerização da tubulina, uma importante proteína no processo de divisão celular, ou seja, a sua inativação pode resultar em diversas alterações no DNA, como demonstrado em estudos experimentais *in vitro* e *in vivo*.

Não está claro a partir dos estudos mecanicistas disponíveis se danos ao DNA

ocasionados pela exposição ao carbendazim podem levar à carcinogênese, mas sabe-se que a genotoxicidade de uma substância está relacionada diretamente com a iniciação dessa doença. Ainda assim, as poucas evidências disponíveis foram inadequadas para avaliar a concordância biológica.

- Analogia

Poucos estudos incluídos na revisão sistemática avaliaram a imunotoxicidade de compostos benzimidazóis. De acordo com Ohnishi e colaboradores (2008), o fungicida benomil também inibiu a ativação do promotor do IFN- $\beta$  em culturas de células de camundongos RAW 264. Além disso, cordeiros tratados com o anti-helmíntico oxfendazol apresentaram uma redução estatisticamente significativa na proliferação de linfócitos (STANKIEWICZ *et al.*, 1994). Ambos os estudos demonstram a atividade imunossupressora de compostos da classe e permite que o critério “analogia” seja atendido.

Levando em consideração que grande parte dos critérios não foram atendidos ou não puderam ser avaliados devido a carência no número de estudos, as evidências experimentais *in vivo* foram inadequadas para determinar a relação de causalidade entre exposição ao carbendazim e a imunotoxicidade.

#### **5.3.3.1.2 Integração das evidências entre os domínios**

- Consistência

Não foi possível avaliar o aspecto “consistência”, levando em consideração a existência de apenas um único estudo epidemiológico sobre a imunotoxicidade do carbendazim.

- Força de associação

Análises estatísticas não foram realizadas no estudo epidemiológico incluído e, portanto, não foi possível avaliar o aspecto de “força de associação”.

- Coerência

Embora desfechos diferentes sejam avaliados, a evidência epidemiológica, que demonstra um resultado negativo para a ocorrência de reação alérgica após o teste de contato com o carbendazim (SHARMA; KAUR, 1990), não é coerente com os efeitos imunotóxicos induzidos em experimentos *in vivo* com aves e larvas de peixe-zebra (JIANG *et al.*, 2014; SINGHAL *et al.*, 2003). Em contrapartida, o achado epidemiológico está de acordo com os estudos desenvolvidos por Hashem e colaboradores (2018) e Jiang e colaboradores (2015), onde o carbendazim não induziu nenhuma alteração negativa no sistema imune dos organismos

avaliados.

Todavia, a classificação da evidência experimental como inadequadas para determinar uma relação causal, adicionado de estudos epidemiológicos que demonstrem resultados negativos para o potencial imunotóxico da substância, resulta na impossibilidade de avaliar o aspecto “coerência”.

- Plausibilidade biológica

Conforme indicado acima, a evidência experimental é inadequada para avaliar a causalidade e, portanto, não é possível avaliar o aspecto “plausibilidade biológica”.

- Gradiente biológico

Gradientes de exposição não foram avaliados no estudo epidemiológico sobre a imunotoxicidade do carbendazim e, dessa forma, não foi possível avaliar o aspecto “gradiente biológico” e a relação exposição-desfecho.

- Temporalidade

Levando em consideração que o estudo desenvolvido por Sharma e Kaur (1990) é um caso-controle e que conseqüentemente todas as informações sobre a exposição e o desfecho já ocorreram antes do início do estudo, não é possível afirmar que a exposição precedeu o efeito e, portanto, a relação de temporalidade não foi bem estabelecida.

- Especificidade

Dermatite de contato e outras reações alérgicas podem ser induzidas por diferentes fatores e substâncias e, por este motivo, o aspecto “especificidade” para associações entre exposição ao carbendazim e a imunotoxicidade não é atendido.

- Analogia

Existem poucos estudos epidemiológicos que relacionam a exposição as substâncias da classe benzimidazol e a imunotoxicidade. Em relação a ocorrência de dermatite de contato, as demais evidências são contraditórias. Enquanto observou-se uma relação negativa entre a exposição ao benomil e a ocorrência de reações alérgicas (LISI; CARAFFINI; ASSALVE, 1986; PENAGOS, 2002), um estudo realizado por Penagos (2002) demonstrou um aumento de resultados positivos no teste de contato com tiabendazol em indivíduos expostos a pesticidas.

Nesse contexto, o aspecto “analogia” foi parcialmente atendido, tendo em vista a carência de informações, as contradições, fragilidades e diferenças entre os estudos.

- Evidência experimental

Não há evidências experimentais especificamente para exposição ao carbendazim que forneçam evidências de alterações na frequência de efeitos imunotóxicos após mudanças da exposição.

#### **5.3.3.1.3 Conclusão causal**

Devido à carência de pesquisas e informações, todos os aspectos de Bradford Hill ou não foram atendidos ou não puderam ser avaliados, com exceção da “analogia”. Desta maneira, a evidência como um todo foi inadequada para determinar a relação causal entre a exposição ao carbendazim e a imunotoxicidade.

### **5.3.4 Tiabendazol**

A integração das evidências para o tiabendazol ocorreu apenas para a capacidade imunotóxica do composto, devido a existência concomitante de estudos experimentais (*in vivo*) e epidemiológicos sobre tema.

#### **5.3.3.1 Imunotoxicidade**

Foram incluídos na revisão três estudos experimentais *in vivo* e um epidemiológico que avaliaram a capacidade do tiabendazol em induzir efeitos imunotóxicos.

##### **5.3.4.1.1 Integração das evidências para estudos experimentais**

- Consistência

Os três estudos experimentais *in vivo* demonstraram que o tiabendazol não possui capacidade imunotóxica em animais mamíferos (DONSKAYA *et al.*, 1982) e não mamíferos (MARTINI *et al.*, 2010), tendo em vista que o ingrediente ativo induziu um aumento na expressão do RNA mensageiro de IL-1 $\beta$  e no desenvolvimento e diferenciação de células linfoides no timo, medula óssea, baço e linfonodos. As evidências são consistentes em demonstrar a ausência de associação entre a exposição ao tiabendazol e a imunotoxicidade.

- Magnitude

No geral, uma avaliação da magnitude dos efeitos em todos os estudos experimentais não se justifica, dada a sua consistência em mostrar a falta de indução de supressão no sistema imune após a exposição ao tiabendazol (DONSKAYA *et al.*, 1982; MARTINI *et al.*, 2010).

- Especificidade

Os estudos incluídos não avaliaram a reversibilidade dos efeitos imunotóxicos após a interrupção da exposição ao tiabendazol e, deste modo, não foi possível analisar o critério “especificidade”.

- Temporalidade

Embora nenhuma análise tenha sido realizada antes da exposição, a mesma ocorreu antes da avaliação dos efeitos imunotóxicos, que foram comparados com o controle negativo – animais sob as mesmas condições de tratamento, com exceção do fator exposição. Nesse sentido, a relação de temporalidade entre os fatores foi atendida.

- Resposta à exposição

Dada a consistência dos estudos experimentais em mostrar a falta de indução de efeitos imunotóxicos mediante a exposição ao tiabendazol, não foi possível analisar o critério “resposta à exposição”.

- Concordância biológica

Não existem evidências biológicas que demonstrem a ação do tiabendazol no sistema imune. Entretanto, tal composto, além de atuar como fungicida, também é utilizado como anti-helmíntico para humanos e animais, através da interferência no metabolismo energético dos parasitas. Por ser aplicado para o tratamento de patologias, não é adequado que o composto provoque depressão do sistema imune em indivíduos que já enfrentam outros problemas de saúde – como a parasitose.

Nesse contexto, as evidências de não associação entre a exposição ao tiabendazol e a imunotoxicidade garante que o critério “concordância biológica” seja atendido.

- Analogia

A maioria dos estudos que avaliaram experimentalmente a ação de compostos benzimidazóis no sistema imune encontraram resultados positivos para ação imunotóxica dessas substâncias, o que contraria os resultados apresentados nessa seção. A pesquisa desenvolvida por Jiang e colaboradores (2015) é a única que está de acordo com os dados encontrados para o ingrediente ativo, observando um aumento no nível de transcrição de glicoproteínas e interleucinas importantes para o sistema imunológico. Perante esses achados, opositos e escassos, o critério “analogia” não foi atendido.

Com base nessa avaliação as informações foram inadequadas para determinar a relação de causalidade.

#### 5.3.4.1.2 Integração das evidências entre os domínios

- Consistência

Levando em consideração a existência de apenas um único estudo epidemiológico sobre a imunotoxicidade do tiabendazol, não foi possível avaliar o aspecto “consistência”.

- Força de associação

Análises estatísticas não foram realizadas no estudo epidemiológico incluído e, portanto, não foi possível avaliar o aspecto “força de associação”.

- Coerência

Embora desfechos diferentes sejam avaliados, a evidência epidemiológica que demonstra um resultado positivo para a ocorrência de reação alérgica após o teste de contato com tiabendazol, em indivíduos expostos a pesticidas (PENAGOS, 2002), não é coerente com o observado nos modelos experimentais *in vivo*, que não encontraram associação entre a exposição ao ingrediente ativo e a ocorrência de efeitos imunotóxicos. (DONSKAYA *et al.*, 1982; MARTINI *et al.*, 2010).

Todavia, a classificação da evidência experimental como inadequadas para determinar uma relação causal resulta na impossibilidade de avaliar o aspecto “coerência”.

- Plausibilidade biológica

Conforme indicado acima, a evidência experimental é inadequada para avaliar a causalidade e, portanto, não é possível avaliar o aspecto “plausibilidade biológica”.

- Gradiente biológico

Gradientes de exposição não foram avaliados no estudo epidemiológico sobre a imunotoxicidade do tiabendazol e, dessa forma, não foi possível avaliar esse aspecto.

- Temporalidade

A relação de temporalidade não foi bem estabelecida porque o único estudo epidemiológico incluído é do tipo transversal e, conseqüentemente, a relação de temporalidade entre a exposição e o desfecho não é assegurada, já que não é possível afirmar que a exposição precedeu o efeito.

- Especificidade

Dermatite de contato e outras reações alérgicas podem ser induzidas por diferentes

fatores e substâncias e, por este motivo, o aspecto “especificidade” para associações entre exposição ao tiabendazol e a imunotoxicidade não é atendido.

- Analogia

Existem poucos estudos epidemiológicos que relacionam a exposição as substâncias da classe benzimidazol e a imunotoxicidade. Em relação a ocorrência de dermatite de contato, as demais evidências são opostas ao observado com o composto tiabendazol. Observou-se uma relação negativa entre a exposição ao benomil (LISI; CARAFFINI; ASSALVE, 1986; PENAGOS, 2002) e carbendazim (SHARMA; KAUR, 1990) e a ocorrência de reações alérgicas. Baseado nessas informações, o aspecto “analogia” não foi atendido.

- Evidência experimental

Não há evidências experimentais que forneçam evidências de alterações na frequência de efeitos imunotóxicos após mudanças da exposição ao tiabendazol.

#### **5.3.3.1.3 Conclusão causal**

A maioria dos aspectos de Bradford Hill não foram atendidos, entretanto o único estudo epidemiológico não fornece informações suficientes e representativas para a avaliação e, desta maneira, a evidência como um todo foi inadequada para determinar a relação causal entre a exposição ao tiabendazol e a imunotoxicidade.

### **5.3.5 Integração de todas as substâncias da classe benzimidazol**

Após a análise individual de todas as substâncias, os efeitos foram observados de forma geral, tendo em vista as semelhanças entre os compostos: grupo químico; mecanismo de ação; e principais utilizações (fungicidas e anti-helmínticos).

No Quadro 21 está sintetizado os principais efeitos observados (genotoxicidade, imunotoxicidade e carcinogenicidade) para cada composto benzimidazol, expressando em porcentagem a frequência de estudos (experimentais e epidemiológicos) que encontraram uma relação positiva entre exposição e desfecho. É importante destacar que para algumas substâncias o número de estudos foi limitado e, portanto, conclusões e generalizações precisam ser realizadas com cautela.

A carcinogenicidade só foi investigada para o benomil, carbendazim, tiabendazol e tiofanato-metílico, sendo o carbendazim o único composto que apresentou nenhuma atividade carcinogênica. Baseada nas pesquisas, benomil e tiofanato-metílico foram as substâncias que induziram algum tipo de câncer em 100% dos estudos que avaliaram este efeito, seguido pelo



tiabendazol, onde apenas 33% dos artigos apresentaram uma relação positiva entre a exposição ao ingrediente ativo e a carcinogenicidade.

Como observado no quadro a seguir (Quadro 21), o oxfendazol foi a única substância onde 100% dos estudos encontraram uma associação entre a exposição ao ingrediente e a manifestação de efeitos imunotóxicos, entretanto, apenas um único estudo, relacionado a essa temática, foi incluído na revisão. Carbendazim, benomil e tiabendazol apresentaram uma relação positiva com a imunotoxicidade em 60, 50 e 25%, respectivamente, dos estudos avaliados. O tiofanato-metílico foi o único composto onde todas as pesquisas não encontraram nenhum efeito sobre o sistema imune dos organismos investigados.

Diversos eventos diferentes foram analisados para avaliar a genotoxicidade dos compostos, como: mutação; micronúcleo; aberração cromossômica; má segregação cromossômica; aneuploidia; poliploidia; troca de cromátides irmãs; danos ao DNA; e distúrbios no fuso ou de estruturas relacionadas a ele, como microtúbulo/tubulina. Todas as substâncias da classe benzimidazol induziram um ou mais efeitos genotóxicos nos organismos expostos, sendo o benomil, carbendazim, tiabendazol e tiofanato-metílico aqueles que mais provocaram diferentes alterações, o que está relacionado, principalmente, a uma maior quantidade de artigos publicados.

Com exceção de aberrações cromossômicas – nos estudos relacionados ao flubendazol, fuberidazol e oxibendazol – todos os outros efeitos genotóxicos foram observados em pelo menos uma parcela dos estudos incluídos na revisão sistemática. Analisando a classe benzimidazol no conjunto, micronúcleo, aneuploidia, poliploidia e distúrbios no fuso/microtúbulos foram os eventos mais frequentes observados, o que pode estar relacionado ao mecanismo de ação desses compostos.

Quadro 24- Quantidade de estudos experimentais e epidemiológicos, em porcentagem, que observaram um aumento nos efeitos investigados após a exposição aos compostos da classe benzimidazol.

Substâncias	Efeitos observados										
	Câncer	Imunotoxicidade	Mutação	MN	AC	Má segregação cromossômica	Aneuploidia	Poliploidia	SCE	Danos ao DNA	Distúrbios no fuso/microtúbulo
Albendazol				100%	100%	100%					100%
Benzimidazol			100%	50%	0%						
Benomil	100%	50%	22,22%	100%	66,67%	100%	100%	100%	100%		60%
Carbendazim	0%	60%	41,67%	93,33%	77,78%		87,50%	100%	50%	72,73%	100%
Fembendazol					100%						
Flubendazol				100%	0%			100%			
Fuberidazol					0%						
Mebendazol			33,33%	100%	33,33%	100%					
Oxfendazol		100%									
Oxibendazol				100%	0%						
Tiabendazol	33,33%	25%		62,50%	80%		88,89%	66,67%	50%	66,67%	100%
Tiofanato-metílico	100%	0%		100%	66,67%			100%		100%	

Nota: AC (aberração cromossômica); MN (micronúcleo); SCE (troca de cromátides irmãs).

As porcentagens referem-se à quantidade de estudos (epidemiológicos, experimentais *in vitro* e experimentais *in vivo*) que apresentaram resultados positivos para os efeitos listados após a exposição aos compostos da classe benzimidazol. Quanto mais perto da cor vermelha (100%), maior foi o número de artigos que apresentaram essa associação. Quanto mais perto da cor amarela (0%) menor a quantidade de artigos que encontraram resultados positivos e maior a frequência daqueles que não encontraram uma relação entre a exposição a substância e os efeitos investigados.

## 6 DISCUSSÃO

Com exceção dos compostos benzimidazóis parabendazol e triclabendazol, utilizados como anti-helmínticos na medicina, foi identificado estudos epidemiológicos e/ou experimentais (*in vitro* e/ou *in vivo*) para todas as substâncias analisadas. Após as buscas nas bases de dados, alguns ingredientes ativos, como o carbendazim, tiabendazol e benomil, apresentaram mais pesquisas disponíveis. É importante destacar que a característica comum a esses compostos consiste na sua classificação e utilização como fungicidas – compostos químicos empregados no controle de doenças causadas por fungos, bactérias e algas, e que são utilizados principalmente na agricultura (GARCIA, 1999). Sendo assim, um grande número de pesquisas são produzidas na tentativa de responder aos questionamentos sobre a utilização desses compostos e o risco para seres humanos.

Além dos fungicidas, a classe benzimidazol também possui substâncias com atividade anti-helmíntica e que são utilizadas no tratamento de parasitoses em animais e humanos. Por se tratar de um medicamento, esperava-se que diversos estudos, inclusive epidemiológicos (ensaios clínicos randomizados, por exemplo), estivessem disponíveis na literatura para avaliar a eficácia e a segurança desses compostos. Contudo, como observado, os anti-helmínticos foram os benzimidazóis com o menor número de evidências experimentais *in vitro* e *in vivo*, além de nenhum estudo epidemiológico ter sido incluído na revisão sistemática. Essa observação não está relacionada a inexistência de estudos sobre a exposição e a capacidade genotóxica, imunotóxica e carcinogênica dessas substâncias, mas sim ao acesso restrito e bloqueado das pesquisas sobre essa temática.

Além das buscas nas bases de dados, os relatórios de agências e órgãos governamentais, sobre esses compostos, também foram fontes importantes de consulta, através das referências utilizadas. Mas é nessa questão que se observou a restrição no acesso das informações utilizadas nesses documentos. A grande maioria dos estudos e dados citados não foram publicados ou não são disponibilizados abertamente para a comunidade científica, limitando e impossibilitando o acesso a essas informações relevantes não só para a revisão, como para a sociedade. Por este motivo, algumas substâncias apresentaram um número muito reduzido de pesquisas incluídas na revisão sistemática, o que dificulta a interpretação e as conclusões desse estudo, introduzindo uma limitação não contornável.

Embora os estudos referenciados nos relatórios não tenham sido acessados e incluídos na revisão, os dados apresentados são discutidos e comparados ao que foi observado nesta pesquisa, tendo em vista que esses documentos, em sua maioria, avaliam os efeitos de interesse

aqui discutidos – genotóxico, imunotóxico e carcinogênico. As principais fontes dos relatórios foram as agências e órgãos governamentais, como: NTP; EPA; WHO; EFSA; APVMA; EMEA; ICHM; JMPR; e a Comissão Europeia. Nota-se que a IARC, uma importante e renomada agência especializada em câncer da Organização Mundial de Saúde, não produziu dados sobre os compostos benzimidazóis.

As monografias da IARC consistem em um trabalho multidisciplinar onde os pesquisadores revisam e analisam detalhadamente as evidências disponíveis sobre produtos químicos, agentes biológicos, físicos, ambientais e qualquer outro fator e os classificam de acordo com a sua capacidade de provocar câncer em humanos, para que essas informações sejam utilizadas como suporte científico para prevenir a exposição a potenciais agentes cancerígenos (IARC, 2022). Entretanto, a avaliação é baseada não só nos estudos epidemiológicos e experimentais sobre a carcinogenicidade, mas também em diversos mecanismos que contribuem para este desfecho, como por exemplo, a imunotoxicidade e genotoxicidade (SMITH *et al.*, 2016). Levando em consideração a sua metodologia, as monografias são fontes seguras e relevantes de informações sobre essa temática, mas a ausência desses documentos acerca dos compostos benzimidazóis impossibilitou a sua consulta e enfatizou a realização desta presente pesquisa.

Antes da discussão dos achados para cada substância, é importante destacar que, além dos vieses identificados nos estudos epidemiológicos mencionados anteriormente, a dificuldade em isolar a exposição a um único composto, em um cenário de exposições múltiplas, foi o maior obstáculo. Por se tratar de produtos químicos com prováveis ações tóxicas em seres humanos, ensaios clínicos por exemplo, não foram realizados com os fungicidas, apenas com os medicamentos anti-helmínticos, porém nenhum deles estão disponíveis para o acesso. Dessa forma, os participantes das pesquisas estavam expostos a inúmeros fatores – de forma ambiental, ocupacional, intencional, entre outros – e o desfecho observado não pode ser vinculado estritamente a um único agente, tendo em vista que as exposições e condições do estudo não podem ser controladas.

Nesse contexto, os estudos epidemiológicos não contribuíram de forma significativa e relevante para as conclusões, principalmente devido ao fato do número extremamente reduzindo de pesquisas, que impossibilitaram, na maioria dos casos, a integração das evidências pelos aspectos de Bradford Hill e, conseqüentemente, a avaliação da relação de causalidade. Apesar disso, os estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* forneceram evidências acerca da genotoxicidade, imunotoxicidade e carcinogenicidade em diferentes organismos vivos, elucidando o mecanismo de ação e o perigo desses compostos para indivíduos expostos.

## 6.1 ALBENDAZOL

Poucos relatórios relacionados ao albendazol foram identificados. O anti-helmíntico apresentou resultados positivos para o teste de micronúcleo *in vivo* na medula óssea de camundongos (EMEA, 2004a), o que está de acordo com os achados aqui apresentados, onde o composto aumentou a frequência de micronúcleo em culturas de células de animais e humanos. Entretanto, de acordo com a literatura, após a ingestão, o medicamento é rapidamente degradado, pelo metabolismo de primeira passagem do fígado, em derivados de sulfóxido de albendazol e albendazol sulfona, metabólitos que também apresentaram atividade genotóxica em modelos experimentais *in vitro*.

A ausência de estudos experimentais *in vivo* relacionados ao uso do albendazol limita a discussão dos dados. Embora a substância tenha apresentado efeitos genotóxicos *in vitro*, estudos farmacocinéticos e a experiência do uso de albendazol na medicina humana demonstram que apenas 1% das doses administradas via oral são absorvidas pelos seres humanos, sugerindo que a exposição oral ao composto seja menos tóxica para humanos do que para ensaios *in vitro* e *in vivo* com animais.

## 6.2 BENOMIL

Além de efeitos inibitórios na ativação do promotor de IFN- $\beta$  em modelos experimentais *in vitro*, o benomil apresentou reações positivas no teste de contato em agricultoras expostas previamente ao fungicida, condizendo com os dados de que o composto provoca dermatite de contato e sensibilização dérmica em seres humanos (IPCS, 1993a).

Em relação a genotoxicidade, de acordo com os dados publicados pelo *International Programme on Chemical Safety* (IPCS, 1993a), os estudos publicados até o ano da avaliação pelo programa demonstraram que o benomil não era capaz de provocar mutações genéticas ou aberrações cromossômicas estruturais em mamíferos e sistemas não mamíferos – devido a sua não interação direta com o DNA –, apenas aberrações cromossômicas numéricas, como aneuploidia e poliploidia. Entretanto, na presente revisão, assim como no relatório da USEPA (2000), encontrou-se uma relação bem estabelecida entre a exposição ao fungicida (*in vitro* ou *in vivo*) e a ocorrência de eventos genotóxicos, como aberrações cromossômicas, má segregação cromossômica, aneuploidia, poliploidia, troca de cromátides irmãs, danos ao DNA e distúrbios no fuso/microtúbulo. Levando em consideração a data de publicação do documento (1993), inúmeros outros estudos foram desenvolvidos e disponibilizados posteriormente, o que elucida as divergências encontradas.

De fato, a mutação foi o evento menos frequente observado na revisão, confluindo com os dados publicados pelo *National Toxicology Program*, onde o benomil foi negativo para todos os testes em *Salmonella* e *E.coli* (NTP, 2018). Das pesquisas que avaliaram este efeito na revisão, apenas 22% dos estudos encontraram resultados positivos para a mutagenicidade em cepas com excisão deficiente e sensível a UV, indicando que a lesão de DNA é detectável e excisável por endonuclease UV.

Em relação a carcinogenicidade, dados não publicados na íntegra indicaram que o benomil provocou tumores hepáticos em duas cepas de camundongos (CD-1 e Swiss) (IPCS, 1993a), confluindo para os achados epidemiológicos, que encontraram uma relação positiva entre a exposição e o câncer, e para a integração das evidências, que sugeriu uma provável relação de causalidade. Nesse contexto, é necessário o desenvolvimento de mais estudos para uma reavaliação da classificação do benomil como Grupo C (possível carcinógeno humano) pela USEPA (USEPA, 2000).

Como mencionado no início deste estudo, o benomil foi banido e/ou não é utilizado na maioria dos países, incluindo o Brasil. No Japão, por exemplo, o composto ainda é empregado para fins agrícolas, com um LMR estabelecido que varia de 0,6-0,7 mg/kg, a depender da cultura (FAMIC, 2020b). Entretanto, todos os resultados positivos para genotoxicidade *in vivo*, encontrados nesta revisão, utilizaram doses de benomil extremamente superiores ao LMR e, à vista disso, comparações e extrapolações para avaliação do risco para indivíduos que são expostos, pela via oral, aos resíduos do fungicida nos alimentos não podem ser realizadas, tendo em vista a ausência de estudos com concentrações semelhantes àquelas do limite estabelecido no país.

### 6.3 CARBENDAZIM

O benzimidazol carbendazim inibiu a proliferação/transcrição de proteínas, imunoglobulinas e moléculas importantes para o sistema imune, contudo, nenhum caso de dermatite de contato foi observado em indivíduos expostos ao fungicida, o que condiz com conclusões de relatórios onde o composto não foi irritante para a pele (EFSA, 2010; IPCS, 1993b).

Assim como benomil, os estudos não publicados, utilizados nos relatórios de avaliação da substância, constataram que o carbendazim também não interagiu com o DNA ou induziu mutação pontual, a exposição apenas provocou alterações cromossômicas numéricas (aneuploidia e poliploidia) em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* (EFSA, 2010; EUROPEAN COMMISSION, 2006; IPCS, 1993b). Todavia, como observado nesta revisão, o

fungicida foi capaz de causar aberrações cromossômicas (estruturais e numéricas), micronúcleo, aneuploidia, poliploidia, troca de cromátides irmãs, distúrbios no fuso mitótico e outros danos ao DNA.

A ausência de estudos epidemiológicos sobre a genotoxicidade do ingrediente ativo não permitiu a integração das evidências e a avaliação da relação causal entre os fatores. Entretanto, sabe-se que o composto é bem absorvido pelo organismo após exposição oral (80-85%) e, adicionado aos efeitos genotóxicos observados em culturas de células humanas e experimentos *in vivo* com animais mamíferos, define-se uma sugestiva capacidade tóxica do carbendazim em seres humanos (IPCS, 1993b). O cenário é ainda mais preocupante quando ao comparar com valores relacionados a IDA (0,02 mg/kg) e ao LMR (0,05-5,0 mg/kg), os efeitos genotóxicos foram observados em concentrações inferiores ao índice e limite estabelecidos.

Embora a USEPA tenha classificado o carbendazim como um possível carcinógeno humano (Grupo C) – devido ao aumento de neoplasias e tumores hepáticos – e a ANVISA como Grupo III (produtos de alto risco ao indivíduo e/ou médio risco à saúde pública), os estudos disponíveis por completo na literatura não demonstraram nenhuma indução de câncer em organismos expostos (ANVISA, 2021a; USEPA, 2005). Entretanto, de acordo com o relatório produzido por técnicos da Anvisa, referente ao processo de reavaliação toxicológica do composto, o carbendazim tem o potencial de provocar câncer e, conseqüentemente, não é possível estabelecer um limiar de dose segura para a exposição humana (ANVISA, 2022). Adicionado a capacidade genotóxica bem estabelecida da substância e o uso em larga escala no setor agrícola brasileiro, é necessário ações proibitivas em relação a registros e vendas de fungicidas a base do ingrediente ativo, assim como recomendado pela Anvisa (2022).

#### 6.4 FEMBENDAZOL

Embora um único estudo experimental *in vitro* tenha evidenciado um aumento na frequência de perda cromossômica após a exposição ao fembendazol, a genotoxicidade não foi um evento discutido nas avaliações de segurança e eficácia do anti-helmíntico. Além disso, o composto não induziu nenhum tumor ou neoplasia hepatocelular (IPCS, 1998).

A escassez de pesquisas sobre o tema, impede a discussão e conclusão sobre a capacidade genotóxica, imunotóxica e/ou carcinogênica da substância, sendo necessário a realização e publicação de novos estudos.

#### 6.5 FLUBENDAZOL

Em relação a genotoxicidade, de acordo com os relatórios de avaliação da segurança e

eficácia do anti-helmíntico, os estudos publicados até o ano da análise demonstraram que o flubendazol não era capaz de provocar mutação genética em bactérias e leveduras, assim como nenhum dano ao DNA, como micronúcleo e outros efeitos genotóxicos (EMEA, 2006; IPCS, 1993c). Em contrapartida, 100% das evidências apresentadas nessa revisão encontraram uma relação entre a exposição ao composto (*in vitro* ou *in vivo*) e o aumento na frequência de células micronucleadas e aneuplóides.

Os estudos referentes a carcinogenicidade utilizados pelos relatórios não foram publicados, entretanto, os dados indicaram que o número total de tumores benignos e malignos foi semelhante para os grupos tratado com flubendazol e controle (não tratados) (EMEA, 2006; IPCS, 1993c). Mesmo assim, ainda é necessária atenção para as doses recomendadas do anti-helmíntico (100-200 mg/dia), tendo em vista que ratas expostas a concentrações inferiores de flubendazol (60 e 130 mg/kg) apresentaram um aumento estatisticamente significativo na frequência micronúcleos (TWEATS *et al.*, 2016) e, conseqüentemente a recomendação pode não refletir segurança para os usuários.

## 6.6 FUBERIDAZOL

Como observado, a única evidência *in vivo* disponível relacionada ao fuberidazol não encontrou nenhum aumento na frequência de aberrações cromossômicas após a exposição, confluindo para a conclusão global de que o fungicida não possui potencial genotóxico (EFSA, 2008). Embora os estudos utilizados pelos relatórios, que avaliam as informações sobre o composto, não tenham sido publicados e disponibilizados livremente na literatura, a *European Food Safety Authority* pontuou a capacidade do fuberidazol em induzir tumores uterinos e tireoidianos em mulheres expostas a altas concentrações (155 mg/kg/dia), o que justifica a não autorização/registro dessa substância na maioria dos países, inclusive o Brasil.

## 6.7 MEBENDAZOL

De acordo com a literatura, o mebendazol não é classificado como um agente mutagênico de ação direta (EMEA, 2001). Nesta revisão, apenas uma pesquisa encontrou uma relação positiva entre a exposição *in vitro* ao anti-helmíntico e a mutagenicidade, entretanto, a espécie investigada tratou-se de um fungo, que é o organismo-alvo do composto. Em modelos bacterianos padrões, para avaliação da capacidade mutagênica de substâncias, nenhum efeito foi observado.

Assim como descrito pela *European Food Safety Authority* (2001), o mebendazol atuou como um aneugênico em células somáticas de mamíferos, induzindo um aumento na frequência



de células micronucleadas, principalmente aquelas com centrômero positivo, indicando, portanto, que a sua formação ocorre por aneuploidia de cromossomos inteiros em vez de fragmentos acêntricos.

Além do mebendazol ser utilizado como anti-helmíntico em animais, o composto também atua no tratamento de parasitoses em humanos, com uma dose usual de 100 mg até 600 mg, a depender da doença/caso (EMEA, 2001). Embora nenhum ensaio clínico tenha sido incluído na revisão, animais mamíferos tratados *in vivo* com concentrações iguais ou inferiores a usual apresentaram um aumento significativo nos efeitos genotóxicos (micronúcleos).

Mesmo que nenhuma pesquisa sobre a capacidade carcinogênica do anti-helmíntico tenha sido identificada e incluída na revisão, ainda de acordo com o relatório publicado pela EMEA (2001), não houve evidência de carcinogenicidade, porém a baixa taxa de sobrevivência e histopatologia incorreta, foram considerados inadequados o desfecho. Nesse contexto, julga-se necessário a realização de novas investigações para a avaliação da segurança e eficácia do medicamento, assim como as doses recomendadas de tratamento.

## 6.8 OXFENDAZOL

Embora a literatura tenha demonstrado resultados negativos em relação a carcinogenicidade, mutagenicidade e genotoxicidade, o oxfendazol promoveu a redução dos níveis de células importantes para o sistema imune dos organismos, como os neutrófilos de ratos (EMEA, 2004b), o que condiz com o único estudo experimental *in vivo*, incluído na revisão sistemática, que apresentou uma diminuição da proliferação de linfócitos (STANKIEWICZ *et al.*, 1994). Ainda assim, a carência de pesquisas e evidências impede a discussão das informações.

## 6.9 OXIBENDAZOL

De acordo com a EMEA (1997), o oxibendazol, testado em animais, não foi capaz de causar mutações, aberrações cromossômicas e/ou micronúcleos em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*. Todavia, um estudo publicado posteriormente observou um aumento na frequência de micronúcleos em células de ovário de hamster chinês, após a exposição ao anti-helmíntico (ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013). Nenhum estudo relacionado a carcinogenicidade do composto foi identificado e, assim como o oxfendazol, é fundamental a realização de pesquisas sobre a temática para discussões mais concretas assertivas.

## 6.10 TIABENDAZOL

Embora alguns estudos utilizados nos relatórios de avaliação das agências/órgãos governamentais tenham observado eventos de linfopenia e redução dos níveis de eritrócitos, o composto não foi considerado imunotóxico e irritante para a pele (EMEA, 2004c; IPCS, 1970; JMPR, 2019). Contrariamente, observou-se, nesta revisão, que o tiabendazol apresentou reações positivas no teste de contato em indivíduos expostos a pesticidas, mas o desenho do estudo (transversal) e os vieses identificados não permitem a confirmação de que o efeito está associado exclusivamente a exposição ao fungicida.

Em relação a genotoxicidade, de acordo com os dados do EMEA (2004c), os estudos publicados até o ano da avaliação pelo programa demonstraram que o tiabendazol não era capaz de provocar mutações genéticas em testes bacterianos e danos estruturais aos cromossomos, apenas eventos como micronúcleos, c-mitose e aneuploidia, após a administração intraperitoneal da substância. Adicionalmente, os estudos aqui investigados observaram a capacidade do composto em induzir efeitos genotóxicos (micronúcleo, aberrações cromossômicas, aneuploidia, poliploidia, troca de cromátides irmãs e danos ao DNA) após a sua administração oral, como consequência de sua ligação à tubulina, o que resulta na disfunção do mecanismo do fuso na divisão celular.

Ainda que a substância não tenha demonstrado a capacidade em induzir tumores/neoplasias (EMEA, 2004c; IPCS, 1970; JMPR, 2019), a USEPA (2018) classificou o fungicida como “provavelmente cancerígeno para humanos em altas doses”, por causar perturbação no equilíbrio hormonal da tireoide. Por consequência, os resíduos de tiabendazol nos alimentos devem causar preocupação com relação ao risco genotóxico para os consumidores, mesmo que os efeitos tenham sido observados em doses superiores ao valor da Ingestão Diária Aceitável (0,1 mg/kg), tendo em vista as evidências que demonstram também a toxicidade da substância após o contato dos indivíduos pela via oral (ANVISA, 2020).

## 6.11 TIOFANATO-METÍLICO

A imunotoxicidade do tiofanato-metílico foi descartada pela USEPA (2014) e EFSA (2018), assim como a capacidade do composto em ser irritante para a pele (USEPA, 2005), o que foi confirmado pelo único estudo experimental *in vivo* aqui apresentado, onde o fungicida não provocou irritação dérmica em coelho e cobaias (HASHIMOTO *et al.*, 2010).

O fungicida foi adequadamente testado para genotoxicidade em uma série de ensaios *in vivo* e *in vitro*. De acordo com a USEPA (2005), o composto induziu um pequeno aumento na frequência de micronúcleos através da ação clastogênica, o que condiz com os achados dos

estudos aqui mencionados, onde o tiofanato-metílico foi a única substância mais ativa na indução de células micronucleadas com centrômero negativo. Adicionalmente, o produto químico demonstrou causar danos ao DNA, poliploidia e aberrações cromossômicas, devido ao seu modo de ação em comum com a classe benzimidazol. É importante destacar que o potencial aneugênico do composto não pode ser excluído, pois seu principal metabólito (carbendazim) é reconhecidamente aneugênico e, em contato com o organismo, o tiofanato-metílico é rapidamente degradado a essa substância (IPCS, 1973).

Todos os resultados positivos para genotoxicidade *in vivo*, encontrados nesta revisão, utilizaram doses de tiofanato-metílico superiores aos valores estabelecidos da IDA (0,08 mg/kg) e LMR (0,1-8,0 mg/kg, a depender da cultura) pela ANVISA (2020b) e, à vista disso, comparações e extrapolações para avaliação do risco dos indivíduos que são expostos, pela via oral, aos resíduos do fungicida nos alimentos não podem ser realizadas, tendo em vista a ausência de estudos com concentrações semelhantes àquelas do limite estabelecido no Brasil.

Em relação a carcinogenicidade, embora a USEPA (2014) tenha concluído que o tiofanato-metílico é um “provável carcinogênico para humanos”, devido aos achados de tumores tireoidianos e hepáticos em animais mamíferos (ratos e camundongos), nenhum estudo experimental *in vivo* e *in vitro* incluído na revisão avaliou este desfecho. Entretanto, um estudo epidemiológico do tipo caso-controle demonstrou riscos elevados, em modelos ajustados, para astrocitoma difusa e ependimoma em crianças expostas.

De forma geral, a maioria dos estudos que encontraram efeitos tóxicos em organismos vivos após a exposição a classe benzimidazol, utilizaram na metodologia concentrações superiores aos valores estabelecidos nos parâmetros IDA e LMR. Entretanto, é necessário destacar que esses limites, em muitos casos, não são respeitados e, como mencionado anteriormente, no último Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos Alimentares, resíduos de inúmeros pesticidas foram identificados com concentrações superiores ao permitido e em culturas não autorizadas (ANVISA, 2019a). Dessa forma, é perigoso estimar doses aceitáveis de exposições para seres humanos que garantam a segurança desses indivíduos, tendo em vista que não há limite seguro de exposição para compostos genotóxicos, mutagênicos e/ou carcinogênicos.

Embora os medicamentos da classe benzimidazol também tenham provocado efeitos genéticos e danos ao DNA nos experimentos, os fungicidas apresentaram uma maior capacidade genotóxica sobre os organismos vivos, o que pode ser explicado pela seletividade dos compostos. Os anti-helmínticos possuem uma maior seletividade para os organismos alvos, ligando-se fortemente à tubulina nas células absorptivas no intestino de vermes parasitas,

interferindo na absorção de nutrientes e provocando sua morte (EMEA, 2004c). O hospedeiro, por sua vez, é menos afetado, pois a ligação à tubulina de mamífero é mais fraca e reversível, quando comparado aos helmintos.

Os fungicidas da classe benzimidazol atuam inibindo a formação de microtúbulos mitóticos durante a mitose, afetando o crescimento e a divisão dos esporos dos fungos (USEPA, 2014). Mesmo que os benzimidazóis se liguem seletivamente ao organismo alvo (fungos), após a exposição, pesquisas *in vitro* com células de animais e humanos e *in vivo* com animais mamíferos e não mamíferos também demonstraram os mesmos efeitos genotóxicos, carcinogênicos e imunotóxicos, quando comparado aos experimentos realizados com espécies fúngicas.

## 7 CONCLUSÃO

É importante destacar, que ambas as revisões sistemáticas foram construídas em relação aos estudos publicados e indexados nas bases de dados consultadas. Ao longo da pesquisa, encontrou-se uma dificuldade em relação a acessibilidade dos artigos, principalmente aqueles utilizados nos documentos e relatórios disponibilizados por agências/órgãos governamentais, onde a maioria, utilizado para fins regulatórios, não tiveram os seus resultados publicados e disponibilizados livremente na literatura científica. Dessa forma, por mais criteriosas e bem delimitadas que sejam as revisões, elas não estão isentas de vieses relacionados a seleção dos estudos, devido a: inacessibilidade a periódicos não indexados; e a não publicação do artigo em função do resultado obtido.

Embora tenha se observado um aumento na frequência de aberrações cromossômicas, micronúcleos e/ou na incidência de cânceres específicos em populações expostas a fungicidas (benomil, carbendazim e/ou tiofanato-metílico), o número reduzido de estudos epidemiológicos, adicionado aos vieses identificados em cada artigo e a exposição à múltiplas substâncias, não permitiu a associação do desfecho a um único fator e a análise do risco da exposição ambiental e/ou ocupacional aos benzimidazóis, em relação a genotoxicidade, imunotoxicidade e carcinogenicidade.

A revisão sistemática de estudos experimentais (*in vitro* e *in vivo*) demonstrou, de forma bem estabelecida, a capacidade genotóxica (principalmente aberrações cromossômicas, aneuploidia, poliploidia, danos ao DNA e micronúcleos) de todos os compostos benzimidazóis, com exceção do fuberidazol – que apresentou resultados negativos para a genotoxicidade – e parabendazol e triclabendazol, cujo nenhuma evidência foi identificada com a busca. Apenas as evidências relacionadas ao benomil puderam ser integradas, demonstrando uma sugestão de causalidade entre a exposição ao ingrediente ativo e os efeitos genotóxicos.

Efeitos imunotóxicos foram observados em experimentos com oxfendazol, carbendazim, benomil e tiabendazol. Além disso em alguns modelos experimentais, a exposição ao benomil, tiofanato-metílico e tiabendazol induziu a formação de tumores e ocorrência de neoplasias. Entretanto, as inconsistências observadas e a carência de informações enfatiza a necessidade mais estudos relacionados a esses efeitos.

Em suma, levando em consideração que os compostos benzimidazóis foram genotóxicos em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*, inclusive em animais e culturas de células humanas, adicionado ao mecanismo de ação dessas substâncias e as evidências epidemiológicas, que também demonstraram capacidade genotóxica do benomil e de uma

mistura complexa de benzimidazóis, é plausível que os compostos aumentem o risco de câncer, entretanto não foi possível avaliar tal associação devido as limitações e ausência de estudos.

A ampla utilização da classe benzimidazol na agropecuária, principalmente no Brasil, enfatiza a necessidade de políticas de proteção e promoção, de forma integral, da saúde coletiva da população e do meio ambiente. Levando em consideração o aumento na produção de novas pesquisas, é essencial a revisão das classificações quanto a toxicidade e segurança dos compostos, assim como os registros e comercialização das substâncias, a fim de evitar/minimizar os riscos e danos à saúde de indivíduos expostos.

## REFERÊNCIAS

- ADHIKARI, N.; GROVER, I. S. Genotoxic effects of some systemic pesticides: in vivo chromosomal aberrations in bone marrow cells in rats. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 235–242, 1988.
- ADLER, I.-D. *et al.* Mouse micronucleus tests with known and suspect spindle poisons: results from two laboratories. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 47–53, 1 jan. 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mutage/6.1.47>. Acesso em: 12 mar. 2022.
- ALBERTINI, S. Influence of different factors on the induction of chromosome malsegregation in *Saccharomyces cerevisiae* D61.M by bavistan and assessment of its genotoxic property in the Ames test and in *Saccharomyces cerevisiae* D7. **Mutation Research**, [S. l.], v. 216, n. 6, p. 327–340, dez. 1989.
- ALBERTINI, S. Reevaluation of the 9 compounds reported conclusive positive in yeast *Saccharomyces cerevisiae* aneuploidy test systems by the Gene-Tox Program using strain D61.M of *Saccharomyces cerevisiae*. **Mutation Research**, [S. l.], v. 260, n. 2, p. 165–180, jun. 1991.
- ALBERTINI, S.; BRUNNER, M.; WÜRGLER, F. E. Analysis of the six additional chemicals for in vitro assays of the European Economic Communities' EEC aneuploidy programme using *Saccharomyces cerevisiae* D61.M and the in vitro porcine brain tubulin assembly assay. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, [S. l.], v. 21, n. 2, p. 180–192, 1993.
- ALMEIDA, M. D. *et al.* A flexibilização da legislação brasileira de agrotóxicos e os riscos à saúde humana: análise do Projeto de Lei nº 3.200/2015. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 7, 2017. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0102-311X2017000703001&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0102-311X2017000703001&lng=en&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 29 out. 2020.
- ALPAN, A. S.; GUNES, H. S.; TOPCU, Z. 1H-Benzimidazole derivatives as mammalian DNA topoisomerase I inhibitors. **Acta Biochim Pol**, Polônia, v. 54, n. 3, p. 561–565, 2007.
- AMARANTE, A. F. T. do; SALES, R. de O. Controle de Endoparasitoses dos Ovinos: Uma Revisão. **Rev. Brás. Hig. San. Anim.**, Ceará, v. 1, n. 2, p. 14–36–36, 2007. Disponível em: <http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/44>. Acesso em: 15 nov. 2020.
- AMER, S. M.; DONYA, S. M.; ALY, F. A. E. Genotoxicity of benomyl and its residues in somatic and germ cells of mice fed on treated stored wheat grains. **Arch Toxicol**, Alemanha, v. 77, n. 12, p. 712–721, 2003.
- ANDRIOLI, N. B.; MUDRY, M. D. Cytological and cytogenic effects induced by thiabendazole on *Allium cepa* root meristem. **BAG. Journal of basic and applied genetics**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 17–23, dez. 2011. Disponível em: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1852-62332011000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1852-62332011000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 12 mar. 2022.
- ANTOCCIA, A. *et al.* In vitro micronucleus test with kinetochore staining: evaluation of test

performance. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 6, n. 4, p. 319–324, 1 jul. 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mutage/6.4.319>. Acesso em: 9 mar. 2022.

ANTUNES, L. M. G.; TAKAHASHI, C. S. Cytogenetic effects of mebendazole on in vivo and in vitro mammalian systems. **Rev. bras. genét.**, [S. l.], , p. 273–6, 1994. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/en/lil-165256>. Acesso em: 8 mar. 2022.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Acompanhe a 3ª Reunião Ordinária Pública da Diretoria Colegiada. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/acompanhe-a-3a-reuniao-ordinaria-publica-da-diretoria-colegiada>. Acesso em: 19 abr. 2022.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Índice monográfico. C24 Carbendazim. 2021a. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/c/4227json-file-1/view>. Acesso em: 11 abr. 2022.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Índice Monográfico. T12 Tiabendazol. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas>. Acesso em: 16 out. 2020.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Índice Monográfico. T14 Tiofanato-metílico. 2021b. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas>. Acesso em: 16 out. 2020.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Listas de ingredientes ativos com uso autorizado e banidos no Brasil. 2017. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2017/listas-de-ingredientes-ativos-com-uso-autorizado-e-banidos-no-brasil>. Acesso em: 22 out. 2020.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Monografias autorizadas (arquivos). 2020a. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas>. Acesso em: 16 out. 2020.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos – PARA. Relatório das amostras analisadas no período de 2017-2018. 2019a. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3770json-file-1>. Acesso em: 21 nov. 2020.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Reavaliação de agrotóxicos. 2020b. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoinformacao/perguntasfrequentes/agrotoxicos/reavaliacao-de-agrotoxicos>. Acesso em: 9 dez. 2020.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 294, de 29 de julho de 2019. Dispõe sobre os critérios para avaliação e classificação toxicológica, priorização da análise e comparação da ação toxicológica de agrotóxicos, componentes, afins e preservativos de madeira, e dá outras providências. **Diário**



**Oficial da União:** 29 jul. 2019b. Disponível em:

<https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=31/07/2019&jornal=515&pagina=78&totalArquivos=100>.

APVMA. AUSTRALIAN PESTICIDES AND VETERINARY MEDICINES AUTHORITY.

Public Chemical Registration Information System Search. 2020. Disponível em:

[https://portal.apvma.gov.au/pubcris?p\\_auth=QtdNZwfl&p\\_p\\_id=pubcrisportlet\\_WAR\\_pubcrisportlet&p\\_p\\_lifecycle=1&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-1&p\\_p\\_col\\_pos=2&p\\_p\\_col\\_count=4&\\_pubcrisportlet\\_WAR\\_pubcrisportlet\\_javax.portlet.action=search](https://portal.apvma.gov.au/pubcris?p_auth=QtdNZwfl&p_p_id=pubcrisportlet_WAR_pubcrisportlet&p_p_lifecycle=1&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_pos=2&p_p_col_count=4&_pubcrisportlet_WAR_pubcrisportlet_javax.portlet.action=search). Acesso em: 2 jan. 2021.

ARANHA, M. L. G. *et al.* Biochemical and histopathological responses in peripubertal male rats exposed to agrochemicals isolated or in combination: A multivariate data analysis study.

**Toxicology**, [S. l.], v. 447, p. 152636, 15 jan. 2021.

AROMATARIS, E.; MUNN, Z. (Org.). **JB1 Manual for Evidence Synthesis**. [S. l.]: JBI,

2020. Disponível em: <https://synthesismanual.jbi.global>. Acesso em: 21 dez. 2020.

ATHWAL, R. S.; SANDHU, S. S. Use of a human X mouse hybrid cell line to detect

aneuploidy induced by environmental chemicals. **Mutation Research**, [S. l.], v. 149, n. 1, p. 73–81, mar. 1985.

BANDUHN, N.; OBE, G. Mutagenicity of methyl 2-benzimidazolecarbamate,

diethylstilbestrol and estradiol: structural chromosomal aberrations, sister-chromatid

exchanges, C-mitoses, polyploidies and micronuclei. **Mutation Research**, [S. l.], v. 156, n. 3, p. 199–218, jun. 1985.

BÁNYAI, K.; PITZER, V. E. Chapter 2.10 - Molecular Epidemiology and Evolution of

Rotaviruses. *In*: SVENSSON, L. *et al.* (org.). **Viral Gastroenteritis**. Boston: Academic Press, 2016. p. 279–299. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128022412000146>. Acesso em: 16 fev. 2022.

BARALE, R. *et al.* Cytogenetic effects of benzimidazoles in mouse bone marrow. **Mutation**

**Research**, [S. l.], v. 300, n. 1, p. 15–28, jun. 1993.

BARLAN, K.; GELFAND, V. I. Microtubule-Based Transport and the Distribution, Tethering,

and Organization of Organelles. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, Estados Unidos, v. 9, n. 5,

2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5411697/>. Acesso em: 12 nov. 2020.

BEGLEY, C. G.; IOANNIDIS, J. P. A. Reproducibility in science: improving the standard for

basic and preclinical research. **Circulation Research**, [S. l.], v. 116, n. 1, p. 116–126, 2 jan.

2015.

BEN AMARA, I. *et al.* Methyl-thiophanate increases reactive oxygen species production and

induces genotoxicity in rat peripheral blood. **Toxicology Mechanisms and Methods**, [S. l.],

v. 24, n. 9, p. 679–687, dez. 2014.

BENTLEY, K. S. *et al.* Evaluation of thresholds for benomyl- and carbendazim-induced

aneuploidy in cultured human lymphocytes using fluorescence in situ hybridization.

**Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, Holanda, v. 464,

n. 1, p. 41–51, 2000. Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571899001655>. Acesso em: 10 nov. 2020.

BIANCHI, L. *et al.* Genotoxicity assay of five pesticides and their mixtures in *Saccharomyces cerevisiae* D7. **Mutation Research**, [S. l.], v. 321, n. 4, p. 203–211, jun. 1994.

BIANCHI-SANTAMARIA, A. *et al.* Human lymphocyte micronucleus genotoxicity test with mixtures of phytochemicals in environmental concentrations. **Mutation Research**, [S. l.], v. 388, n. 1, p. 27–32, 15 jan. 1997.

BOLOGNESI, C. *et al.* Cytogenetic biomonitoring of a floriculturist population in Italy: micronucleus analysis by fluorescence in situ hybridization (FISH) with an all-chromosome centromeric probe. **Mutation Research**, [S. l.], v. 557, n. 2, p. 109–117, 14 fev. 2004.

BONATTI, S. *et al.* The analysis of 10 potential spindle poisons for their ability to induce CREST-positive micronuclei in human diploid fibroblasts. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 111–114, mar. 1992.

BOOBIS, A. R. *et al.* IPCS Framework for Analyzing the Relevance of a Noncancer Mode of Action for Humans. **Crit Rev Toxicol**, Reino Unido, v. 38, n. 2, p. 87–96, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408440701749421>. Acesso em: 12 nov. 2020.

BÖRZSÖNYI, M. *et al.* Transplacental induction of lymphomas in Swiss mice by carbendazim and sodium nitrite. **International Journal of Cancer**, [S. l.], v. 17, n. 6, p. 742–747, 15 jun. 1976.

BÖRZSÖNYI, M.; CSIK, M. Induction of malignant lymphomas in swiss mice by n-nitroso compounds formed in vivo. **International Journal of Cancer**, [S. l.], v. 15, n. 5, p. 830–838, 15 maio 1975.

BÖRZSÖNYI, M.; PINTÉR, A. The carcinogenicity of N-nitroso compounds formed endogenously in mice from benzimidazole carbamate pesticides. **Neoplasma**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 119–122, 1977.

BOWEN, D. E. *et al.* Evaluation of a multi-endpoint assay in rats, combining the bone-marrow micronucleus test, the Comet assay and the flow-cytometric peripheral blood micronucleus test. **Mutation Research**, [S. l.], v. 722, n. 1, p. 7–19, 18 maio 2011.

BRASIL. Câmara dos Deputados. Projeto de Lei PL 3200, de 06 de outubro de 2015. Dispõe sobre a Política Nacional de Defensivos Fitossanitários e de Produtos de Controle Ambiental, seus Componentes e Afins, bem como sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de defensivos fitossanitários e de produtos de controle ambiental, seus componentes e afins, e dá outras providências. 6 out. 2015. Disponível em:

[https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/prop\\_mostrarintegra?codteor=1412079&filename=PL+3200/2015](https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra?codteor=1412079&filename=PL+3200/2015). Acesso em: 21 nov. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial**

**da União:** seção 1, Brasília, DF, p. 25, 16 set. 2004. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/RESOLU%25C3%2587%25C3%2583O-RDC%2BN%2B216%2BDE%2B15%2BDE%2BSETEMBRO%2BDE%2B2004.pdf/23701496-925d-4d4d-99aa-9d479b316c4b>. Acesso em: 23 abr. 2020.

BRASIL. Presidência da República. Decreto nº 4.074 de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7.802/89 que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União:** 4 jan. 2002. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/2002/d4074.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm). Acesso em: 20 nov. 2020.

BRASIL. Presidência da República. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União:** 11 jul. 1989. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l7802.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm). Acesso em: 19 nov. 2020.

BRINER, R.; DENYER, D. Systematic Review and Evidence Synthesis as a Practice and Scholarship Tool. **Handbook of evidence-based management: Companies, classrooms and research.** New York: Oxford University Press, 2012. p. 112–129.

BRUNNER, M.; ALBERTINI, S.; WÜRGLER, F. E. Effects of 10 known or suspected spindle poisons in the in vitro porcine brain tubulin assembly assay. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 65–70, 1 jan. 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mutage/6.1.65>. Acesso em: 9 mar. 2022.

CAPRIGLIONE, T. *et al.* Genotoxic effects of the fungicide thiophanate-methyl on *Podarcis sicula* assessed by micronucleus test, comet assay and chromosome analysis. **Ecotoxicology (London, England)**, [S. l.], v. 20, n. 4, p. 885–891, jun. 2011.

CARBALLO, M. A. *et al.* Genotoxic and aneugenic properties of an imidazole derivative. **Journal of applied toxicology: JAT**, [S. l.], v. 26, n. 4, p. 293–300, ago. 2006.

CARERE, A. *et al.* Microbiological mutagenicity studies of pesticides in vitro. **Mutation Research**, [S. l.], v. 57, n. 3, p. 277–286, jul. 1978.

CARMELIET, P.; JAIN, R. K. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. **Nature**, Reino Unido, v. 473, n. 7347, p. 298–307, 2011. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature10144>. Acesso em: 4 nov. 2020.

CARNEIRO, F. F. **Dossiê Abrasco: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde.** São Paulo: EPSJV, 2015. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/26221>. Acesso em: 4 dez. 2020.

CHA, H. J. *et al.* Evolutionarily Repurposed Networks Reveal the Well-Known Antifungal Drug Thiabendazole to Be a Novel Vascular Disrupting Agent. **PLOS Biology**, Estados Unidos, v. 10, n. 8, p. e1001379, 2012. Disponível em:

<https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.1001379>. Acesso em: 6 dez. 2020.

CLARE, M. G. *et al.* SFTG international collaborative study on in vitro micronucleus test II. Using human lymphocytes. **Mutation Research**, [S. l.], v. 607, n. 1, p. 37–60, 4 ago. 2006.

COFFING, S. *et al.* The rat gut micronucleus assay: a good choice for alternative in vivo genetic toxicology testing strategies. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, [S. l.], v. 52, n. 4, p. 269–279, maio 2011.

COOK, D. J.; SACKETT, D. L.; SPITZER, W. O. Methodologic guidelines for systematic reviews of randomized control trials in health care from the Potsdam Consultation on Meta-Analysis. **J. Clin Epidemiol**, Estados Unidos, v. 48, n. 1, p. 167–171, 1995. Disponível em: [https://www.jclinepi.com/article/0895-4356\(94\)00172-M/pdf](https://www.jclinepi.com/article/0895-4356(94)00172-M/pdf). Acesso em: 29 nov. 2020.

COOK, Deborah J.; MULROW, C. D.; HAYNES, R. B. Systematic Reviews: Synthesis of Best Evidence for Clinical Decisions. **Ann Intern Med**, Estados Unidos, v. 126, n. 5, p. 376–380, 1997. Disponível em: <https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/0003-4819-126-5-199703010-00006>. Acesso em: 11 nov. 2020.

CREBELLI, R. *et al.* In vitro studies with nine known or suspected spindle poisons: results in tests for chromosome malsegregation in *Aspergillus nidulans*. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 131–136, 1 mar. 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mutage/6.2.131>. Acesso em: 9 mar. 2022.

DE BERTOLDI, M. *et al.* Mutagenicity of pesticides evaluated by means of gene-conversion in *Saccharomyces cerevisiae* and in *Aspergillus nidulans*. **Environmental Mutagenesis**, [S. l.], v. 2, n. 3, p. 359–370, 1980.

DE LA TORRE, R. A. *et al.* Genotoxic activity of mebendazole in *Aspergillus nidulans*. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, [S. l.], v. 305, n. 2, p. 139–144, 1 mar. 1994. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0027510794902321>. Acesso em: 8 mar. 2022.

DE STOPPELAAR, J. M. *et al.* In vivo cytokinesis blocked micronucleus assay with carbendazim in rat fibroblasts and comparison with in vitro assays. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 15, n. 2, p. 155–164, mar. 2000.

DE STOPPELAAR, J. M. *et al.* Increased frequencies of diploid sperm detected by multicolour FISH after treatment of rats with carbendazim without micronucleus induction in peripheral blood erythrocytes. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 14, n. 6, p. 621–632, nov. 1999.

DECORDIER, I. *et al.* Automated image analysis of cytokinesis-blocked micronuclei: an adapted protocol and a validated scoring procedure for biomonitoring. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 85–93, jan. 2009.

DEMIRAYAK, Ş.; MOHSEN, U. A.; KARABURUN, A. Ç. Synthesis and anticancer and anti-HIV testing of some pyrazino[1,2-a]benzimidazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, França, v. 37, n. 3, p. 255–260, 2002. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523401013137>. Acesso em: 1 dez. 2020.

DENNIS, L. K. *et al.* Pesticide Use and Cutaneous Melanoma in Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study. **Environmental Health Perspectives**, [S. l.], v. 118, n. 6, p. 812–817, jun. 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2898858/>. Acesso em: 1 dez. 2021.

ĐIKIĆ, D. *et al.* Carbendazim combined with imazalil or cypermethrin potentiate DNA damage in hepatocytes of mice. **Human & Experimental Toxicology**, [S. l.], v. 31, n. 5, p. 492–505, maio 2012.

DIXON, D. R. *et al.* Anaphase aberrations in the embryos of the marine tubeworm *Pomatoceros lamarckii* (Polychaeta: Serpulidae): a new in vivo test assay for detecting aneugens and clastogens in the marine environment. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 14, n. 4, p. 375–383, jul. 1999.

DOLARA, P. *et al.* Sister-chromatid exchanges in human lymphocytes induced by dimethoate, omethoate, deltamethrin, benomyl and their mixture. **Mutation Research Letters**, [S. l.], v. 283, n. 2, p. 113–118, 1 out. 1992. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0165799292901425>. Acesso em: 11 jan. 2022.

DONSKAYA, E.; LUNDY, J.; *et al.* Thiabendazole (TBZ), an immunohemomodulator. I. Effects on lymph node and spleen. **International Journal of Immunopharmacology**, [S. l.], v. 4, n. 6, p. 487–496, 1982.

DONSKAYA, E.; GOLDSCHNEIDER, I.; *et al.* Thiabendazole (TBZ), an immunohemomodulator. II. Effects on thymocytes and prothymocytes. **International Journal of Immunopharmacology**, [S. l.], v. 4, n. 6, p. 497–506, 1982.

DUMONTET, C.; JORDAN, M. A. Microtubule-binding agents: a dynamic field of cancer therapeutics. **Nat Rev Drug Discov**, Reino Unido, v. 9, n. 10, p. 790–803, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3194401/>. Acesso em: 17 nov. 2020.

EASTMOND, D. A.; TUCKER, J. D. Kinetochores localization in micronucleated cytokinesis-blocked Chinese hamster ovary cells: a new and rapid assay for identifying aneuploidy-inducing agents. **Mutation Research**, [S. l.], v. 224, n. 4, p. 517–525, dez. 1989.

EFSA, E. F. S. European Food Safety Authority. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance carbendazim. **EFSA Journal**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. 1598, 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2010.1598>. Acesso em: 11 abr. 2022.

EFSA, E. F. S. European Food Safety Authority. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fuberidazole. **EFSA Journal**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 118r, 2008. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2008.118r>. Acesso em: 13 abr. 2022.

ELHAJOUJI, A.; CUNHA, M.; KIRSCH-VOLDERS, M. Spindle poisons can induce polyploidy by mitotic slippage and micronucleate mononucleates in the cytokinesis-block assay. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 193–198, mar. 1998.

ELHAJOUJI, A.; VAN HUMMELEN, P.; KIRSCH-VOLDERS, M. Indications for a threshold of chemically-induced aneuploidy in vitro in human lymphocytes. **Environmental**

**and Molecular Mutagenesis**, [S. l.], v. 26, n. 4, p. 292–304, 1995.

EMEA. European Medicines Agency Veterinary Medicines and Inspections. Committee for medicinal products for veterinary use albendazole. 2004a. .

EMEA. European Medicines Agency Veterinary Medicines and Inspections. Committee for medicinal products for veterinary use flubendazole. 2006. .

EMEA. European Medicines Agency Veterinary Medicines and Inspections. Committee for medicinal products mebendazole. 2001. .

EMEA. European Medicines Agency Veterinary Medicines and Inspections. Committee for medicinal products oxfendazole. 2004b. .

EMEA. European Medicines Agency Veterinary Medicines and Inspections. Committee for medicinal products oxibendazole. 1997. .

EMEA. European Medicines Agency Veterinary Medicines and Inspections. Committee for medicinal products thiabendazole. 2004c. .

EPA. Environmental Protection Agency. Pesticide Reregistration Status. 2016. Disponível em: [https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/html/status\\_page\\_t.html#content](https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/html/status_page_t.html#content). Acesso em: 20 nov. 2020.

ERMLER, S.; SCHOLZE, M.; KORTENKAMP, A. Seven benzimidazole pesticides combined at sub-threshold levels induce micronuclei in vitro. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 28, n. 4, p. 417–426, jul. 2013.

EUROPEAN COMMISSION. EU Pesticides Database (v.2.1) Search Active substances, safeners and synergists. 2016. Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/active-substances/?event=search.as>. Acesso em: 20 nov. 2020.

EUROPEAN COMMISSION. Review report for the active substance carbendazim. 2006. .

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, E. *et al.* Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance thiophanate-methyl. **EFSA Journal**, Reino Unido, v. 16, n. 1, p. e05133, 2018. Disponível em: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2018.5133>. Acesso em: 1 dez. 2020.

FAMIC. Food and Agricultural Materials Inspection Center. Active ingredients list. 2020a. Disponível em: <https://www.acis.famic.go.jp/eng/ailist/index.htm>. Acesso em: 20 nov. 2020.

FAMIC. Food and Agricultural Materials Inspection Center. Regulation value of pesticides (ministerial ordinance). 2020b. Disponível em: <https://www.acis.famic.go.jp/eng/ailist/index.htm>. Acesso em: 10 abr. 2020.

FELLOWS, M. D. *et al.* The ability of the mouse lymphoma TK assay to detect aneugens. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 26, n. 6, p. 771–781, nov. 2011.

FELSON, D. T. Bias in meta-analytic research. **J. Clin. Epidem**, Holanda, v. 45, n. 8, p. 885–892, 1992. Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/089543569290072U>. Acesso em: 19 nov. 2020.

FICSOR, G.; BORDAS, S.; STEWART, S. J. Mutagenicity testing of benomyl, methyl-2-benzimidazole carbamate, streptozotocin and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in *Salmonella typhimurium* in vitro and in rodent host-mediated assays. **Mutation Research**, [S. l.], v. 51, n. 2, p. 151–164, ago. 1978.

FIMOGNARI, C.; NÜSSE, M.; HRELIA, P. Flow cytometric analysis of genetic damage, effect on cell cycle progression, and apoptosis by thiophanate-methyl in human lymphocytes. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, [S. l.], v. 33, n. 2, p. 173–176, 1999.

FUJII, T. *et al.* Enhancing effect of thiabendazole on urinary bladder carcinogenesis induced by sodium o-phenylphenate in F344 rats. **Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association**, [S. l.], v. 24, n. 3, p. 207–211, mar. 1986.

FUJII, T.; MIKURIYA, H.; SASAKI, M. Chronic oral toxicity and carcinogenicity study of thiabendazole in rats. **Food Chem Toxicol**, Holanda, v. 29, n. 11, p. 771–775, 1991. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/027869159190186B>. Acesso em: 29 out. 2020.

GARCIA, A. Fungicidas I: utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos. - Portal Embrapa. [S. l.], , p. 32, 1999. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/704072/fungicidas-i-utilizacao-no-controle-quimico-de-doencas-e-sua-acao-contra-os-fitopatogenos>. Acesso em: 7 abr. 2022.

GEORGIEVA, V. *et al.* Genotoxic activity of benomyl in different test systems. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 32–36, 1990.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/13231>. Acesso em: 12 nov. 2020.

GHS. **Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals**. 6. ed. New York e Geneva: United Nations, 2015. Disponível em: <https://unece.org/ghs-rev6-2015>. Acesso em: 28 nov. 2020.

GIBSON, D. P. *et al.* Detection of aneuploidy-inducing carcinogens in the Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation assay. **Mutation Research**, [S. l.], v. 343, n. 1, p. 7–24, maio 1995.

GIGANT, B. *et al.* Microtubule-destabilizing agents: structural and mechanistic insights from the interaction of colchicine and vinblastine with tubulin. **Top Curr Chem**, Alemanha, v. 286, p. 259–278, 2009.

GOIN, C. J.; MAYER, V. W. Induction of chromosome loss in *Saccharomyces cerevisiae* strain D61.M by selected benzimidazole compounds. **Mutation Research**, [S. l.], v. 343, n. 4, p. 185–199, jul. 1995.

GOODSON, H. V.; JONASSON, E. M. Microtubules and Microtubule-Associated Proteins. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, Estados Unidos, v. 10, n. 6, jun. 2018. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5983186/>. Acesso em: 2 nov. 2020.

GREYWE, D. *et al.* Applicability and robustness of the hen's egg test for analysis of micronucleus induction (HET-MN): results from an inter-laboratory trial. **Mutation Research**, [S. l.], v. 747, n. 1, p. 118–134, 30 ago. 2012.

HASHEM, M. A.; MOHAMED, W. A. M.; ATTIA, E. S. M. Assessment of protective potential of *Nigella sativa* oil against carbendazim- and/or mancozeb-induced hematotoxicity, hepatotoxicity, and genotoxicity. **Environmental Science and Pollution Research International**, [S. l.], v. 25, n. 2, p. 1270–1282, jan. 2018.

HASHIMOTO, K. *et al.* An in vitro micronucleus assay with size-classified micronucleus counting to discriminate aneugens from clastogens. **Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 208–216, fev. 2010.

HASHIMOTO, Y. *et al.* Acute toxicity on dimethyl 4,4'-o-phenylene bis(3-thioallophanate), thiophanate-methyl fungicide. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [S. l.], v. 23, n. 4, p. 606–615, dez. 1972.

HIGGINS, J. *et al.* **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions**. [S. l.]: Cochrane, 2020. Disponível em: <https://training.cochrane.org/handbook/current>. Acesso em: 15 dez. 2020.

HILL, A. B. The environment and disease: association or causation? **J R Soc Med**, Reino Unido, v. 108, n. 1, p. 32–37, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4291332/>. Acesso em: 1 dez. 2020.

HOWLETT, N. G.; SCHIESTL, R. H. Simultaneous measurement of the frequencies of intrachromosomal recombination and chromosome gain using the yeast DEL assay. **Mutation Research**, [S. l.], v. 454, n. 1–2, p. 53–62, 6 nov. 2000.

HRELIA, P. *et al.* A Cytogenetic Approach to the Study of Genotoxic Effects of Fungicides: An in Vitro Study in Lymphocyte Cultures with Thiophanate-methyl. **Alternatives to Laboratory Animals**, [S. l.], v. 24, n. 4, p. 597–601, 1 ago. 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/026119299602400421>. Acesso em: 15 mar. 2022.

HUAN, Z. *et al.* Acute Toxicity and Genotoxicity of Carbendazim, Main Impurities and Metabolite to Earthworms (*Eisenia foetida*). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, [S. l.], v. 96, n. 1, p. 62–69, 1 jan. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1653-y>. Acesso em: 23 fev. 2022.

HUANG, N. *et al.* Induction of chromosomal aberrations, cytotoxicity, and morphological transformation in mammalian cells by the antiparasitic drug flubendazole and the antineoplastic drug harringtonine. **Fundamental and Applied Toxicology: Official Journal of the Society of Toxicology**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 304–313, fev. 1994.

HUANG, S.-T.; HSEI, I.-J.; CHEN, C. Synthesis and anticancer evaluation of bis(benzimidazoles), bis(benzoxazoles), and benzothiazoles. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Reino Unido, v. 14, n. 17, p. 6106–6119, 2006. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089606003567>. Acesso em: 12 nov. 2020.



HUMMELEN, P. V.; ELHAJOUJI, A.; KIRSCH-VOLDERS, M. Clastogenic and aneugenic effects of three benzimidazole derivatives in the in vitro micronucleus test using human lymphocytes. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 23–29, 1 jan. 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mutage/10.1.23>. Acesso em: 17 fev. 2022.

HUMMELEN, P. V.; KIRSCH-VOLDERS, M. Analysis of eight known or suspected aneugens by the in vitro human lymphocyte micronucleus test. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 7, n. 6, p. 447–455, 1 nov. 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mutage/7.6.447>. Acesso em: 9 mar. 2022.

IARC. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs – General Information – IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans. 2022. Disponível em: <https://monographs.iarc.who.int/home/iarc-monographs-general-information/>. Acesso em: 15 abr. 2022.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Boletim 2020. Venda por classe de uso. 2020. **IBAMA**. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>. Acesso em: 21 out. 2020.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agro 2017. 2017. **IBGE - Censo Agro 2017**. Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/>. Acesso em: 2 dez. 2020.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produto Interno Bruto (PIB). 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/pib.php>. Acesso em: 20 nov. 2020.

IGARASHI, M. *et al.* Optimum conditions for detecting hepatic micronuclei caused by numerical chromosome aberration inducers in mice. **Mutation Research**, [S. l.], v. 632, n. 1–2, p. 89–98, 15 ago. 2007.

IPCS. International programme on chemical safety. Environmental health criteria 148 Benomyl. 1993a. .

IPCS. International programme on chemical safety. Environmental health criteria 149 Carbendazim. 1993b. .

IPCS. International programme on chemical safety. Evaluations of some pesticide in food. Thiabendazole. 1970. .

IPCS. International programme on chemical safety. Fenbendazole. 1998. .

IPCS. International programme on chemical safety. Flubendazole. 1993c. .

IPCS. International programme on chemical safety. Thiophanate-methyl. 1973. .

ITOH, S. *et al.* Assessment of a twice dosing regimen both before and after partial hepatectomy in the rat liver micronucleus test. **Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, [S. l.], v. 782, p. 18–23, abr. 2015.

ITOH, S.; HATTORI, C.; NAGATA, M.; TAKASAKI, W. Gender differences in the liver micronucleus test in rats with partial hepatectomy. **Toxicology Letters**, [S. l.], v. 214, n. 3, p. 296–300, 15 nov. 2012.

ITOH, S.; HATTORI, C.; NAGATA, M.; SANBUISHO, A. Structural and numerical chromosome aberration inducers in liver micronucleus test in rats with partial hepatectomy. **Mutation Research**, [S. l.], v. 747, n. 1, p. 98–103, 30 ago. 2012.

JANAKIDEVI, V. *et al.* A study of proteotoxicity and genotoxicity induced by the pesticide and fungicide on marine invertebrate (*Donax faba*). **Chemosphere**, [S. l.], v. 90, n. 3, p. 1158–1166, jan. 2013.

JIANG, J. *et al.* Carbendazim has the potential to induce oxidative stress, apoptosis, immunotoxicity and endocrine disruption during zebrafish larvae development. **Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA**, [S. l.], v. 29, n. 7, p. 1473–1481, out. 2015.

JIANG, J. *et al.* Embryonic exposure to carbendazim induces the transcription of genes related to apoptosis, immunotoxicity and endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*). **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 41, n. 2, p. 493–500, 1 dez. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1050464814003726>. Acesso em: 23 fev. 2022.

JMPR. Joint Meeting on Pesticide Residues. Thiabendazole (069). 2019. .

KAPPAS, A. *et al.* Benomyl-- a novel type of base analogue mutagen? **Mutation Research**, [S. l.], v. 40, n. 4, p. 379–382, nov. 1976.

KAPPAS, A.; BRIDGES, B. A. Induction of point mutations by benomyl in DNA-repair-deficient *Aspergillus nidulans*. **Mutation Research**, [S. l.], v. 91, n. 2, p. 115–118, mar. 1981.

KELLNER, U.; RUDOLPH, P.; PARWARESCH, R. Human DNA-Topoisomerases – Diagnostic and Therapeutic Implications for Cancer. **Onkologie**, Suíça, v. 23, n. 5, p. 424–430, 2000.

KERBEL, R. S. Tumor Angiogenesis. **N Engl J Med**, Estados Unidos, v. 358, n. 19, p. 2039–2049, 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4542009/>. Acesso em: 1 nov. 2020.

KOCHENDÖRFER, U. *et al.* A new possible parameter for the detection of aneuploidy inducing substances: the analysis of qualitative and quantitative abnormalities of the spindle apparatus. **Mutation Research**, [S. l.], v. 361, n. 2–3, p. 55–66, 12 dez. 1996.

KUCHY, A. H.; WANI, A. A.; KAMILI, A. N. Cytogenetic effects of three commercially formulated pesticides on somatic and germ cells of *Allium cepa*. **Environmental Science and Pollution Research International**, [S. l.], v. 23, n. 7, p. 6895–6906, abr. 2016.

KVELLAND, I. Benomyl--an investigation of its mutagenic effect in bacteriophage T4D. **Hereditas**, [S. l.], v. 97, n. 2, p. 307–309, 1982.

LABARBERA, D. V.; SKIBO, E. B. Synthesis of imidazo[1,5,4-de]quinoxalin-9-ones, benzimidazole analogues of pyrroloiminoquinone marine natural products. **Bioorg Med Chem**, Reino Unido, v. 13, n. 2, p. 387–395, 2005. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089604007904>. Acesso em: 9 nov. 2020.

LAMB, M. J.; LILLY, L. J. An investigation of some genetic toxicological effects of the fungicide benomyl. **Toxicology**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 83–95, 1980.

LANUSSE, C. E.; PRICHARD, R. K. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. **Vet. Parasitol.**, Holanda, v. 49, n. 2, p. 123–158, 1993. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0304401793901154>. Acesso em: 16 out. 2020.

LEBAILLY, P. *et al.* Assessment of DNA damage induced in vitro by etoposide and two fungicides (carbendazim and chlorothalonil) in human lymphocytes with the comet assay. **Mutation Research**, [S. l.], v. 375, n. 2, p. 205–217, 29 abr. 1997.

LEOPARDI, P. *et al.* In vivo studies on chemically induced aneuploidy in mouse somatic and germinal cells. **Mutation Research**, [S. l.], v. 287, n. 1, p. 119–130, maio 1993.

LESMESS-FABIAN, C. *et al.* Dermal exposure assessment of pesticide use: The case of sprayers in potato farms in the Colombian highlands. **Science of The Total Environment**, Holanda, v. 430, p. 202–208, 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969712005165>. Acesso em: 4 nov. 2020.

LISI, P.; CARAFFINI, S.; ASSALVE, D. A test series for pesticide dermatitis. **Contact Dermatitis**, [S. l.], v. 15, n. 5, p. 266–269, nov. 1986.

LOMBARDI, C. *et al.* Residential proximity to pesticide application as a risk factor for childhood central nervous system tumors. **Environmental Research**, [S. l.], v. 197, p. 111078, jun. 2021.

LYNCH, A. M.; PARRY, J. M. The cytochalasin-B micronucleus/kinetochore assay in vitro: studies with 10 suspected aneugens. **Mutation Research**, [S. l.], v. 287, n. 1, p. 71–86, maio 1993.

MAILHES, J. B.; AARDEMA, M. J. Benomyl-induced aneuploidy in mouse oocytes. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 7, n. 4, p. 303–309, jul. 1992.

MAKITA, T.; HASHIMOTO, Y.; NOGUCHI, T. Mutagenic, cytogenetic and teratogenic studies on thiophanate-methyl. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 206–215, fev. 1973.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Informações Técnicas. Registros. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas>. Acesso em: 18 abr. 2022.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Novo marco regulatório. Anvisa vai reclassificar defensivos agrícolas que estão no mercado. 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/anvisa-vai-reclassificar-todos-os-agrotoxicos-que-estao-no-mercado>. Acesso em: 11 dez. 2020.

MARRAZZINI, A. *et al.* Micronucleus test and metaphase analyses in mice exposed to known and suspected spindle poisons. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 9, n. 6, p. 505–515, nov. 1994.

MARTINI, F. *et al.* Assessment of potential immunotoxic effects caused by cypermethrin,

fluoxetine, and thiabendazole using heat shock protein 70 and interleukin-1 $\beta$  mRNA expression in the anuran *Xenopus laevis*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [S. l.], v. 29, n. 11, p. 2536–2543, nov. 2010.

MATSUO, F.; NAKAI, M.; NASU, T. The fungicide carbendazim induces meiotic micronuclei in the spermatids of the rat testis. **The Journal of Veterinary Medical Science**, [S. l.], v. 61, n. 5, p. 573–576, maio 1999.

MATSUSHITA, T.; AOYAMA, K. Cross reactions between some pesticides and the fungicide benomyl in contact allergy. **Industrial Health**, [S. l.], v. 19, n. 2, p. 77–83, 1981.

MEEK, M. E. *et al.* Mode of action human relevance (species concordance) framework: Evolution of the Bradford Hill considerations and comparative analysis of weight of evidence. **J Appl Toxicol**, Reino Unido, v. 34, n. 6, p. 595–606, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4321063/>. Acesso em: 1 dez. 2020.

MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de. **Microbiologia ambiental**. 2. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/15285>. Acesso em: 21 out. 2020.

MIGLIORE, L.; NIERI, M. Evaluation of twelve potential aneuploidogenic chemicals by the in vitro human lymphocyte micronucleus assay. **Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA**, [S. l.], v. 5, n. 4, p. 325–336, 1991.

MILLER, B. M.; ADLER, I. D. Application of antikinetochore antibody staining (CREST staining) to micronuclei in erythrocytes induced in vivo. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 5, n. 4, p. 411–415, jul. 1990.

MONGE, P. *et al.* Parental occupational exposure to pesticides and the risk of childhood leukemia in Costa Rica. **Scandinavian Journal of Work, Environment & Health**, [S. l.], v. 33, n. 4, p. 293–303, ago. 2007.

MOTTIER, L.; LANUSSE, C. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. **Revista de Medicina Veterinaria**, [S. l.], v. 82, p. 74–85, 2001.

MS. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária (SNVS). Portaria nº 03, de 16 de janeiro de 1992. Ratifica os termos das “Diretrizes e orientações referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins - nº 1, de 9/12/91. 16 jan. 1992. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1992/prt0003\\_16\\_01\\_1992.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1992/prt0003_16_01_1992.html). Acesso em: 7 nov. 2020.

MUDRY DE PARGAMENT, M. *et al.* Utilidad del metodo de intercambio de cromatides hermanas en la deteccion de posibles agentes mutagenicos. **Medicina (B.Aires)**, [S. l.], , p. 173–6, 1981. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-2995>. Acesso em: 12 mar. 2022.

MUDRY DE PARGAMENT, M. D.; LABAL DE VINUESA, M.; LARRIPA, I. Mutagenic bioassay of certain pharmacological drugs. I. Thiabendazole (TBZ). **Mutation Research**, [S. l.], v. 188, n. 1, p. 1–6, maio 1987.

MUDRY, M. D. *et al.* Mutagenic bioassay of certain pharmacological drugs: II. Mebendazole

(MBZ). *Acta Physiologica et Pharmacologica Latinoamericana*, [S. l.], v. 40, n. 1, p. 99–112, 1990. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19910869203>. Acesso em: 8 mar. 2022.

NATARAJAN, A. T. *et al.* Induction of mitotic aneuploidy using Chinese hamster primary embryonic cells. Test results of 10 chemicals. *Mutation Research*, [S. l.], v. 287, n. 1, p. 47–56, maio 1993.

NEHÉZ, M.; DÉSI, I. A genetic toxicological study of pesticide workers. *International Journal of Environmental Health Research*, [S. l.], v. 6, n. 3, p. 201–208, 1 set. 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09603129609356891>. Acesso em: 1 dez. 2021.

NG, N. A. *et al.* Synthesis of potent and tissue-selective androgen receptor modulators (SARMs): 2-(2,2,2)-Trifluoroethyl-benzimidazole scaffold. *Bioorg Med Chem Lett*, [S. l.], v. 17, n. 6, p. 1784–1787, 2006.

NICOLOFF, H.; KAPPAS, A. Benomyl-induced mitotic disturbances in *Hordeum vulgare*. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, [S. l.], v. 189, n. 3, p. 271–275, 1 nov. 1987. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0165121887900589>. Acesso em: 6 jan. 2022.

NIHR. National Institute for Health Research. What is registration? 2020. Disponível em: <https://www.crd.york.ac.uk/prospero/#aboutpage>. Acesso em: 16 dez. 2020.

NOBRE, M.; BERNADO, W. *Prática clínica baseada em evidência*. São Paulo: Elsevier, 2006.

NTP. National Toxicology Program. Genetic Toxicity Evaluation of Benomyl in Salmonella/E.coli Mutagenicity Test or Ames Test. Study 053802 | Chemical Effects in Biological Systems. 2018. Disponível em: <https://cebs.niehs.nih.gov/cebs/study/002-01686-0001-0000-4>. Acesso em: 11 abr. 2022.

NTP. National Toxicology Program. Office of Health Assessment and Translation (OHAT). Handbook for Conducting a Literature-Based Health Assessment Using OHAT Approach for Systematic Review and Evidence Integration. 2019. Disponível em: [https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/ohat/pubs/handbookmarch2019\\_508.pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/ohat/pubs/handbookmarch2019_508.pdf). Acesso em: 17 dez. 2020.

OHNISHI, T. *et al.* Effects of possible endocrine disruptors on MyD88-independent TLR4 signaling. *FEMS immunology and medical microbiology*, [S. l.], v. 52, n. 2, p. 293–295, mar. 2008.

PALANIKUMAR, L. *et al.* Toxicity, biochemical and clastogenic response of chlorpyrifos and carbendazim in milkfish *Chanos chanos*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, [S. l.], v. 11, 1 abr. 2013.

PANDITA, T. K. Assessment of the mutagenic potential of a fungicide Bavistin using multiple assays. *Mutation Research*, [S. l.], v. 204, n. 4, p. 627–643, abr. 1988.

PATERNIANI, E. Agricultura sustentável nos trópicos. *Estud. av.*, São Paulo, v. 15, n. 43, p. 303–326, 2001. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0103-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0103-)

40142001000300023&lng=en&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em: 17 nov. 2020.

PAULÍKOVÁ, H.; DOBIÁS, L. Mutagenicity of the antiparasitic drug Vermox for *Salmonella typhimurium* His- tester strains. **Mutation Research**, [S. l.], v. 90, n. 4, p. 463–468, dez. 1981.

PENAGOS, H. G. Contact dermatitis caused by pesticides among banana plantation workers in Panama. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 14–18, mar. 2002.

PHILIP, W. **Encyclopedia of Toxicology**. 3. ed. [S. l.]: Academic Press, 2014.

PIATTI, E.; MARABINI, L.; CHIESARA, E. Increase of micronucleus frequency in cultured rat hepatocytes treated in vitro with benomyl and pirimiphos-methyl separately and in mixture. **Mutation Research**, [S. l.], v. 324, n. 1–2, p. 59–64, jun. 1994.

PRUEITT, R. L. *et al.* Systematic review of the potential respiratory carcinogenicity of metallic nickel in humans. **Crit Rev Toxicol**, Reino Unido, v. 50, n. 7, p. 605–639, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408444.2020.1803792>. Acesso em: 10 out. 2020.

PUBCHEM. Benzimidazole. 2020. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5798>. Acesso em: 20 nov. 2020.

RAI, B.; MERCURIO, S. D. Environmentally relevant exposures of male mice to carbendazim and thiram cause persistent genotoxicity in male mice. **Environ Sci Pollut Res**, Alemanha, v. 27, n. 10, p. 10629–10641, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07088-5>. Acesso em: 19 nov. 2020.

RAIMONDI, E. *et al.* Aneuploidy assays on interphase nuclei by means of in situ hybridization with DNA probes. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 165–169, 1 maio 1989. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mutage/4.3.165>. Acesso em: 11 jan. 2022.

RAINALDI, G. *et al.* Analysis by BrUdR-labelling technique of induced aneuploidy in mammalian cells in culture. **Mutation Research**, [S. l.], v. 177, n. 2, p. 255–260, abr. 1987.

RAMÍREZ, T. *et al.* In vitro effects of albendazole and its metabolites on the cell proliferation kinetics and micronuclei frequency of stimulated human lymphocytes. **Archives of Medical Research**, [S. l.], v. 32, n. 2, p. 119–122, abr. 2001.

RAMÍREZ, Tzutzuy *et al.* S-adenosyl-L-methionine is able to reverse micronucleus formation induced by sodium arsenite and other cytoskeleton disrupting agents in cultured human cells. **Mutation Research**, [S. l.], v. 528, n. 1–2, p. 61–74, 25 jul. 2003.

RAMÍREZ, Tzutzuy; EASTMOND, D. A.; HERRERA, L. A. Non-disjunction events induced by albendazole in human cells. **Mutation Research**, [S. l.], v. 626, n. 1–2, p. 191–195, 10 jan. 2007.

RANGEL, M. L. Comunicação no controle de risco à saúde e segurança na sociedade contemporânea: uma abordagem interdisciplinar. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 5, p. 1375–1385, 2007. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1413-81232007000500035&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1413-81232007000500035&lng=en&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 2 jan. 2021.

RATHKOPF, D.; SCHER, H. I. Androgen Receptor Antagonists in Castration-Resistant Prostate Cancer. **Cance J.**, Estados Unidos, v. 19, n. 1, p. 43–49, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3788593/>. Acesso em: 9 dez. 2020.

RIGOTTO, R. M. *et al.* Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 7, p. 1360–1362, 2014. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0102-311X2014000701360&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0102-311X2014000701360&lng=en&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 12 nov. 2020.

ROTHMAN, K. J.; GREENLAND, S.; LASH, T. L. **Modern Epidemiology**. Third, Mid-cycle revision edição. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013.

SAHU, R. K.; BEHERA, B. N.; SHARMA, C. B. S. R. Cytogenetic effects from agricultural chemicals—V. Clastogenic effects of some benzimidazole fungicides on root meristems. **Environmental and Experimental Botany**, [*S. l.*], v. 23, n. 1, p. 79–83, 1983. Disponível em: [https://www.academia.edu/5557079/Cytogenetic\\_effects\\_from\\_agricultural\\_chemicals\\_V\\_Clastogenic\\_effects\\_of\\_some\\_benzimidazole\\_fungicides\\_on\\_root\\_meristems](https://www.academia.edu/5557079/Cytogenetic_effects_from_agricultural_chemicals_V_Clastogenic_effects_of_some_benzimidazole_fungicides_on_root_meristems). Acesso em: 12 jan. 2022.

SAMBUICHI, R. H. R. *et al.* **A sustentabilidade ambiental da agropecuária brasileira: impactos, políticas públicas e desafios**. Brasília, DF: IPEA, 2012.

SAMPAIO, R. F.; MANCINI, M. C. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. **Rev. bras. fisioter.**, São Carlos, v. 11, n. 1, p. 83–89, fev. 2007. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1413-35552007000100013&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1413-35552007000100013&lng=en&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 2 jan. 2021.

SANDHU, S. S. *et al.* Evaluation of 10 chemicals for aneuploidy induction in the hexaploid wheat assay. **Mutagenesis**, [*S. l.*], v. 6, n. 5, p. 369–373, set. 1991.

SANTOVITO, A.; CERVELLA, P.; DELPERO, M. In vitro aneugenic effects of the fungicide thiabendazole evaluated in human lymphocytes by the micronucleus assay. **Arch Toxicol**, Alemanha, v. 85, n. 6, p. 689–693, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00204-010-0606-9>. Acesso em: 15 dez. 2020.

SAQUIB, Q. *et al.* Assessment of methyl thiophanate-Cu (II) induced DNA damage in human lymphocytes. **Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA**, [*S. l.*], v. 23, n. 5, p. 848–854, ago. 2009.

SARRIF, A. M.; BENTLEY, K. S.; *et al.* Evaluation of benomyl and carbendazim in the in vivo aneuploidy/micronucleus assay in BDF1 mouse bone marrow. **Mutation Research**, [*S. l.*], v. 310, n. 1, p. 143–149, 1 out. 1994.

SARRIF, A. M.; ARCE, G. T.; *et al.* Evaluation of carbendazim for gene mutations in the Salmonella/Ames plate-incorporation assay: the role of aminophenazine impurities. **Mutation Research**, [*S. l.*], v. 321, n. 1–2, p. 43–56, abr. 1994.

SARRIF, Awni M. *et al.* Evaluation of benomyl and carbendazim in the vivo aneuploidy/micronucleus assay in BDF1 mouse bone marrow. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, Holanda, v. 310, n. 1, p. 143–149, 1994. Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0027510794900183>. Acesso em: 20 out. 2020.

SASAKI, Y. F. *et al.* In vivo genotoxicity of ortho-phenylphenol, biphenyl, and thiabendazole detected in multiple mouse organs by the alkaline single cell gel electrophoresis assay. **Mutation Research**, [S. l.], v. 395, n. 2–3, p. 189–198, 12 dez. 1997.

SASAKI, Yu F. *et al.* The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. **Mutation Research**, [S. l.], v. 519, n. 1–2, p. 103–119, 26 ago. 2002.

SBRANA, I. *et al.* C-mitosis and numerical chromosome aberration analyses in human lymphocytes: 10 known or suspected spindle poisons. **Mutation Research**, [S. l.], v. 287, n. 1, p. 57–70, maio 1993.

SCHAEFER, H. R.; MYERS, J. L. Guidelines for performing systematic reviews in the development of toxicity factors. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Estados Unidos, v. 91, p. 124–141, 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273230017303100>. Acesso em: 19 nov. 2020.

SCHMID, T. E.; XU, W.; ADLER, I. D. Detection of aneuploidy by multicolor FISH in mouse sperm after in vivo treatment with acrylamide, colchicine, diazepam or thiabendazole. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 173–179, mar. 1999.

SCHWARZENBACH, R. P.; GSCHWEND, P. M.; IMBODEN, D. M. **Environmental Organic Chemistry**. 2. ed. New York: Wiley–Blackwell, 2002.

SEELBACH, A. *et al.* Development of a modified micronucleus assay in vitro for detection of aneugenic effects. **Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 185–193, mar. 1993.

SEILER, J. P. The mutagenicity of benzimidazole and benzimidazole derivatives I. Forward and reverse mutations in *Salmonella typhimurium* caused by benzimidazole and some of its derivatives. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, [S. l.], v. 15, n. 3, p. 273–276, 1 jul. 1972. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0027510772900747>. Acesso em: 21 dez. 2021.

SEILER, J. P. The mutagenicity of benzimidazole and benzimidazole derivatives. VI. Cytogenetic effects of benzimidazole derivatives in the bone marrow of the mouse and the Chinese hamster. **Mutation Research**, [S. l.], v. 40, n. 4, p. 339–347, nov. 1976.

SEUKEP, A. J. *et al.* 9 - Genotoxicity and Teratogenicity of African Medicinal Plants. In: KUETE, V. (org.). **Toxicological Survey of African Medicinal Plants**. [S. l.]: Elsevier, 2014. p. 235–275. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128000182000091>. Acesso em: 2 jan. 2021.

SHARMA, V. K.; KAUR, S. Contact sensitization by pesticides in farmers. **Contact Dermatitis**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 77–80, ago. 1990.

SHERMAN, H.; CULIK, R.; JACKSON, R. A. Reproduction, teratogenic, and mutagenic



studies with benomyl. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [S. l.], v. 32, n. 2, p. 305–315, maio 1975.

SHEU, C. W. *et al.* The feasibility of using Chinese hamsters as an animal model for aneuploidy. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, [S. l.], v. 16, n. 4, p. 320–323, 1990.

SHRIVASTAVA, N. *et al.* Benzimidazole Scaffold as Anticancer Agent: Synthetic Approaches and Structure–Activity Relationship. **Arch. Pharm. Chem. Life Sci.**, Alemanha, v. 350, n. 6, p. e201700040, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ardp.201700040>. Acesso em: 23 nov. 2020.

SILVA, A. R. R. *et al.* Ecotoxicity and genotoxicity of a binary combination of triclosan and carbendazim to *Daphnia magna*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 115, p. 279–290, maio 2015.

SILVA, A. R. R. *et al.* Multigenerational effects of carbendazim in *Daphnia magna*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [S. l.], v. 36, n. 2, p. 383–394, fev. 2017.

SINGH, P.; SRIVASTAVA, A. K.; SINGH, A. K. Cell cycle stage specific application of cypermethrin and carbendazim to assess the genotoxicity in somatic cells of *Hordeum vulgare* L. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, [S. l.], v. 81, n. 3, p. 258–261, set. 2008.

SINGHAL, L. K. *et al.* Down regulation of humoral immunity in chickens due to carbendazim. **Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA**, [S. l.], v. 17, n. 5–6, p. 687–692, dez. 2003.

SINITOX. Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas. Dados de intoxicação. 2017. Disponível em: <https://sinitox.icict.fiocruz.br/dados-nacionais>. Acesso em: 11 dez. 2020.

SMITH, M. T. *et al.* Key Characteristics of Carcinogens as a Basis for Organizing Data on Mechanisms of Carcinogenesis. **Environ Health Perspect**, Estados Unidos, v. 124, n. 6, p. 713–721, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4892922/>. Acesso em: 27 nov. 2020.

SOMASHEKAR, R. K.; GOWDA, M. T. G.; VENKATASUBBAIAH, P. Cytological effects of fungicide Topsin in *Allium cepa*. **Cytologia**, [S. l.], 1984. Disponível em: [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=Cytological+effects+of+fungicide+Topsin+in+Allium+cepa&author=Somashekar%2C+R.K.&publication\\_year=1984](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Cytological+effects+of+fungicide+Topsin+in+Allium+cepa&author=Somashekar%2C+R.K.&publication_year=1984). Acesso em: 17 mar. 2022.

STANKIEWICZ, M. *et al.* Oxfendazole treatment of non-parasitized lambs and its effect on the immune system. **Veterinary Research Communications**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 7–18, 1994.

STERNES, K. L.; VIG, B. K. Micronuclei, kinetochores and hypoploidy: tests with some agents. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 4, n. 6, p. 425–431, 1 nov. 1989. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mutage/4.6.425>. Acesso em: 6 jan. 2022.

SYBENGA, J. Cytogenetics in Genetics and Plant Breeding. *In*: SYBENGA, J. (org.).

**Cytogenetics in Plant Breeding.** Monographs on Theoretical and Applied Genetics. Berlin, Heidelberg: Springer, 1992. p. 1–5. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-3-642-84083-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-642-84083-8_1). Acesso em: 13 jan. 2022.

TADA, Y. *et al.* Chronic toxicity of thiabendazole (TBZ) in CD-1 mice. **Toxicology**, [S. l.], v. 169, n. 3, p. 163–176, 28 dez. 2001.

TWEATS, D. J. *et al.* Genotoxicity of flubendazole and its metabolites in vitro and the impact of a new formulation on in vivo aneugenicity. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 31, n. 3, p. 309–321, maio 2016.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Chemicals Evaluated for Carcinogenic Potential Annual Cancer Report 2018. 2018. .

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Reregistration Eligibility Decision Thiophanate-Methyl. 2005. .

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Thiophanate-Methyl and Carbendazim (MBC). Human Health Assessment Scoping Document in Support of Registration Reviews. Memorandum. 2014. .

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Toxicology chapter for benomyl and carbendazim. 2000. .

VANHAUWAERT, A.; VANPARYS, P.; KIRSCH-VOLDERS, M. The in vivo gut micronucleus test detects clastogens and aneugens given by gavage. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 39–50, jan. 2001.

VERMA, J. R. *et al.* Evaluation of the automated MicroFlow® and Metafer™ platforms for high-throughput micronucleus scoring and dose response analysis in human lymphoblastoid TK6 cells. **Archives of Toxicology**, [S. l.], v. 91, n. 7, p. 2689–2698, 1 jul. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1903-8>. Acesso em: 17 fev. 2022.

VERMA, J. R. *et al.* Investigating FlowSight® imaging flow cytometry as a platform to assess chemically induced micronuclei using human lymphoblastoid cells in vitro. **Mutagenesis**, [S. l.], v. 33, n. 4, p. 283–289, 11 out. 2018.

VIGREUX, C. *et al.* DNA damaging effects of pesticides measured by the single cell gel electrophoresis assay (comet assay) and the chromosomal aberration test, in CHOK1 cells. **Mutation Research**, [S. l.], v. 419, n. 1–3, p. 79–90, 9 nov. 1998.

VINDAS, R. *et al.* [Genotoxicity of three pesticides used in Costa Rican banana plantations]. **Revista De Biologia Tropical**, [S. l.], v. 52, n. 3, p. 601–609, set. 2004.

VISWANADHA, R.; SALE, W. S.; PORTER, M. E. Ciliary Motility: Regulation of Axonemal Dynein Motors. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, Estados Unidos, v. 9, n. 8, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5538414/>. Acesso em: 11 dez. 2020.

WALLIN, M.; HARTLEY-ASP, B. Effects of potential aneuploidy inducing agents on microtubule assembly in vitro. **Mutation Research**, [S. l.], v. 287, n. 1, p. 17–22, maio 1993.

WANG, W. *et al.* New benzimidazole-2-urea derivatives as tubulin inhibitors. **Bioorg Med Chem Lett**, Reino Unido, v. 24, n. 17, p. 4250–4253, 2014. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X14007598>. Acesso em: 3 dez. 2020.

WARR, T. J.; PARRY, E. M.; PARRY, J. M. A comparison of two in vitro mammalian cell cytogenetic assays for the detection of mitotic aneuploidy using 10 known or suspected aneugens. **Mutation Research**, [S. l.], v. 287, n. 1, p. 29–46, maio 1993.

WERDER, E. J. *et al.* Herbicide, fumigant, and fungicide use and breast cancer risk among farmers' wives. **Environmental Epidemiology**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. e097, 27 maio 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7289136/>. Acesso em: 1 dez. 2021.

WHITTAKER, S. G. *et al.* The detection of mitotic and meiotic chromosome gain in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: effects of methyl benzimidazol-2-yl carbamate, methyl methanesulfonate, ethyl methanesulfonate, dimethyl sulfoxide, propionitrile and cyclophosphamide monohydrate. **Mutation Research**, [S. l.], v. 242, n. 3, p. 231–258, nov. 1990.

WHO; PROGRAMME, U. N. E. **World Health Organization. Public health impact of pesticides used in agriculture**. Geneva: World Health Organization, 1990. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/39772>. Acesso em: 2 jan. 2021.

WOOD, J. S. Genetic effects of methyl benzimidazole-2-yl-carbamate on *Saccharomyces cerevisiae*. **Molecular and Cellular Biology**, [S. l.], v. 2, n. 9, p. 1064–1079, set. 1982. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC369899/>. Acesso em: 16 fev. 2022.

ZELESCO, P. A.; BARBIERI, I.; GRAVES, J. A. Use of a cell hybrid test system to demonstrate that benomyl induces aneuploidy and polyploidy. **Mutation Research**, [S. l.], v. 242, n. 4, p. 329–335, dez. 1990.

ZHOU, Y. *et al.* Mechanism of Action of the Benzimidazole Fungicide on *Fusarium graminearum*: Interfering with Polymerization of Monomeric Tubulin But Not Polymerized Microtubule. **Disease Control and Pest Management**, Estados Unidos, v. 106, n. 8, p. 807–813, 2016. Disponível em: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PHYTO-08-15-0186-R>. Acesso em: 6 dez. 2020.

## APÊNDICE A- ESTRATÉGIA DE BUSCA UTILIZADA NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS E EXPERIMENTAIS.

- **MEDLINE (PubMed)**

(((((benzimidazole[*supplementary concept*] OR benzimidazol\*[*tiab*]) AND (fungicides, industrial[*mh*] OR fungicide[*tiab*] OR pesticides[*mh*] OR pesticide\*[*tiab*] OR pesticide residues[*mh*] OR anthelmintics[*mh*] OR anthelmintic\*[*tiab*] OR vermifuge\*[*tiab*] OR antihelmintic\*[*tiab*] OR antiparasitic agents[*mh*] OR antiparasitic agents[*tiab*] OR parasiticides[*tiab*] OR antiparasitic drug\*[*tiab*] OR antiparasitic\*[*tiab*])) OR benomyl[*mh*] OR benomyl[*tiab*] OR carbendazim[*Supplementary Concept*] OR carbendazim[*tiab*] OR carbendazin[*tiab*] OR carbendazine[*tiab*] OR carbendazyme[*tiab*] OR fuberidazole[*Supplementary Concept*] OR fuberidazole[*tiab*] OR thiophanate[*mh*] OR thiophanate methyl[*tiab*] OR methyl thiophanate[*tiab*] OR thiabendazole[*mh*] OR thiabendazole[*tiab*] OR tiabendazol[*tiab*] OR albendazole[*mh*] OR albendazole[*tiab*] OR fenbendazole [ *mh* ] OR fenbendazole[*tiab*] OR phenbendasol[*tiab*] OR flubendazole[*Supplementary Concept*] OR flubendazole[*tiab*] OR mebendazole[*mh*] OR mebendazole[*tiab*] OR oxibendazole[*Supplementary Concept*] OR oxibendazole[*tiab*] OR oxfendazole[*Supplementary Concept*] OR oxfendazole[*tiab*] OR parbendazole[*Supplementary Concept*] OR parbendazole[*tiab*] OR triclabendazole[*mh*] OR triclabendazole[*tiab*]) AND (genotoxicity[*tiab*] OR genotoxi\*[*tiab*] OR mutagenicity tests[*mh*] OR mutagenicity test\*[*tiab*] OR mutagen screening\*[*tiab*] OR genetic toxicity test\*[*tiab*] OR mutagen test\*[*tiab*] OR DNA damage[*mh*] OR DNA damage\*[*tiab*] OR genotoxic stress\*[*tiab*] OR mutation[*mh*] OR mutation\*[*tiab*] OR mutagenic\*[*tiab*] OR mutagenesis[*mh*] OR mutagenes\*[*tiab*] OR mutageneses[*tiab*] OR mutagens[*mh*] OR mutagen\*[*tiab*] OR clastogen\*[*tiab*] OR aneugens[*mh*] OR aneugen\*[*tiab*] OR aneuploidy[*mh*] OR aneuploidy[*tiab*] OR polyploidy[*mh*] OR polyploidy[*tiab*] OR cytogenetics[*mh*] OR cytogenetic\*[*tiab*] OR oxidative stress[*mh*] OR oxidative stress\*[*tiab*] OR oxidative damage\*[*tiab*] OR oxidative stress injur\*[*tiab*] OR oxidative injur\*[*tiab*] OR oxidative DNA damage\*[*tiab*] OR DNA oxidative damage\*[*tiab*] OR neoplasms[*mh*] OR neoplas\*[*tiab*] OR tumor\*[*tiab*] OR cancer\*[*tiab*] OR carcinogen\*[*tiab*] OR carcinogenicity tests[*mh*] OR carcinogenicity test\*[*tiab*] OR carcinogenesis test\*[*tiab*] OR tumorigenicity test\*[*tiab*] OR carcinogenic potency test\*[*tiab*] OR carcinogen test\*[*tiab*] OR carcinogenic activity test\*[*tiab*] OR carcinogens[*mh*] OR carcinogen\*[*tiab*] OR carcinogenesis[*mh*] OR tumorigenes\*[*tiab*] OR carcinogenic agent\*[*tiab*] OR carcinogenic activit\*[*tiab*] OR risk assessment[*mh*] OR risk assessment[*tiab*])

OR immunotoxicit\*[tiab] OR immunotoxic[tiab] OR immunological cytotoxicity\*[tiab] OR cytotoxicity assay\*[tiab] OR cytotoxicity test\*[tiab] OR cytotoxicit\*[tiab] OR cytotoxicity, immunologic[mh] OR immunologic cytotoxicity\*[tiab] OR immunologic tumoricidal activit\*[tiab] OR cytotoxicity tests, immunologic[mh] OR immunologic cytotoxicity test\*[tiab] OR immunogenetics[mh] OR immunogenetic\*[tiab] OR immunogenetic phenomena[mh] OR immunogenetic phenomen\*[tiab] OR immunogenetic process\*[tiab] OR immune system[mh])) NOT (antineoplastic agents[mh] OR antineoplastic agent\*[tiab] OR anticancer agent\*[tiab] OR antineoplastic drug\*[tiab] OR antineoplastic\*[tiab] OR antitumor drug\*[tiab] OR antitumor[tiab] OR anticancer[tiab] OR cancer chemotherapy agent\*[tiab] OR antitumor agent\*[tiab] OR cancer chemotherapy drug\*[tiab] OR chemotherapeutic anticancer agent\*[tiab] OR chemotherapeutic anticancer drug\*[tiab] OR chemotherapy[tiab] OR drug repositioning[mh] OR drug repositioning[tiab] OR repurpos\*[tiab] OR immunomodulation[mh] OR immunomodulat\*[tiab] OR resistance[tiab] OR therapeutic uses[mh] OR echinococcosis[mh] OR echinococcosis[tiab] OR strongyloidiasis[mh] OR strongyloidiasis[tiab] OR case reports[publication type] OR case report\*[tiab] OR case series[tiab] OR systematic review[publication type] OR systematic review[tiab] OR letter[publication type] OR review[publication type] OR bibliography[publication type] OR book review[publication type] OR dictionary[publication type] OR directory[publication type] OR government publication[publication type] OR legislation[publication type] OR technical report[publication type]) Filters: MEDLINE

- **Embase**

(((((('benzimidazole'/exp OR 'benzimidazol':ti,ab OR 'benzimidazole':ti,ab) AND ('fungicide'/exp OR 'agent, fungicidal':ti,ab OR 'fungicidal agent':ti,ab OR 'fungicide':ti,ab OR 'fungicide agent':ti,ab OR 'fungicides, industrial':ti,ab OR 'pesticide'/exp OR 'agent, pesticide':ti,ab OR 'pesticidal agent':ti,ab OR 'pesticide':ti,ab OR 'pesticide agent':ti,ab OR 'pesticides':ti,ab OR 'pesticide residue'/exp OR 'pesticide residue':ti,ab OR 'pesticide residues':ti,ab OR 'residue, pesticide':ti,ab OR 'anthelmintic agent'/exp OR 'anthelminthic':ti,ab OR 'anthelminthic agent':ti,ab OR 'anthelmintic':ti,ab OR 'anthelmintic agent':ti,ab OR 'anthelmintic drug':ti,ab OR 'anthelmintics':ti,ab OR 'anti helminthic drug':ti,ab OR 'antihelminthic agent':ti,ab OR 'antihelminthic drug':ti,ab OR 'antihelmintic':ti,ab OR 'antihelminthic agent':ti,ab OR 'antihelminthic drug':ti,ab OR 'antihelmintics':ti,ab OR 'helminthocidal agent':ti,ab OR 'vermicidal agent':ti,ab OR 'vermicide':ti,ab OR 'antiparasitic agent'/exp OR 'anti parasitic agent':ti,ab OR 'antiparasitic':ti,ab OR 'antiparasitic agent':ti,ab OR

'antiparasitic agents':ti,ab OR 'antiparasitic drug':ti,ab OR 'parasitocidal agent':ti,ab)) OR ('benomyl'/exp OR 'benomyl':ti,ab OR 'carbendazim'/exp OR 'carbendazim':ti,ab OR 'carbendazime':ti,ab OR 'carbendazin':ti,ab OR 'fuberidazole'/exp OR 'fuberidazole':ti,ab OR 'thiophanate methyl'/exp OR 'methyl thiophanate':ti,ab OR 'methylthiophanate':ti,ab OR 'thiophanate methyl':ti,ab OR 'thiophanate'/exp OR 'tiabendazole'/exp OR 'thiabendazole':ti,ab OR 'thibenzole':ti,ab OR 'thiobendazole':ti,ab OR 'tiabendazol':ti,ab OR 'tiabendazole':ti,ab OR 'albendazole'/exp OR 'albendazol':ti,ab OR 'albendazole':ti,ab OR 'fenbendazole'/exp OR 'fenbendazole':ti,ab OR 'flubendazole'/exp OR 'flubendazol':ti,ab OR 'flubendazole':ti,ab OR 'mebendazole'/exp OR 'mebendazole':ti,ab OR 'mebendazol':ti,ab OR 'oxibendazole'/exp OR 'oxibendazole':ti,ab OR 'oxibendazol':ti,ab OR 'oxfendazole'/exp OR 'oxfendazole':ti,ab OR 'oxfendazol':ti,ab OR 'parbendazole'/exp OR 'parbendazol':ti,ab OR 'parbendazole':ti,ab OR 'triclabendazole'/exp OR 'triclabendazole':ti,ab OR 'triclabendazol':ti,ab)) AND ('genotoxicity'/exp OR 'genotoxicity':ti,ab OR 'genotoxicity assay'/exp OR 'genotoxicity assay':ti,ab OR 'mutagenicity'/exp OR 'mutagenicity':ti,ab OR 'mutagen testing'/exp OR 'mutagen screening':ti,ab OR 'mutagen testing':ti,ab OR 'mutagenicity test':ti,ab OR 'mutagenicity tests':ti,ab OR 'testing, mutagen':ti,ab OR 'dna damage'/exp OR 'dna damage':ti,ab OR 'damage, dna':ti,ab OR 'dna lesion':ti,ab OR 'mutation'/exp OR 'gene alteration':ti,ab OR 'genome mutation':ti,ab OR 'mutation':ti,ab OR 'mutagenesis'/exp OR 'mutagenesis':ti,ab OR 'mutagenic agent'/exp OR 'mutagen':ti,ab OR 'mutagenic agent':ti,ab OR 'mutagenic substance':ti,ab OR 'mutagens':ti,ab OR 'mutator':ti,ab OR 'mutagenic activity'/exp OR 'mutagenic activity':ti,ab OR 'mutagenic effect':ti,ab OR 'aneugen'/exp OR 'aneugen':ti,ab OR 'aneugenic agent':ti,ab OR 'aneugens':ti,ab OR 'clastogen'/exp OR 'clastogen':ti,ab OR 'clastogenic agent':ti,ab OR 'aneuploidy'/exp OR 'aneuploid':ti,ab OR 'aneuploidy':ti,ab OR 'chromosome aneuploidy':ti,ab OR 'polyploidy'/exp OR 'cell, polyploid':ti,ab OR 'polyploid':ti,ab OR 'polyploid cell':ti,ab OR 'polyploidy':ti,ab OR 'cytogenetics'/exp OR 'cytogenetics':ti,ab OR 'oxidative stress'/exp OR 'oxidant stress':ti,ab OR 'oxidant stresses':ti,ab OR 'oxidative stress':ti,ab OR 'oxidative stresses':ti,ab OR 'stress, oxidative':ti,ab OR 'neoplasm'/exp OR 'neoplasia':ti,ab OR 'neoplasm':ti,ab OR 'neoplasms':ti,ab OR 'tumor':ti,ab OR 'carcinogenicity'/exp OR 'cancerogenicity':ti,ab OR 'carcinogenicity':ti,ab OR 'oncogenicity':ti,ab OR 'tumorigenicity':ti,ab OR 'carcinogenesis'/exp OR 'cancer induction':ti,ab OR 'cancerogenesis':ti,ab OR 'carcinogenesis':ti,ab OR 'neoplasmogenesis':ti,ab OR 'oncogenesis':ti,ab OR 'tumor formation':ti,ab OR 'tumor genesis':ti,ab OR 'tumor induction':ti,ab OR 'tumorigenesis':ti,ab OR 'tumorigenic effect':ti,ab OR 'carcinogen'/exp OR 'cancer agent':ti,ab OR 'cancerogen':ti,ab OR 'cancerogenic agent':ti,ab OR 'carcinogen':ti,ab

OR 'carcinogen agent':ti,ab OR 'carcinogenic agent':ti,ab OR 'carcinogenic substance':ti,ab OR 'carcinogens':ti,ab OR 'chemical carcinogen':ti,ab OR 'oncogenetic agent':ti,ab OR 'oncogenic agent':ti,ab OR 'carcinogen testing'/exp OR 'carcinogen testing':ti,ab OR 'carcinogenicity test':ti,ab OR 'carcinogenicity testing':ti,ab OR 'carcinogenicity tests':ti,ab OR 'carcinogenic activity'/exp OR 'carcinogenic activity':ti,ab OR 'tumorigenic activity':ti,ab OR 'risk assessment'/exp OR 'risk analysis' OR 'risk assessment' OR 'risk evaluation' OR 'immunotoxicity'/exp OR 'immune system toxicity':ti,ab OR 'immune toxicity':ti,ab OR 'immuno-toxicity':ti,ab OR 'immunosystem toxicity':ti,ab OR 'immunotoxicity':ti,ab OR 'toxicity, immuno':ti,ab OR 'cytotoxicity'/exp OR 'cell toxicity':ti,ab OR 'cytotoxic activity':ti,ab OR 'cytotoxic effect':ti,ab OR 'cytotoxicity':ti,ab OR 'cytotoxicity, immunologic':ti,ab OR 'cytotoxicity assay'/exp OR 'cell toxicity assay':ti,ab OR 'cytotoxicity assay':ti,ab OR 'cytotoxicity test'/exp OR 'cytotoxicity test':ti,ab OR 'cytotoxicity tests, immunologic':ti,ab OR 'immunologic cytotoxicity tests':ti,ab OR 'immunogenetics'/exp OR 'genetics, immuno':ti,ab OR 'immunogenetic phenomena':ti,ab OR 'immunogenetic phenomenon':ti,ab OR 'immunogenetic process':ti,ab OR 'immunogenetic processes':ti,ab OR 'immunogenetics':ti,ab OR 'immune system'/exp OR 'immune system':ti,ab OR 'system, immune':ti,ab)) AND [embase]/lim NOT ([embase]/lim AND [medline]/lim)) NOT ('antineoplastic agent'/exp OR 'anti cancer drug':ti,ab OR 'anti neoplastic agent':ti,ab OR 'anticancer agent':ti,ab OR 'anticancer drug':ti,ab OR 'anticancerogen':ti,ab OR 'anticarcinogen':ti,ab OR 'anticarcinogenic agents':ti,ab OR 'antineoplastic agent':ti,ab OR 'antineoplastic agents':ti,ab OR 'antineoplastic agents, combined':ti,ab OR 'antineoplastic drug':ti,ab OR 'antineoplastics':ti,ab OR 'antitumor agent':ti,ab OR 'antitumor drug':ti,ab OR 'cancer chemotherapeutic agent':ti,ab OR 'drug, antineoplastic':ti,ab OR 'chemotherapy'/exp OR 'chemotherapeutics':ti,ab OR 'chemotherapy':ti,ab OR 'drug repositioning'/exp OR 'drug repositioning':ti,ab OR 'drug reprofiling':ti,ab OR 'drug repurposing':ti,ab OR 'immunomodulation'/exp OR 'immunomodulation':ti,ab OR 'resistance'/exp OR 'resistance':ti,ab OR 'therapeutic use'/exp OR 'therapeutic use':ti,ab OR 'echinococcosis'/exp OR 'echinococcosis' OR 'alveolar echinococcosis' OR 'strongyloidiasis'/exp OR 'strongyloidiasis' OR 'strongyloidosis' OR 'case report'/exp OR 'case report':ti,ab OR 'case study'/exp OR 'case series':ti,ab OR 'case studies':ti,ab OR 'case study':ti,ab OR 'large case series':ti,ab OR 'systematic review'/exp OR 'review, systematic':ti,ab OR 'systematic review':ti,ab OR 'book'/exp OR 'review'/exp OR 'review':ti,ab OR 'directory'/exp OR 'directories':ti,ab OR 'directories as topic' OR 'directory':ti,ab OR 'technical report'/exp OR 'government'/exp OR 'government agencies':ti,ab OR 'government publications as topic' OR 'government publications':ti,ab)

- **LILACS (BVS)**

(((((benzimidazole OR benzimidazo\$ OR bencimidazol\$) AND ("fungicida industrial" OR "fungicidas industriais" OR fungicid\$ OR pesticidas OR pesticid\$ OR praguicida\$ OR plaguicida\$ OR "pesticide residue" OR "pesticide residues" OR "resíduo de praguicida" OR "resíduos de plaguicidas" OR anthelmintics OR anthelmintic\$ OR antihelmíntic\$ OR anti-helmíntico\$ OR antiparasitários OR antiparasit\$ OR "antiparasitic agents")) OR (benomyl OR benom\$ OR carbendazim\$ OR fuberidazol\$ OR thiophanate OR thiophanate OR "thiophanate methyl" OR tiofanato OR tiabendazol OR thiabendazole OR albendazol OR albendazol\$ OR fenbendazol OR fenbendazol\$ OR flubendazol\$ OR mebendazol OR mebendazol\$ OR oxibendazol\$ OR oxfendazol\$ OR parbendazol\$ OR triclabendazol OR triclabendazol\$)) AND (genotoxicity OR genotoxic\$ OR "genotoxicity assay" OR "mutagenicity tests" OR "mutagenicity test" OR "prueba de mutagenicidad" OR "pruebas de mutagenicidad" OR "teste de mutagenicidade" OR "testes de mutagenicidade" OR "mutagen testing" OR "DNA damage" OR "DNA damages" OR "dano ao DNA" OR "danos ao DNA" OR "daño del ADN" OR "daños del ADN" OR mutation OR mutation\$ OR mutación\$ OR mutaç\$ OR mutagenic\$ OR mutagenesis OR mutagenes\$ OR "mutagenic agent" OR "mutagenic agents" OR "mutagenic activity" OR "mutagenic activities" OR mutagens OR mutagen\$ OR aneugens OR aneugen\$ OR clastogen\$ OR aneuploidia OR aneuploid\$ OR poliploidia OR polyploidy OR polyploid\$ OR cytogenetics OR citogenética OR cytogenetic\$ OR "oxidative stress" OR "estresse oxidativo" OR neoplasms OR neoplas\$ OR tumor\$ OR carcinogenic\$ OR "carcinogenicity test" OR "carcinogenicity tests" OR "carcinogenic test" OR "carcinogenic tests" OR "teste de carcinogenos" OR "prueba de carcinogenos" OR carcinogens OR carcinogen\$ OR carcinogenesis OR carcinogenes\$ OR "carcinogenic agents" OR "carcinogenic activity" OR "medição de risco" OR "risk assessment" OR "medición de riesgo" OR immunotoxic\$ OR cytotoxic\$ OR "cytotoxicity assay" OR "cytotoxicity tests" OR "cytotoxicity, immunologic" OR "cytotoxicity tests, immunologic" OR "testes imunologicos de citotoxicidade" OR "pruebas inmunologicas de citotoxicidad" OR immunogenetics OR immuno\$ OR imuno\$ OR inmuno OR "immunogenetic phenomena" OR "fenômenos imunogeneticos" OR "immune system" OR "imune system" OR "sistema imunologico" OR "sistema inmunologico")) AND (db:("LILACS"))))



## APÊNDICE B- PARÂMETROS UTILIZADOS PARA A AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS/QUALIDADE DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS.

Quadro B.1- Parâmetros utilizados na avaliação do risco de viés/qualidade dos estudos incluídos na revisão sistemática de estudos epidemiológicos.

Critérios	Critérios chave			Outros critérios				
	1. Pode-se estar confiante na caracterização da exposição?	2. Pode-se estar confiante na avaliação dos resultados?	3. O desenho ou análise do estudo levou em consideração variáveis de confusão e modificação?	4. A seleção de participantes resultou em grupos de comparação apropriados?	5. Os dados do resultado foram completos sem atrito ou exclusão da análise?	6. Todos os resultados medidos foram relatados?	7. O estudo avaliou a temporalidade da exposição e o resultado?	8. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna?
<b>Definitivamente baixo risco de viés (++)</b>	A exposição foi avaliada, pelo menos parcialmente, por métodos que quantificam diretamente os níveis de exposição.	Os efeitos da exposição aos benzimidazóis foi avaliado através de métodos bem estabelecidos diretamente com cada participante.	Ajustes apropriados foram feitos para todas as outras exposições relevantes e para características sociodemográficas.	Os grupos eram homogêneos em relação a todas as variáveis (ex: sociodemográficas), exceto a variável de exposição (variável de interesse).	A porcentagem de perdas ou recusas foi razoável e adequadamente abordada (as razões foram documentadas). Ou não houve perda ou recusas.	Todos os resultados medidos foram especificados e os resultados da análise estatística para cada resultado medido foram relatados.	Há evidências de que a exposição precede o resultado e um intervalo de tempo adequado foi examinado.	O estudo empregou todos os métodos estatísticos apropriados e descreveu, de forma detalhada, as análises estatísticas.
<b>Provavelmente baixo risco de viés (+)</b>	A exposição foi avaliada por completo através de métodos que quantificam indiretamente os níveis de exposição (ex: avaliação da exposição ambiental).	X	Ajustes apropriados foram feitos para outras exposições relevantes, mas não todas.	Os grupos eram homogêneos em relação a quase todas as variáveis, mas a exposição variava entre eles (variável de interesse).	A porcentagem de perdas ou recusas foi razoável, mas não foi abordada de forma adequada.	Todos os resultados medidos foram especificados, mas as análises estatísticas não foram realizadas para todos.	Há evidências de que a exposição precede o resultado, mas o intervalo de tempo analisado foi inadequado.	O estudo empregou métodos estatísticos apropriados, mas alguns testes a mais poderiam ter sido feitos.
<b>Provavelmente alto risco de viés (-)</b>	A exposição foi avaliada através de métodos indiretos que categorizam a exposição com base em dados secundários (ex: registros oficiais do histórico de empregos, banco de dados etc.).	Os efeitos da exposição aos benzimidazóis foi avaliado através de dados secundários, sem a confirmação individual.	Ajustes apropriados foram feitos somente para características sociodemográficas.	Os grupos eram muito heterogêneos em relação a exposição e outras variáveis.	A porcentagem de perdas ou recusas foi inaceitavelmente grande, mas adequadamente abordada (as razões foram documentadas).	Nem todos os resultados medidos foram relatados, mas justificou-se a ausência desses dados.	Há evidências de que a exposição precede o desfecho, mas o intervalo de tempo não estava claro e não foi examinado.	O estudo empregou métodos estatísticos que são comumente utilizados para os tipos de dados e justificou a utilização dessas análises.
<b>Definitivamente alto risco de viés (--)</b>	A exposição foi quantificada através do autorrelato dos participantes ou não foi quantificada de nenhuma forma.	Os efeitos da exposição aos benzimidazóis foi avaliado através do autorrelato dos participantes da pesquisa.	Nenhum ajuste foi feito ao longo do estudo.	Não houve grupos de comparação. Apenas um grupo foi analisado. Ou não há informações que demonstrem a hetero ou homogeneidade dos grupos.	A porcentagem de perdas ou recusas foi inaceitavelmente grande e não foi adequadamente abordada.	Nem todos os resultados medidos foram relatados e não se justificou a ausência desses dados.	Não há evidências de que a exposição precede o desfecho ou a exposição não foi anterior ao desfecho.	O estudo não empregou métodos estatísticos apropriados e não justificou a utilização dessas análises ou não realizou análises estatísticas.

Fonte: (PRUEITT *et al.*, 2020).

## APÊNDICE C- PARÂMETROS UTILIZADOS PARA A AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EXPERIMENTAIS.

Quadro C.1- Parâmetros utilizados na avaliação da qualidade dos estudos experimentais *in vitro* ou *ex vivo* incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais.

Critérios	Critérios chave			Outros critérios			
	1. Pode-se ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?	2. Pode-se ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?	3. O estudo teve um número adequado de repetições por grupo de estudo?	4. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?	5. O pessoal de pesquisa foi cegado para o grupo de teste?	6. Os dados do resultado foram completos?	7. Não houve outras ameaças potenciais à validade?
<b>Definitivamente baixo risco de viés (++)</b>	A exposição foi administrada de forma consistente em todos os grupos de tratamento e há evidências diretas de que a exposição foi caracterizada de forma independente.	Há evidências diretas de que o resultado foi avaliado usando métodos bem estabelecidos e que foi avaliado de forma consistente em todos os grupos de estudo.	As medições dos resultados para cada grupo de estudo foram avaliadas em triplicado para abordar a variabilidade na resposta.	Há evidências diretas de que as condições experimentais não relacionadas ao tratamento eram idênticas entre os grupos de estudo.	Há evidências diretas de que o pessoal de pesquisa estava devidamente cego para o grupo de estudo e é improvável que eles pudessem ter quebrado a cegueira antes de relatar os resultados.	Todos os resultados medidos foram especificados e os resultados da análise estatística para cada resultado medido foram relatados.	Há evidências diretas de que o estudo empregou métodos estatísticos apropriados.
<b>Provavelmente baixo risco de viés (+)</b>	A exposição foi administrada de forma consistente em todos os grupos de tratamento e há evidências indiretas de que a exposição foi caracterizada de forma independente.	Há evidências indiretas de que o resultado foi avaliado usando métodos aceitáveis (considerados válidos e confiáveis, mas não o padrão ouro) e que foi avaliado de forma consistente em todos os grupos de estudo.	As medições de resultados para cada grupo de estudo foram avaliadas em duplicado para abordar a variabilidade na resposta.	Presume-se que as condições experimentais não relacionadas ao tratamento eram idênticas entre os grupos de estudo se os autores não relatassem diferenças nas características do sistema de teste e nas condições de cultivo e manutenção.	Há evidências indiretas de que o pessoal de pesquisa foi cegado adequadamente para o grupo de estudo ou considera-se que a falta de cegamento adequado durante o estudo não seria um resultado de viés apreciável.	Todos os resultados medidos foram especificados, mas a análise estatística foi realizada somente para alguns.	Há evidências indiretas de que o estudo empregou métodos estatísticos apropriados.
<b>Provavelmente alto risco de viés (-)</b>	A exposição foi administrada de forma consistente em todos os grupos de tratamento, mas não há evidências de que a exposição foi caracterizada.	Há evidências indiretas de que o método de avaliação de resultados é um instrumento insensível ou o resultado foi avaliado de forma inconsistente entre os grupos de estudo. Ou não há evidências sobre o método de avaliação dos resultados.	O número de repetições para medições de resultados não foi relatado.	Há evidências indiretas de que as condições experimentais não relacionadas ao tratamento não eram comparáveis entre os grupos de estudo.	Há evidências indiretas de que o pessoal de pesquisa não foi cegado adequadamente para o grupo de estudo ou não há informações suficientes fornecidas sobre cegamento para o grupo de estudo durante o estudo.	Nem todos os resultados medidos foram relatados, mas justificou-se a ausência desses dados.	Há evidências indiretas de que o estudo não usou métodos estatísticos apropriados ou o estudo não descreveu as análises estatísticas realizadas.
<b>Definitivamente alto risco de viés (--)</b>	A exposição não foi administrada de forma consistente em todos os grupos de tratamento e não há evidências de que a exposição foi caracterizada.	Há evidências diretas de que o método de avaliação de resultados é um instrumento insensível ou o resultado foi avaliado de forma inconsistente entre os grupos de estudo.	As medições dos resultados para cada grupo de estudo não foram avaliadas mais de uma vez.	Há evidências diretas de que as condições experimentais não relacionadas ao tratamento não eram comparáveis entre os grupos de estudo.	Há evidências diretas de que o pessoal de pesquisa não estava devidamente cego para o grupo de estudo.	Nem todos os resultados medidos foram relatados e não se justificou a ausência desses dados.	Há evidências diretas de que o estudo não usou métodos estatísticos apropriados ou não usou nenhum método estatístico para comparar os grupos de controle e tratados.

Fonte: (PRUEITT *et al.*, 2020).

Quadro C.2- Parâmetros utilizados na avaliação da qualidade dos estudos experimentais *in vivo* incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais.

(continua)

Critérios	Critérios chave			Outros critérios					
	1. Pode-se ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?	2. Pode-se ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?	3. O estudo possui um número adequado de animais para detectar os efeitos da exposição?	4. A dose administrada ou o nível de exposição foram adequadamente randomizados?	5. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?	6. O pessoal da pesquisa e os avaliadores não tinham conhecimento do grupo de estudo (tratamento) no estudo?	7. Os dados do resultado foram completos sem atrito ou exclusão da análise?	8. Todos os resultados medidos foram relatados?	9. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna?
<b>Definitivamente baixo risco de viés (++)</b>	A exposição foi administrada de forma consistente em todos os grupos de tratamento e há evidências diretas de que a exposição foi caracterizada de forma independente.	Há evidências diretas de que o resultado foi avaliado usando métodos bem estabelecidos e avaliado no mesmo período após a exposição inicial em todos os grupos de estudo.	O número de animais foi relatado e um cálculo de poder com justificativa do tamanho da amostra foi realizado.	Há evidências diretas de que os animais foram alocados em grupos de estudo (incluindo controles) com um componente aleatório usando métodos aceitáveis de randomização.	Há evidências diretas de que o mesmo veículo foi usado em grupos de controle e experimentais e há evidências diretas de que as condições experimentais não relacionadas ao tratamento eram idênticas entre os grupos de estudo.	Há evidências diretas de que o pessoal de pesquisa estava devidamente cego para o grupo de estudo e é improvável que eles pudessem ter quebrado a cegueira antes de relatar os resultados.	Há evidências diretas de que a perda de animais foi tratada de forma adequada e as razões documentadas foram levadas em consideração nas análises.	Todos os resultados medidos foram especificados e os resultados estatística para cada resultado medido foram relatados.	Há evidências diretas de que o estudo empregou métodos estatísticos apropriados.
<b>Provavelmente baixo risco de viés (+)</b>	A exposição foi administrada de forma consistente em todos os grupos de tratamento e há evidências indiretas de que a exposição foi caracterizada de forma independente.	Há evidências indiretas de que o resultado foi avaliado usando métodos aceitáveis (considerados válidos e confiáveis, mas não o padrão ouro) e avaliado no mesmo período após a exposição inicial em todos os grupos de estudo.	O número de animais foi relatado, mas nenhum cálculo de poder com justificativa do tamanho da amostra foi realizado.	Há evidências indiretas de que os animais foram alocados em grupos de estudo (incluindo controles) com um componente aleatório usando métodos aceitáveis de randomização.	Há evidência de que o mesmo veículo foi usado em grupos de controle e experimentais e presume-se que as condições experimentais não relacionadas ao tratamento eram idênticas entre os grupos de estudo se os autores não relataram diferenças em habitação ou manejo.	Há evidências indiretas de que o pessoal de pesquisa foi cegado adequadamente para o grupo de estudo ou se considera-se que a falta de cegamento adequado durante o estudo não seria um resultado de viés apreciável.	Há evidências indiretas de que a perda de animais foi tratada de forma adequada e as razões documentadas ou se considera que a proporção perdida não influenciaria os resultados de forma apreciável.	Todos os resultados medidos foram especificados, mas a análise estatística foi realizada somente para alguns.	Há evidências indiretas de que o estudo empregou métodos estatísticos apropriados.

Quadro C.2- Parâmetros utilizados na avaliação da qualidade dos estudos experimentais *in vivo* incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais.

(conclusão)

	<i>Crítérios chave</i>			<i>Outros critérios</i>					
<i>Crítérios</i>	1. Pode-se ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?	2. Pode-se ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?	3. O estudo possui um número adequado de animais para detectar os efeitos da exposição?	4. A dose administrada ou o nível de exposição foram adequadamente randomizados?	5. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?	6. O pessoal da pesquisa e os avaliadores não tinham conhecimento do grupo de estudo (tratamento) no estudo?	7. Os dados do resultado foram completos sem atrito ou exclusão da análise?	8. Todos os resultados medidos foram relatados?	9. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna?
<b>Provavelmente alto risco de viés (-)</b>	A exposição foi administrada de forma consistente em todos os grupos de tratamento, mas não há evidências de que a exposição foi caracterizada.	Há evidências indiretas de que o método de avaliação de resultados é um instrumento insensível ou o período após a exposição inicial diferiu entre os grupos de estudo. Ou não há evidências sobre o método de avaliação dos resultados.	O número de animais não foi informado ou não possui um número adequado de animais por grupo.	Há evidências indiretas de que os animais foram alocados para grupos de estudo usando um método com um componente não aleatório ou não há informações suficientes fornecidas sobre a alocação dos animais.	Há evidências indiretas de que o veículo diferiu entre os grupos de controle e experimentais ou há evidências indiretas de que as condições não relacionadas ao tratamento não eram comparáveis entre os grupos.	Há evidências indiretas de que o pessoal de pesquisa não foi cegado adequadamente para o grupo de estudo ou não há informações suficientes fornecidas sobre cegamento para o grupo de estudo durante o estudo.	Existem evidências indiretas de que a perda de animais foi inaceitavelmente grande e não foi tratada adequadamente, ou não há informações suficientes fornecidas sobre a perda de animais.	Nem todos os resultados medidos foram relatados, mas justificou-se a ausência desses dados.	Há evidências indiretas de que o estudo não usou métodos estatísticos apropriados ou o estudo não descreveu as análises estatísticas realizadas.
<b>Definitivamente alto risco de viés (-)</b>	A exposição não foi administrada de forma consistente em todos os grupos de tratamento e não há evidências de que a exposição foi caracterizada.	Há evidências diretas de que o método de avaliação de resultados é um instrumento insensível ou o período após a exposição inicial difere de acordo com o grupo de estudo.	O estudo não foi executado com vários animais.	Há evidências diretas de que os animais foram alocados em grupos de estudo usando um método não aleatório.	Há evidências diretas de que o veículo diferiu entre os grupos de controle e experimentais ou há evidências diretas de que as condições não relacionadas ao tratamento não eram comparáveis entre os grupos de estudo.	Há evidências diretas de que o pessoal de pesquisa não estava devidamente cego para o grupo de estudo.	Há evidências diretas de que a perda de animais foi inaceitavelmente grande e não foi tratada de forma adequada.	Nem todos os resultados medidos foram relatados e não se justificou a ausência desses dados.	Há evidências diretas de que o estudo não usou métodos estatísticos apropriados ou não usou nenhum método estatístico para comparar os grupos de controle e tratados.

Fonte: (PRUEITT *et al.*, 2020).

## APÊNDICE D- PRINCIPAIS DADOS EXTRAÍDOS DOS ARTIGOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS.

Tabela D.1- Principais dados extraídos dos estudos epidemiológicos relacionados ao composto benomil.

(continua)

Referência	Tipo de estudo	População de estudo	Grupo de referência	Exposição (Nome da substância)	Avaliação da exposição	Desfecho	Métodos utilizados para avaliar o desfecho	Fatores de confusão ajustados no modelo	Resultados encontrados
(DENNIS <i>et al.</i> , 2010)	Coorte prospectiva	- 52394 aplicadores privados*; - 4916 aplicadores comerciais**	Indivíduos da coorte que relataram não ser expostos as substâncias investigadas.	Uso de pesticidas pelos agricultores, entre eles o <b>benomil</b> .	Um questionário aplicado no ato da inscrição e outro autopreenchido em casa pelos participantes.	Melanoma cutâneo	Registro de câncer em Iowa e Carolina do Norte para identificação de casos desde a inscrição.	Ajustado por: - Idade e sexo; - Exposição ao sol e tendência a bronzear; - Cor dos cabelos; - IMC.	A exposição ao benomil demonstrou uma relação dose-resposta com melanoma cutâneo entre os aplicadores, tendo em vista que indivíduos expostos ao benomil por menos de 133 dias de exposição não apresentaram associação com a ocorrência desse câncer (OR=1,0; IC=0,4-2,2), diferentemente daqueles expostos por mais de 133 dias (OR=2,8; IC=1,2-2,5).
(MONGE <i>et al.</i> , 2007)	Caso-control	300 crianças diagnosticadas com leucemia infantil na Costa Rica.	579 crianças saudáveis, sem nenhum tipo de câncer (a frequência dos controles foi pareada aos casos por ano de nascimento).	Exposição ocupacional, ambiental e/ou doméstica dos pais a diversos pesticidas, entre eles o <b>benomil</b> .	- Aplicação de questionários; - Dados secundários obtidos nas bases de dados sobre a aplicação de pesticidas.	Leucemia infantil	Registro de Câncer e arquivos do Hospital Infantil da Costa Rica.	Nenhum fator de confusão foi utilizado nas análises.	- A exposição do pai ao benomil durante o primeiro ano de vida da criança mostrou uma associação não significativa com leucemia total (OR=1,8; IC=0,9-3,8) e com leucemia linfocítica aguda (OR=1,8; IC=0,9-4,0), quando comparados aos não expostos; - A alta exposição do pai ao benomil durante o primeiro ano de vida da criança mostrou uma associação com leucemia total (OR=5,5; IC=1,1-26,4) e com leucemia linfocítica aguda (OR=6,6; IC=1,2-35,4), quando comparado a baixa exposição; - Ao avaliar todos os períodos, observou-se uma associação significativa entre a exposição à benzimidazóis e leucemias totais na prole durante o 1º (OR=2,1; IC=1,0-4,4), 2º (OR=2,2; IC=1,0-5,0) e 3º (OR= 2,2; IC=1,0-5,2) trimestres de gravidez.
(WERDER <i>et al.</i> , 2020)	Coorte prospectiva	30594 aplicadoras de pesticidas.	Não possui.	Uso de pesticidas, entre eles o <b>benomil</b> , pelas aplicadoras.	Aplicação de questionários e entrevista telefônica.	Câncer de mama	Registros de câncer de base populacional em Iowa e na Carolina do Norte.	Ajustado por: - Estado da menopausa; - Raça.	Observou-se um aumento não significativo do risco de câncer de mama associado a exposição direta ao benomil (HR=1,6; IC=0,9-2,7). As associações foram geralmente semelhantes entre os modelos totalmente ajustados (incluindo o uso de outros pesticidas) e aqueles ajustados apenas para fatores demográficos/reprodutivos.

Tabela D.1- Principais dados extraídos dos estudos epidemiológicos relacionados ao composto benomil.

(continua)

Referência	Tipo de estudo	População de estudo	Grupo de referência	Exposição (Nome da substância)	Avaliação da exposição	Desfecho	Métodos utilizados para avaliar o desfecho	Fatores de confusão ajustados no modelo	Resultados encontrados
(NEHÉZ; DÉSI, 1996)	Coorte prospectiva	14 homens que utilizam benomil em lugares fechados.	30 homens que não trabalham com pesticidas ou quaisquer outros produtos químicos.	Uso de pesticidas pelos agricultores, entre eles o <b>benomil</b> .	Aplicação de questionários.	Danos cromossômicos	Anormalidades cromossômicas numéricas e estruturais.	Não mencionado	- 48 horas após a pulverização de benomil, notou-se um aumento estatisticamente significativo na frequência de células com aberrações cromossômicas nos trabalhadores que utilizaram esse composto (11%), em comparação com o grupo controle (5,2%); - Um aumento significativo foi observado nas aberrações cromossômicas numéricas em indivíduos expostos (6,4%), quando comparado ao grupo controle (2,2%). Em contrapartida, observou-se um aumento não significativo em aberrações cromossômicas estruturais em pulverizadores (5,4%) em comparação com os indivíduos não expostos (3,0%); - Após um ano da cessação da pulverização, as frequências de todos os tipos de aberrações voltaram ao nível quantificado antes da pulverização.
(PENAGOS, 2002)	Transversal	65 trabalhadores de plantações de banana no Panamá.	48 indivíduos que não trabalhavam em plantações de banana no Panamá.	Uso de pesticidas pelos trabalhadores de plantações de banana no Panamá, entre eles o <b>benomil</b> .	Aplicação de questionários.	Dermatite de contato	Teste de contato (adesivos de 1% de benomil).	Nenhum fator de confusão foi utilizado nas análises.	Dos indivíduos expostos à pesticidas, 3 (3,8% dos resultados positivos) apresentaram resultados positivos no teste de contato com benomil.
(LISI; CARAFFINI; ASSALVE, 1986)	Transversal	- 32 trabalhadores agrícolas; - 21 ex trabalhadores agrícolas; - 52 indivíduos que nunca trabalharam em contato com pesticida.	Não possui.	Benomil.	Não foi avaliada	Dermatite de contato	Teste de contato (adesivos de 0,1% de benomil).	Nenhum fator de confusão foi utilizado nas análises.	Dos 105 indivíduos testados com os adesivos de benomil 0,1%, apenas um participante do grupo não exposto à pesticidas apresentou resposta positiva para este composto.

Tabela D.1- Principais dados extraídos dos estudos epidemiológicos relacionados ao composto benomil.

(conclusão)

Referência	Tipo de estudo	População de estudo	Grupo de referência	Exposição (Nome da substância)	Avaliação da exposição	Desfecho	Métodos utilizados para avaliar o desfecho	Fatores de confusão ajustados no modelo	Resultados encontrados
(MATSUSHITA; AOYAMA, 1981)	Transversal	- 42 agricultores de Bansei, onde se utiliza benomil; - 84 agricultores de Chiran, onde não se utiliza benomil.	Não possui.	Uso de pesticidas pelos agricultores, entre eles o <b>Benlate® (benomil)</b>	Não foi avaliada	Dermatite de contato	Teste de contato (adesivos de 0,1% de benomil).	Nenhum fator de confusão foi utilizado nas análises.	A maior incidência de reação positiva (41%), no teste de contato com Benlate®, foi encontrada em mulheres agricultoras na área de Bansei. Na área de Chiran, cerca de 20% das agricultoras desenvolveram respostas positivas com a preparação de benomil.

\* Fazendeiros, trabalhadores rurais e operários de viveiros.

\*\* Indivíduos empregados por empresas de controle de pragas ou por empresas que utilizam pesticidas.

Nota: HR (razão de risco); IC (intervalo de confiança); OR (*odds ratio*); vs. (versus).

Fonte: Do autor.

Tabela D.2- Principais dados extraídos dos estudos epidemiológicos relacionados a uma mistura complexa de benzimidazóis, carbendazim, tiabendazol e tiofanato-metílico.

Referência	Tipo de estudo	População de estudo	Grupo de referência	Exposição (Nome da substância)	Avaliação da exposição	Desfecho	Métodos utilizados para avaliar o desfecho	Fatores de confusão ajustados no modelo	Resultados encontrados
<b>• Mistura complexa de benzimidazóis</b>									
(BOLOGNESI <i>et al.</i> , 2004)	Transversal	51 floricultores.	24 doadores de sangue saudáveis que viviam na mesma área dos floricultores.	Uso de inúmeros pesticidas pelos floricultores, inclusive uma mistura complexa de <b>benomil, carbendazim e tiofanato-metílico.</b>	Questionários autoaplicáveis.	Micronúcleo (totais, C+MN, C-MN)	Ensaio de micronúcleo em combinação com FISH.	Nenhum fator de confusão foi utilizado nas análises.	Porcentagem mais elevada de MN C+ foi observada em usuários de compostos benzimidazóis (66,52±16,11) em comparação com floricultores que não utilizavam pesticidas dessa classe (63,78±14,02). A frequência de MN C- não diferiu entre os grupos de estudo.
<b>• Carbendazim</b>									
(SHARMA; KAUR, 1990)	Caso-controle	30 agricultores com dermatite de contato.	20 indivíduos jovens, saudáveis e sem dermatite de contato.	Uso de pesticidas pelos agricultores por vários anos, entre eles o <b>carbendazim.</b>	Não foi avaliada.	Dermatite de contato	Teste de contato (adesivos de 1% de carbendazim).	Nenhum fator de confusão foi utilizado nas análises.	Nenhuma reação alérgica foi encontrada no grupo controle. Apenas um caso (agricultor com dermatite de contato) apresentou resposta positiva para o teste de contato com benomil.
<b>• Tiabendazol</b>									
(PENAGOS, 2002)	Transversal	281 trabalhadores de plantações de banana no Panamá.	48 indivíduos que não trabalhavam em plantações de banana no Panamá.	Uso de pesticidas pelos trabalhadores de plantações de banana no Panamá, entre eles o <b>tiabendazol.</b>	Aplicação de questionários.	Dermatite de contato	Teste de contato (adesivos de 0,1% de tiabendazol).	Nenhum fator de confusão foi utilizado nas análises.	Dos indivíduos expostos à agrotóxicos, 10 apresentaram resultados positivos no teste de contato com tiabendazol, sendo considerado um dos sensibilizadores mais frequente entre os resultados positivos (12,8%).
<b>• Tiofanato-metílico</b>									
(LOMBARDI <i>et al.</i> , 2021)	Caso-controle	1042 crianças (0-5 anos) diagnosticadas com câncer.	23158 crianças saudáveis (não diagnosticadas com nenhum tipo de câncer).	Exposição materna (durante a gravidez) e das crianças durante o tempo do estudo a diversos pesticidas, inclusive ao <b>tiofanato-metílico.</b>	Sistema de Estimativa de Pesticidas Ambientais Residenciais.	- Astrocitoma; - Meduloblastoma; - Ependimoma.	Registros no banco de dados de Câncer da Califórnia (entre 1988-2013).	Ajustado por: - SES do bairro; - Ano de nascimento e sexo da criança; - Raça e idade da mãe.	Observou-se riscos elevados, nos modelos ajustados, para astrocitoma difusa (OR= 1,64; IC95%= 1,02-2,66) e ependimoma (OR= 1,72; IC95%= 1,10-2,68) em crianças expostas ao tiofanato-metílico durante a gravidez e/ou durante a vida.

Nota: MN C+ (micronúcleo centrômero positivo); MN C- (micronúcleo centrômero negativo); FISH (hibridização fluorescente *in situ*); SES (status socioeconômico).

Fonte: Do autor.



## APÊNDICE E- AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DOS ARTIGOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS.

Quadro E.1- Avaliação da qualidade dos estudos epidemiológicos incluídos na revisão sistemática.

Avaliação de estudos de coortes, caso-controle ou transversais											
Artigos	Substância	Tipo de estudo	Critérios chave			Outros critérios					Classificação
			1. Pode-se estar confiantes na caracterização da exposição?	2. Pode-se estar confiantes na avaliação dos resultados?	3. O desenho/análise do estudo levou em consideração variáveis de confusão/modificação?	4. A seleção de participantes resultou em grupos de comparação apropriados?	5. Os dados do resultado foram completos sem atrito ou exclusão da análise?	6. Todos os resultados medidos foram relatados?	7. O estudo avaliou a temporalidade da exposição e o resultado?	8. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (os métodos estatísticos eram apropriados e os pesquisadores aderiram ao protocolo do estudo)?	Nível
(BOLOGNESI <i>et al.</i> , 2004)	Mistura de benzimidazóis	Transversal	--	++	--	-	++	--	--	+	2
(DENNIS <i>et al.</i> , 2010)	Benomil	Coorte prospectiva	--	-	+	--	--	+	++	++	2
(MONGE <i>et al.</i> , 2007)		Caso-controle	--	-	--	+	++	+	--	+	2
(WERDER <i>et al.</i> , 2020)		Coorte prospectiva	--	-	+	--	-	+	++	++	2
(NEHÉZ; DÉSI, 1996)		Coorte prospectiva	--	++	--	--	-	+	++	+	2
(PENAGOS, 2002)		Transversal	--	++	--	--	++	+	--	--	2
(LISI; CARAFFINI; ASSALVE, 1986)		Transversal	--	++	--	--	++	+	--	--	2
(MATSUSHITA; AOYAMA, 1981)		Transversal	--	++	--	--	++	+	--	--	2
(SHARMA; KAUR, 1990)		Carbendazim	Caso-controle	--	++	--	--	++	+	--	--
(PENAGOS, 2002)	Tiabendazol	Transversal	--	++	--	--	++	+	--	--	2
(LOMBARDI <i>et al.</i> , 2021)	Tiofanato-metilico	Caso-controle	-	-	+	+	-	++	--	+	2

Nota: ++ (definitivamente baixo risco de viés); + (provavelmente baixo risco de viés); - (provavelmente alto risco de viés); -- (definitivamente alto risco de viés).

Fonte: Do autor.

## APÊNDICE F- PRINCIPAIS DADOS EXTRAÍDOS DOS ARTIGOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EXPERIMENTAIS.

Tabela F.1- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao composto albendazol e seus metabólitos.

(continua)

Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito genotóxico	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Período de exposição	Resultados encontrado	Efeito*
<b>• Albendazol</b>									
(GOIN; MAYER, 1995)	Cepa D61.M de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Albendazol	Indução de perda cromossômica	Negativo (não tratado; DMSO)	Não mencionado	0; 15; 20; 25; 30 µg/mL	18 hrs	A dose ativa mais baixa de albendazol (20 µg/mL) gerou uma frequência de CHRL de cerca de 5 por 10 <sup>6</sup> CFU. A maior indução de CHRL ocorreu na dose mais alta (30 µg/mL), resultando em uma frequência de cerca de 222 por 10 <sup>6</sup> CFU.	•
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	Célula de ovário de hamster chinês	Albendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	3 replicatas	0-0,001 M	24 hrs	Acima 1,56 x 10 <sup>-7</sup> M (concentração limite), aumentos dependentes da concentração em micronúcleos foram observados.	++
(RAMÍREZ; EASTMOND; HERRERA, 2007)	Linfócitos de sangue periférico humano	Albendazol	Não disjunção cromossômica	Negativo (DMSO)	2 replicatas	0; 0,1; 1; 10 µM	24 hrs	Aumento significativo na porcentagem de células que apresentaram eventos de não disjunção, mesmo nas concentrações mais baixas.	+
			Micronúcleo					Aumento estatisticamente significativo de células binucleadas contendo MN após o tratamento com ABZ (0,1; 1,0 µM).	+
(RAMÍREZ <i>et al.</i> , 2001)	Linfócitos de seres humanos	Albendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	Não mencionado	0; 0,1; 1; 10; 100 µM	24 hrs	Aumento significativo do número de células micronucleadas em culturas tratadas com ABZ (10-100 µM).	+
<b>• Sulfóxido de albendazol</b>									
(RAMÍREZ; EASTMOND; HERRERA, 2007)	Linfócitos de seres humanos	Sulfóxido de albendazol	Não disjunção cromossômica	Negativo (DMSO)	2 replicatas	0; 0,1; 1; 10 µM	24 hrs	Aumento significativo na porcentagem de células que apresentaram eventos de não disjunção, mesmo nas concentrações mais baixas.	+
			Micronúcleo					ABZSO foi incapaz de induzir MN, em células binucleadas e monucleadas, em qualquer uma das concentrações testadas.	-
(RAMÍREZ <i>et al.</i> , 2001)	Linfócitos de seres humanos	Sulfóxido de albendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	Não mencionado	0; 0,1; 1; 10; 100 µM	24 hrs	Aumento significativo do número de células micronucleadas em culturas tratadas com ABZSO (100 µM).	+
RAMÍREZ <i>et al.</i> , 2003)	Linfócitos de seres humanos	Sulfóxido de albendazol	Micronúcleo	Negativo (não tratado)	2 replicatas	10 µM	24 hrs	A frequência de MN foi estatisticamente maior nas células tratadas com 10 µM de ABZSO (>20 MN x 1000 células), quando comparadas ao controle (<10 MN x 1000 células).	+
	Fibroblastos de seres humanos		Morfologia do microtúbulo					3 replicatas	2 hrs

Tabela F.1- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao composto albendazol e seus metabólitos.

(conclusão)									
Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito genotóxico	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Período de exposição	Resultados encontrado	Efeito*
<b>• Albendazol sulfona</b>									
(RAMÍREZ <i>et al.</i> , 2001)	Linfócitos de seres humanos	Albendazol sulfona	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	Não mencionado	0; 0,1; 1; 10; 100 µM	24 hrs	Nenhum aumento de MN foi observado	-

\* Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, culturas expostas ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência de efeitos, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: ABZ (albendazol); ABZSO (sulfóxido de albendazol); ABZSO<sub>2</sub> (sulfona de albendazol); CFU (unidade formadora de colônia); CHRL (indução de perda cromossômica); DMSO (dimetilsulfóxido); hrs (horas); M (molar); mL (mililitro); MN (micronúcleo); µg (micrograma); µM (micromolar).

Fonte: Do autor.

Tabela F.2- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao composto benzimidazol.

Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito genotóxico	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
(GOIN; MAYER, 1995)	Cepa D61.M de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Benzimidazol	Indução de perda cromossômica	Negativo (não tratado; DMF)	Não mencionado	0; 450; 600; 750; 900; 1050 µg/mL	18 hrs	O composto benzimidazol não induziu perda cromossômica na linhagem celular testada.	○
(SEILER, 1972)	<i>Salmonella typhimurium</i>	Benzimidazol	Mutação direta e reversa	- Negativo (DMSO); - Positivo (2-AP e 2-AF).	Não mencionado	Não mencionada	Não mencionada	Em ambos os testes, houve um aumento na formação de colônias das bactérias tratadas com benzimidazol, em comparação com o controle negativo.	●

\* Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (●) em comparação com o controle, culturas expostas ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência de efeitos, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) as culturas de controle negativo e expostas ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada.

Nota: DMF (dimetilformamida); hrs (horas); mL (mililitro); µg (micrograma); µM (micromolar); 2-AP (2-aminopurina); 2-AF (2-aminofluoreno).

Fonte: Do autor.

Tabela F.3- Principais dados extraídos do estudo experimental *in vivo* relacionados ao composto benzimidazol.

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito genotóxico	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(SEILER, 1976)	Camundongos ICR	Benzimidazol	Micronúcleo	Animais não tratados	100; 300 mg/kg	2 injeções intraperitoneais com intervalo de 24 hrs.	30 hrs após o primeiro tratamento	Não se observou nenhum aumento no número de PCE micronucleados, pelo contrário, notou-se uma redução na frequência de MN com o aumento da dose de benzimidazol. Na dose de 100 mg/kg de benzimidazol a frequência de MN foi de 4,3 por 1000 PCE e na de 300 mg/kg foi de 3,1, valor inferior ao controle não tratado (3,6 por 1000 PCE).	○

\* Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (○) o grupo controle e exposto ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada.

Nota: hrs (horas); kg (quilograma); mg (miligrama); MN (micronúcleo); PCE (eritrócitos policromáticos).

Fonte: Do autor.

Tabela F.4- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de benomil.

(continua)

Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
<b>• Linhagem celular bacteriana</b>									
(KAPPAS <i>et al.</i> , 1976)	<i>Escherichia coli</i> WP2 uvrA	Benlate® (Benomil 50%)	Mutagênico (Teste de flutuação simplificado)	Negativo (DMSO)	Não mencionado	0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0 µg/mL	Não mencionado	Em doses até 1,0 µg/mL observou-se um efeito mutagênico significativo. Em doses mais altas, houve um declínio que pode ser parcialmente atribuído a efeitos tóxicos.	+
	<i>Escherichia coli</i> WP2					0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 15,0 µg/mL		Nenhuma atividade mutagênica foi observada.	-
	<i>Escherichia coli</i> CM611 uvrA exrA								-
	<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i> TA1535					0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 5,0 µg/mL		Em doses até 1,0 µg/mL observou-se um efeito mutagênico significativo. Em doses mais altas, houve um declínio que pode ser parcialmente atribuído a efeitos tóxicos.	+
	<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i> TA1538						Nenhuma atividade mutagênica foi observada.	-	
(KVELLAN D, 1982)	Bacteriófago T4D ( <i>Escherichia coli</i> B, Bb, CR63 e K12)	Benlate® (Benomil 50%)	Mutagênico (Frequência de mutantes do tipo r)	Negativo (DMSO)	Não mencionado	0,12-1078 µg/mL	90 min	Observou-se uma proporção de mutantes duas vezes maior que no controle nas concentrações de Benlate® de: 11,5 µg/mL (13,8 por 10 <sup>4</sup> fagos sobreviventes), 22,5 µg/mL (14,2 por 10 <sup>4</sup> fagos sobreviventes) e 745 µg/mL (42,8 por 10 <sup>4</sup> fagos sobreviventes), sendo somente na última observado um aumento estatisticamente significativo. Uma vez que apenas uma entre 38 doses de Benlate® avaliadas apresentou frequência significativamente maior de mutação do que o controle, a razão para isso deve ser considerada acidental e, portanto, o composto não foi mutagênico.	-
(FICSOR; BORDAS; STEWART, 1978)	<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i> hisG46, TA100, TA1530, TA1535 e TA1950	- Benlate® (Benomil 50%); - Fundazol® (Benomil 50%); - Benomil.	Mutagênico (Teste de mancha/ponto não sobreposto e ensaio microssomal)	- Negativo (DMSO); - Positivo (SZN; MNNG, N-AAF; 2- AP).	2-7 replicatas	10; 50; 100; 200; 400; 500; 1000; 1250; 1500; 2500; 5000 µg/placa	Não mencionado	Para todos os testes, nenhuma atividade mutagênica foi observada nas concentrações de benomil, Benlate® e Fundazol® avaliadas.	-
(SARRIF <i>et al.</i> , 1994)	<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i> TA98, TA1537, TA100 e TA1535	Benomil Benlate® (Benomil 50%)	Mutagênico (Teste de Ames)	Negativo (DMSO) Negativo (água)	2 replicatas	10-600 µg/placa	48 hrs	Nas cepas e concentrações avaliadas, o ingrediente ativo benomil e a formulação comercial Benlate® não apresentaram nenhuma atividade mutagênica.	-
(CARERE <i>et al.</i> , 1978)	<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i> TA1535, TA1536, TA1537 e TA1538	Benomil	Mutagênico (Teste de Ames)	Negativo (não tratado)	3 replicatas	20 µg	Não mencionado	Nas cepas de <i>Salmonella typhimurium</i> analisadas, o composto benomil não apresentou nenhuma atividade mutagênica.	○

Tabela F.4- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de benomil.

(continua)

Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicatas/ dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
(GEORGIEVA <i>et al.</i> , 1990)	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535 e TA1537	Benomil	Mutagênico (Teste de Ames)	- Negativo (não tratado); - Positivo (aflatoxina).	3 replicatas	2; 5; 10; 20; 50; 100; 150; 200 µg/placa	48 hrs	Nas cepas e concentrações avaliadas, o composto benomil não apresentou nenhuma atividade mutagênica, até mesmo na cepa TA1535 (cepa sensível a UV).	-
• Linhagem celular fúngica									
(KAPPAS; BRIDGES, 1981)	<i>Aspergillus nidulans</i> UT439	Benomil	Mutagênico (Teste de flutuação)	Negativo (etanol)	5 replicatas	0,25; 0,30; 0,40 µg/mL	10 dias	Nenhuma atividade mutagênica foi observada.	-
	Benomil induziu mutações reversas de forma dependente da dose e estatisticamente significativa, quando comparado ao grupo controle.							++	
	Benomil induziu mutações reversas, mas a dose-resposta foi marcadamente não linear, com um platô nas concentrações mais altas testadas.							+	
(BERTOLDI <i>et al.</i> , 1980)	Cepa diplóide D4 de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Benomil	Mutagênico (Indução da conversão do gene mitótico)	Negativo (não tratado)	2 replicatas	400; 3200 ppm	1; 6 hrs	Em todas as concentrações de benomil testadas e duração da exposição, nenhum aumento da indução da conversão do gene mitótico foi observado.	-
	Cepa diplóide de <i>Aspergillus nidulans</i>					25; 50; 100; 200 ppm	1; 4 hrs		
(BIANCHI <i>et al.</i> , 1994)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D7	Benomil	Mutagênico (mutação reversa e conversão gênica)	Negativo (DMSO)	3 replicatas	5; 50; 500 µg/mL	5 hrs	Em nenhuma concentração testada de benomil houve a indução de reversão e conversão gênica.	-
(ALBERTINI; BRUNNER; WÜRGLE, 1993)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D61.M	Benomil	Mutagênico (recombinação mutagênica)	Negativo (DMSO)	2 replicatas	5-60 µg/ml	16; 24 hrs	Não houve nenhum aumento de recombinantes/mutantes.	○
			Má segregação cromossômica					Após 16 e 24 horas de exposição ao benomil, foram observados aumentos dependentes da dose na frequência de má segregação cromossômica, em relação ao controle.	++
(ALBERTINI, 1991)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D61.M	Benomil	Má segregação cromossômica	- Negativo (DMSO); - Positivo (acetato de etila).	Não mencionado	5-60 µg/ml	16; 24 hrs	Após 16 e 24 horas de exposição ao benomil, foram observados aumentos dependentes da dose na frequência de má segregação cromossômica, em relação ao controle. A menor dose eficaz testada foi de 30 µg/ml.	++
(HOWLETT; SCHIESTL, 2000)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> RSY6	Benomil	Aneuploidia (frequência de revertentes e indução de recombinação cromossômica)	Negativo (não tratado)	3 replicatas	13,8; 27,6; 41,4; 55,2 µM	17 hrs	O benomil induziu, cerca de duas vezes a mais, a recombinação intracromossômica na concentração mais alta testada (55,2 µM= 2,3), quando comparado ao controle (1,0). Além disso, a substância produziu um aumento na frequência dos revertentes His+ Leu+ de uma maneira aproximadamente linear, dependente da dose (variando de 0,5 por 10 <sup>6</sup> sobreviventes no grupo controle até 34,9 por 10 <sup>6</sup> sobreviventes na concentração de 55,2 µM).	++

Tabela F.4- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de benomil.

(continua)

Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
<b>• Linhagem celular vegetal</b>									
(NICOLOFF; KAPPAS, 1987)	Sementes de <i>Hordeum vulgare</i>	Benomil	Aberrações no fuso ----- Distúrbios mitóticos	Negativo (não tratado; etanol)	2 replicatas	0,00003; 0,0001 M	6 hrs	Nenhum aumento estatisticamente significativo de aberrações foi induzido com as concentrações de benomil avaliadas. ----- Observou-se um aumento de 40 e 60 vezes nos distúrbios mitóticos nas culturas tratadas, respectivamente, com 0,00003 (4,2%) e 0,0001 M (6,5%) de benomil, quando comparado ao controle (0,1%). Os principais distúrbios incluíram: perturbações da formação do fuso, condensação cromossômica anormal, não disjunção mitótica e atraso cromático.	○  ●
<b>• Linhagem celular animal</b>									
(RAINALDI <i>et al.</i> , 1987)	Células de hamster chinês V79/AP4	Benomil	Aneuploidia	Negativo (não tratado)	Não mencionado	2,5; 10 µg/mL	12 hrs (mais 2, 4, 6 e 8 hrs de recuperação)	A frequência de células aneuplóides variou de 5,55%-21,05% na concentração de 2,5 µg/mL e de 4,34%-37,89% na concentração de 10 µg/mL. Em ambas as concentrações houve um aumento da frequência de células aneuplóides em relação ao aumento do tempo de recuperação e, em todos os casos, a porcentagem foi maior do que no grupo controle (0,14%).	●
(GIBSON <i>et al.</i> , 1995)	Células embrionárias primárias de hamsters Golden Syrian	Benomil	Aneuploidia (ensaio de transformação morfológica)	- Negativo (DMSO); - Positivo (benzo[a] pyrene).	Não mencionado	0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 µg/mL	24 hrs	Observou-se um aumento significativo na frequência de transformação morfológica na concentração de 2,0 µg/mL de benomil (0,91%). A frequência de transformação em 2,5 µg/mL também foi elevada (0,66%), mas não estatisticamente significativa. A resposta à dose foi positiva no teste de tendência ( $p < 0,05$ ).	++
(KOCHENDÖ RFER <i>et al.</i> , 1996)	Células de Hamster Chinês V79  Fibroblastos embrionários de camundongo 3T3	Benomil	Aberrações no fuso	Negativo (não tratado; DMSO)	Não mencionado	0,1; 0,5; 1; 5; 10 µg/mL	4; 24 hrs	Nenhum aumento significativo na frequência de transformação morfológica foi observado nas doses testadas. ----- No tratamento de 24 horas, a frequência de fusos aberrantes variou de 25% (0,1 µg/mL) até 100% (5 e 10 µg/mL). Um aumento nos fusos degenerados também foi observado na concentração de 5 µg/mL (41%), com posterior redução para 33% em 10 µg/mL. Nenhum efeito foi observado no tratamento de 4 horas. ----- No tratamento de 24 horas, um aumento progressivo de fusos aberrantes foi observado, variando de 21% (0,1 e 0,5 µg/mL) até 99% e 98% (5 e 10 µg/mL, respectivamente). Além disso, notou-se um aumento nos fusos degenerados, variando de 18% (0,1 µg/mL) até 73% (10 µg/mL). Nenhum efeito foi observado no tratamento de 4 horas.	●  ●
(STERNES; VIG, 1989)	Células L-929 de camundongo	Benomil	Micronúcleo	Negativo (não tratado)	Não mencionado	10; 15; 20 µg/mL	12 hrs	Em todos os tratamentos, a frequência MNcinetócoros positivos (17,58-31%) foi maior do que a de micronúcleos cinetócoros negativos (2,9-5,9%). Além disso, a frequência de micronúcleos cinetócoros positivos nas células tratadas com benomil foi maior do que no controle negativo (2,67%).	●

Tabela F.4- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de benomil.

(continua)

Referência	Linagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKA MP, 2013)	Célula de ovário de hamster chinês (CHO) K1	Benomil	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	3 replicatas	0-0,001 M	24 hrs	Acima da concentração de 0,00000227 M de benomil, aumentos de micronúcleos, dependentes da concentração, foram observados.	++
(PIATTI; MARABINI; CHIESARA, 1994)	Hepatócitos parenquimatosos de ratos albinos machos (Sprague-Dawley)	Benomil	Micronúcleo	- Negativo (DMSO); - Positivo (ciclofosfamida)	3 replicatas	5; 25; 50 µg/mL	Não mencionado	Observou-se um aumento estatisticamente significativo, depende da dose, na frequência de micronúcleos nas células tratadas com benomil, em comparação com o grupo controle negativo.	++
(EASTMOND ; TUCKER, 1989)	Células de ovário de hamster chinês (CHO)	Benomil	Micronúcleo	Negativo (DMSO; PBS)	Não mencionado	3,44; 10,3; 34,4 µM	6 hrs	A exposição ao benomil resultou em aumentos, relacionados à dose, na formação de células micronucleadas, sendo estatisticamente significativo nas concentrações de 10 e 34,4 µM.	++
(OHNISHI <i>et al.</i> , 2008)	Células de camundongo RAW 264	Benomil	Imunotoxicidade de (inibição/ativação de IFN-β)	Negativo (não tratado)	3 replicatas	10-100 µM	Não mencionado	O benomil inibiu a ativação do promotor do IFN-β induzida por lipopolissacarídeo, quando comparado ao controle, mas nenhuma diferença estatística foi observada.	±
<b>• Linagem celular híbrida (humano-animal)</b>									
(ATHWAL; SANDHU, 1985)	Célula híbrida (R3-5) de camundongo-humano	Benomil	Aneuploidia ----- Poliploidia	Negativo (não tratado)	Não mencionado	1,5; 3; 7,5; 15 µg/mL	24 hrs	Em comparação com o controle, a frequência de células aneuplóides foi maior mesmo em baixas concentrações de benomil. ----- Na concentração de 1,5 µg/mL de benomil, a frequência de células poliplóides foi considerada equivalente ao controle. Em contrapartida, um aumento foi observado em doses mais altas, sendo a maior porcentagem encontrada na concentração de 15 µg/mL	● ●
(ZELESCO; BARBIERI; GRAVES, 1990)	Célula híbrida de hamster chinês-humano (EUBI)	Benomil	Aneuploidia ----- Poliploidia	Negativo (DMSO)	Não mencionado	2; 4; 8 µg/mL	24 hrs (mais 24 hrs de recuperação)	Após exposição ao benomil, encontrou-se um aumento na indução de aneuploidia. ----- Frequência de células aneuplóides= 0% (2 µg/mL); 20% (4 µg/mL); 35% (8 µg/mL). ----- Após exposição ao benomil, encontrou-se um aumento na indução de aneuploidia. ----- Frequência de células poliplóides= 0% (2 µg/mL); 25% (4 µg/mL); 85% (8 µg/mL).	● ●
<b>• Linagem celular humana</b>									
(DOLARA <i>et al.</i> , 1992)	Linfócitos de sangue periférico humano	Benomil	Troca de cromátides irmãs	Negativo (não tratado)	Não mencionado	2; 4; 6 µg/mL	72 hrs	Observou-se um aumento moderado (p= 0,055) na frequência de troca de cromátides irmãs (SCE), quando comparado ao grupo controle negativo.	±



Tabela F.4- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de benomil.

(continua)

Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
(GEORGIEVA <i>et al.</i> , 1990)	Linfócitos humanos	Benomil	Troca de cromátides irmãs	Negativo (não tratado)	Não mencionado	0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2 µg/placa	72 hrs	Observou-se um aumento estatisticamente significativo na frequência de troca de cromátides irmãs nas concentrações testadas mais altas de benomil (0,5; 1; 2 µg/mL), em comparação ao controle.	+
			Aberração cromossômica					Nenhum aumento de aberrações estruturais cromossômicas foi observado.	-
			Aneuploidia					Em concentrações de 0,25-4 µg/mL, aumentou-se significativamente o número de células aneuplóides na primeira e na segunda divisão mitótica, em comparação ao controle. O tipo mais comum de células aneuplóides encontradas foram 2n+1.	+
(RAIMONDI <i>et al.</i> , 1989)	Linfócitos de sangue periférico humano	Benlate® (Benomil 50%)	Aneuploidia	Negativo (não tratado)	Não mencionado	1; 3; 10 µg/mL	24 hrs	Um aumento na indução de aneuploidia foi observado em todos os tratamentos realizados com Benlate®, em comparação ao grupo do controle negativo. Entretanto, nenhuma análise estatística foi realizada.	●
(BENTLEY <i>et al.</i> , 2000)	Linfócitos binucleados humanos	Benomil	Aneuploidia	- Negativo (DMSO); - Positivo (colchicina)	2 replicatas	25-3293 ng/mL	48 hrs	Após a exposição ao benomil, diversos eventos aneuplóides foram notados, principalmente a não disjunção, em todas as concentrações testadas, com as maiores frequências observadas, quando comparado ao grupo controle negativo. Uma relação dose-resposta foi notada a partir da concentração de 1100-1200 ng/mL.	++
(KOCHENDÖ RFER <i>et al.</i> , 1996)	Fibroblastos derivados da biópsia do tendão de Aquiles	Benomil	Aberração no fuso	Negativo (não tratado; DMSO)	Não mencionado	0,1; 0,5; 1; 5; 10 µg/mL	4 hrs	Nenhum efeito foi observado em nenhuma dose testada.	○
							24 hrs	A exposição ao benomil produziu um aumento na frequência de fuso aberrantes na concentração de 5 µg/mL (92%) e 10 µg/mL (96%), quando comparado ao grupo controle. Porcentagem de 80% e 96% de fusos degenerados também foram observados nas mesmas concentrações, respectivamente.	●
(BIANCHI-SANTAMARI <i>A et al.</i> , 1997)	Linfócitos de sangue periférico humano	Benomil	Micronúcleo	- Negativo (DMSO); - Positivo (bleomicina).	4 replicatas	1; 10; 100 µg/mL	2 hrs	Quando comparado ao controle, houve um aumento estatisticamente significativo na frequência de micronúcleos em células binucleadas tratadas com benomil.	+

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (±) associação não significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, culturas expostas ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência de efeitos, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) as culturas de controle negativo e expostas ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: DMSO (dimetilsulfóxido); hrs (horas); IFN-β (interferon beta); min (minutos); M (molar); mL (mililitro); MNNG (N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina); N-AAF (N-acetilaminofluoreno); ng (nanograma); p (p-valor); PBS (tampão fosfato-salino); ppm (parte por milhão); SCE (troca de cromátides irmãs); SZN (estreptozotocina); µg (micrograma); µM (micromolar); 2-AP (2-aminopurina).

Fonte: Do autor.

Tabela F.5- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de benomil.

(continua)

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
<b>• Estudos experimentais <i>in vivo</i> com vegetais</b>									
(SHARMA; KAUR, 1990)	- <i>Allium cepa</i> ; - <i>Allium sativum</i> ; - <i>Vicia faba</i> .	Benlate® (Benomil 50%)	Aberração cromossômica	Negativo (vegetais não tratados com Benlate®)	250; 500; 1000 ppm	Vegetais expostos sistemicamente a uma dose única	12, 24 e 48 hrs após o tratamento	Todas as concentrações de Benlate® testadas provocaram danos cromossômicos em todos os períodos de exposição, com diferenças estatisticamente significativas, quando comparado ao controle. Os principais danos incluíram: quebras cromossômicas e da cromátide; lacunas; trocas; cromossomos em anel; e pontes.	++
<b>• Estudos experimentais <i>in vivo</i> com animais mamíferos</b>									
(SHERMAN; CULIK; JACKSON, 1975)	10 ratos adultos machos ChR-CD	Benlate® (Benomil 50%)	Mutagênico (letal dominante)	Negativo (animais não tratados com Benlate®)	0,025; 0,125; 0,250% de Benlate® na ração	Doses diárias através da via oral (alimentar)	Após os 7 dias de exposição	Benlate® não causou nenhum tipo de mutação letal dominante.	○
(GEORGIEVA <i>et al.</i> , 1990)	4 ratos Wistar machos e fêmeas	Fundazol® (Benomil 80%)	Mutagênico (letal dominante)	Negativo (animais não tratados com Fundazol®)	10; 50; 200 mg/kg	Doses diárias através da via oral (gavagem)	Após os 70 dias de exposição	Nenhum parâmetro para letalidade dominante mostrou qualquer efeito positivo definitivo.	-
			Micronúcleo					Verificou-se que o Fundazol®, na concentração de 50 mg/kg de peso corporal, aumentou o número de micronúcleos em ratos tratados cronicamente, em comparação ao controle negativo.	+
(SEILER, 1976)	Camundongos ICR	Benomil	Micronúcleo	Negativo (animais não tratados com benomil)	500; 1000 mg/kg	2 doses aplicadas através da via oral (gavagem) em um intervalo de 24 hrs	30 hrs após a primeira dose	Observou-se um aumento no número de eritrócitos policromáticos micronucleados (500 mg/kg= 4,2 MN por 1000 eritrócitos policromáticos; 1000 mg/kg= 12,60), quando comparado ao controle.	●
(SARRIF <i>et al.</i> , 1994)	5 camundongos machos e 5 fêmeas B6D2F1/Cr-IBR (BDF1)	Benomil	Micronúcleo	- Negativo: animais tratados com solvente metilcelulose; - Positivo: animais tratados com VCR ou CP.	100; 2500; 5000 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	48 hrs após a exposição	Aumentos estatisticamente significativos nas frequências totais e de micronúcleos K+ foram induzidos em 2500 mg/kg (1,02-1,08 MN; 0,80-0,94 MNK+) e 5000 mg/kg (1,24-1,48 MN; 1,04-1,18 MNK+), quando comparado ao grupo controle negativo (0,26-0,30 MN; 0,12-0,18 MNK+). A maioria dos micronúcleos induzidos por benomil a 2500 e 5000 mg/kg foram K+ (médias de 82%).	+
(BARALE <i>et al.</i> , 1993)	4 camundongos albinos suíços machos	Benomil	Micronúcleo	Negativo (animais tratados apenas com o solvente DMSO)	1 g/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	6, 18, 24, 30, 38 e 48 hrs após o tratamento	Observou-se uma indução significativa de micronúcleos após a administração de benomil. A média de micronúcleos foi maior em todos os tempos analisados, quando comparado ao controle, com o valor máximo induzido em 38 hrs.	+
			Poliploidia					Células poliplóides (4n) aumentaram significativamente, em relação ao controle, apenas 30 hrs após o tratamento com benomil.	+
			Aberração cromossômica					Nenhum aumento significativo de aberrações cromossômicas foi observado nos grupos tratados com benomil.	-

Tabela F.5- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de benomil.

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(AMER; DONYA; ALY, 2003)	5 camundongos suíços brancos machos	Benomil	Troca de cromátides irmãs (SCE)	- Negativo (animais não tratados; animais alimentados com ração não tratada com benomil);	1; 2; 4 g/kg	Doses diárias através da via oral (alimentar)	Após as 2, 4 e 8 semanas de exposição	Camundongos alimentados com grãos de trigo tratados com 1, 2 e 4 g/kg de benomil, e armazenados por 6 e 12 semanas, apresentaram um aumento dependente da dose na frequência de SCE. Alimentar camundongos com os grãos armazenados por períodos mais longos induziu uma frequência estatisticamente significativa de SCEs.	++
			Aberração cromossômica	- Positivo: 1mg/kg de mitomicina C via intraperitoneal.				Um aumento gradual nas aberrações cromossômicas induzidas foi observado nos animais tratados com benomil. O prolongamento do período de armazenamento para 12 semanas teve um forte efeito na incidência de aberrações, sendo estatisticamente significativo mesmo após o controle do número de lacunas cromátides.	+
(ADHIKARI ; GROVER, 1988)	2 ratos albinos machos de raça aleatória da cepa Wistar	Benomil	Aberração cromossômica	Negativo (animais tratados apenas com o solvente DMSO)	250; 500; 1000 mg/kg	2 doses intraperitoneais aplicadas em um intervalo de 24 hrs	54 hrs após a primeira dose	A frequência de células aberrantes variou de 5,4% a 9,3% e foi dependente da dose. Apenas a frequência de quebra total (0,11%) e de células aberrantes (9,3%) na concentração mais alta (1000 mg/kg) diferiu significativamente do controle negativo (0,05; 4,5% respectivamente).	++
(MAILHES; AARDEMA, 1992)	Camundongos ICR fêmeas virgens	Benomil	Aneuploidia	Negativo (animais tratados apenas com o veículo óleo de milho)	500; 1000; 1500; 2000 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	17 hrs após o tratamento	Houve um aumento estatisticamente significativo na frequência de oócitos hiperploides em todos os grupos que receberam benomil, em comparação com os controles.	+
			Poliploidia					Observou-se ovócitos poliploides na metáfase II em alguns dos grupos tratados com benomil, enquanto nenhum oócito poliploide foi observado em animais de controle simultâneos.	+
(BÖRZSÖN YI; PINTÉR, 1977)	10 camundongos suíços fêmea	Benlate® (Benomil 50%)	Carcinogênico	Negativo (animais tratados apenas com água)	600 mg/kg	2 doses por semana através da via oral (gavagem)	Após os 180 dias de tratamento	Nenhum tumor foi encontrado em animais tratados com benomil.	-

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (±) associação não significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, os grupos expostos ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência dos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) o grupo controle e exposto ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: ChR-CD (Charles River-Caesarean Derived); CP (ciclofosfamida); DMSO (dimetilsulfóxido); g (grama); hrs (horas); kg (quilograma); K+ (cinetocoro positivo); mg (miligramas); MN (micronúcleo); MNK+ (micronúcleo cinetocoro positivo); ppm (parte por milhão); SCE (troca de cromátides irmãs); VCR (sulfato de vincristina).

Fonte: Do autor.

Tabela F.6- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
<b>• Linhagem celular bacteriana</b>									
(SEILER, 1972)	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1531, TA1532 his D 3052 e TA1534	Carbendazim	Mutagênico (Teste de Ames)	- Negativo (DMSO); - Positivo (2-AP; 2-AF).	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	Nenhuma atividade mutagênica foi observada.	○
	Em comparação ao controle negativo, houve aumento na formação de colônias mutantes em culturas tratadas com carbendazim.							●	
(FICSOR; BORDAS; STEWART, 1978)	<i>Salmonella typhimurium</i> TA100, TA1530, TA1535 e TA1950	- Formulação comercial (50% de carbendazim); - Carbendazim.	Mutagênico (Teste de mancha/ponto não sobreposto e ensaio microssomal)	- Negativo (DMSO); - Positivo (SZN; MNNG; 2-AP; N-AAF).	8-11 replicatas	50; 100; 200; 400; 500; 1000; 1500; 2000 µg/placa	Não mencionado	Nenhuma atividade mutagênica foi observada.	-
	<i>Salmonella typhimurium</i> hisG46	Carbendazim						Carbendazim (100 µg/placa) mostrou uma atividade mutagênica estatisticamente significativa.	+
(SARRIF <i>et al.</i> , 1994)	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98 e TA1537	Carbendazim	Mutagênico (Teste de Ames)	Negativo (DMSO)	2 replicatas	0-10000 µg/placa	48 hrs	Quando comparado ao controle negativo, culturas expostas ao carbendazim apresentaram maior frequência de mutação.	●
	<i>Salmonella typhimurium</i> TA100 e TA1535							Nenhuma das concentrações de carbendazim testadas causou mutações nos pares de bases.	○
(ALBERTINI, 1989)	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535, TA100 e TA102	Bavistin®	Mutagênico (Teste de Ames)	- Negativo (DMSO); - Positivo (4-NQO).	3 replicatas	500; 750; 1250; 2500; 5000 µg/mL	48 hrs	Nenhum aumento na frequência de revertentes foi observado para todas as cepas testada, com e sem mistura de ativação metabólica (S9).	○
	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1537, TA1538, TA97 e TA98							Em comparação com o controle negativo, o Bavistin®, com a mistura S9, induziu um aumento no número de seus revertentes.	●
(PANDITA, 1988)	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98 e TA100	Bavistin®	Mutagênico (Teste de Ames)	Negativo (DMSO)	3 replicatas	1; 10; 20; 40; 80; 160; 240; 300 µg/placa	48 hrs	Nenhuma atividade mutagênica foi observada, na presença ou ausência da mistura S9.	○
<b>• Linhagem celular fúngica</b>									
(ALBERTINI, 1989)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D7	Bavistin®	Mutagênico (Teste de Ames)	- Negativo (DMSO); - Positivo (4-NQO).	3 replicatas	10; 20; 30; 40 µg/mL	16 hrs	Nenhuma atividade mutagênica foi observada em culturas tratadas com Bavistin®, na ausência ou presença da mistura S9.	○

Tabela F.6- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
(WOOD, 1982)	Cepas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Carbendazim	Mutagênico (mutação auxotrófica recessiva)	Negativo (não tratado; DMSO)	Não mencionado	0,1; 0,5 mM	12-48 hrs	Em comparação com o controle negativo, o carbendazim não apresentou atividade mutagênica.	○
			Recombinação intragênica					Em comparação com o controle negativo, o carbendazim não induziu recombinação intragênica.	○
			Recombinação intergênica					Observou-se um aumento de 5 a 20 vezes na frequência de recombinantes após o tratamento com carbendazim.	●
			Poliploidia					Quando comparado ao controle negativo, o carbendazim induziu poliploidia nas cepas avaliadas.	●
(WHITTAKER <i>et al.</i> , 1990)	Cepa de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Bavistin®	Aneuploidia	Negativo (não tratado; DMSO)	3 replicatas	0,001; 0,005; 0,01; 0,025; 0,05; 0,075; 0,1 mg/mL	7-10 dias	Em comparação com as culturas de controle negativo, observou-se altos níveis de ganho cromossomo mitótico e meiótico (hiperplóidia) em culturas tratadas com Bavistin®.	●
(ALBERTINI, 1991)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D61.M	Bavistin®	Aneuploidia	- Negativo (DMSO); - Positivo (acetado de etila).	Não mencionado	2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 20 µg/mL	16; 24 hrs	A frequência de má segregação cromossômica em culturas tratadas com Bavistin® foi maior do que o controle negativo, mas nenhuma análise estatística foi realizada.	●
● <b>Linhagem celular animal</b>									
(FELLOWS <i>et al.</i> , 2011)	Células de linfoma de camundongo L5178Y T K+/-	Carbendazim	Mutagênico (frequência de mutante)	- Negativo (DMSO); - Positivo (4-NQO).	2 replicatas	5; 8; 10; 13; 16 µmol/L	24 hrs	Aumentos significativos na frequência mutante foram observados em culturas tratadas com carbendazim 13 µmol/L (318-430 x 10 <sup>-6</sup> ) e 16 µmol/L (568 x 10 <sup>-6</sup> ), quando comparado ao controle negativo (65-120 x 10 <sup>-6</sup> ). No entanto, por se tratar de concentrações altamente tóxicas (≤17% crescimento total relativo), o carbendazim foi considerado fracamente positivo.	+
(SEELBACH <i>et al.</i> , 1993)	Células de pulmão de hamster chinês (V79)	Carbendazim	Micronúcleo	- Negativo (não tratado; DMSO); - Positivo (colcemida).	1 replicata	0,6; 1,9; 6,1; 19,1 µg/mL	3 hrs (mais 3,5 hrs de recuperação)	A frequência de células micronucleadas foi superior em todas as concentrações de carbendazim testadas, quando comparado ao controle negativo e positivo. Cerca de 88% dos micronúcleos observados eram cinetecoros positivos.	●

Tabela F.6- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
<b>• Linhagem celular animal</b>									
(FELLOWS <i>et al.</i> , 2011)	Células de linfoma de camundongo L5178Y T K+/-	Carbendazim	Mutagênico (frequência de mutante)	- Negativo (DMSO); - Positivo (4-NQO).	2 replicatas	5; 8; 10; 13; 16 µmol/L	24 hrs	Aumentos significativos na frequência mutante foram observados em culturas tratadas com carbendazim 13 µmol/L (318-430 x 10 <sup>-6</sup> ) e 16 µmol/L (568 x 10 <sup>-6</sup> ), quando comparado ao controle negativo (65-120 x 10 <sup>-6</sup> ). No entanto, por se tratar de concentrações altamente tóxicas (≤17% crescimento total relativo), o carbendazim foi considerado fracamente positivo.	+
(SEELBACH <i>et al.</i> , 1993)	Células de pulmão de hamster chinês (V79)	Carbendazim	Micronúcleo	- Negativo (não tratado; DMSO); - Positivo (colcemida).	1 replicata	0,6; 1,9; 6,1; 19,1 µg/mL	3 hrs (mais 3,5 hrs de recuperação)	A frequência de células micronucleadas foi superior em todas as concentrações de carbendazim testadas, quando comparado ao controle negativo e positivo. Cerca de 88% dos micronúcleos observados eram cinetecoros positivos.	●
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	Células de ovário de hamster chinês (CHO) K1	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	3 replicatas	0-0,001 M	24 hrs	Acima da concentração de 0,00000181 M de carbendazim, aumentos estatisticamente significativos de micronúcleos, e dependentes da concentração, foram observados.	++
			Micronúcleo			0,5; 1; 2,5; 5 µg/mL	30 hrs	Houve um aumento estatisticamente significativo, e dose-dependente, da frequência de micronúcleos em células mononucleadas e binucleadas tratadas com carbendazim.	++
(DE STOPPELAAR <i>et al.</i> , 2000)	Fibroblastos primários de ratos machos RIV (Tox Wistar)	Carbendazim	Aneuploidia	Negativo (não tratado)	Não mencionado	0,5; 1; 2,5 µg/mL	30; 48 hrs	Eventos de aneuploidia, como perda de cromossomos, não disjunção e quebras cromossômicas, foram significativamente aumentados em culturas tratadas com carbendazim, principalmente na maior concentração.	+
			Poliploidia			1; 2,5; 5; 10; 20 µg/mL		Na presença de citocalasina B observou-se uma redução na frequência de células poliplóides tratadas com 2,5 µg/mL de carbendazim (0,3%), quando comparado ao controle negativo (4,5%). Na ausência dessa substância notou-se um aumento estatisticamente significativo de células poliplóides em culturas tratadas com carbendazim, atingindo a maior frequência em 20 µg/mL (40-50%).	+

Tabela F.6- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Linagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
(VIGREUX <i>et al.</i> , 1998)	Células de ovário de hamster chinês	Carbendazim	Dano ao DNA (ensaio cometa)	- Negativo (DMSO); - Positivo (etoposídeo).	4 replicatas	25; 50; 250 µM	1 hr	Nenhum aumento estatisticamente significativo de danos ao DNA foi observado.	-
			4 hrs				Notou-se um aumento estatisticamente significativo de AC numéricas em todas as concentrações de carbendazim testadas, em comparação ao controle. Em contrapartida, nenhuma AC estrutural foi observada.	+	
• Linagem celular humana									
(HUMMELEN; ELHAJOUJI; KIRSCH- VOLDERS, 1995)	Linfócitos de periférico humano	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	2 replicatas	5; 10; 15; 20; 25 µM	48 hrs	A exposição ao carbendazim induziu um aumento, dependente da dose, estatisticamente significativo na frequência de micronúcleo em células binucleadas e de MN C+ para todas as concentrações, quando comparado ao controle. Cerca de 79% (5 uM) e 89% (10 µM) dos micronúcleos observados eram MN C+.	++
(VERMA <i>et al.</i> , 2017)	Células linfoblastóides humanas TK6	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (não tratado)	Não mencionado	0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,0; 1,6 µg/mL	4 hrs (mais 26 hrs de exposição)	Nenhum aumento na frequência de MN foi detectado após o tratamento com carbendazim.	-
							30 hrs (mais 26 hrs de exposição).	Aumento significativo na frequência de MN foi observado nas maiores concentrações de carbendazim (0,8; 1; 1,6 µg/mL) após o tratamento, quando comparado ao controle negativo.	+
(VERMA <i>et al.</i> , 2018)	Células linfoblastóides humanas TK6 e MCL-5	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (não tratado)	3 replicatas	0,8; 1,0; 1,6 µg/mL	Não mencionado	Identificou-se um aumento significativo na frequência de micronúcleos em todas as doses testadas, quando comparado as culturas não tratadas. Carbendazim induziu um claro aumento dependente da concentração nas frequências de MN em células mononucleadas, que se tornou estatisticamente significativo nas concentrações mais altas (aproximadamente 10%). Entretanto, a frequência de MN em células binucleadas foi muito superior (variando de 20-90%).	+
(ELHAJOUJI; CUNHA; KIRSCH- VOLDERS, 1998)	Linfócitos humanos	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (não tratado)	2 replicatas	0,03; 0,05; 0,10; 0,20; 0,30; 0,50; 0,75; 1,00; 1,50; 2,00 µg/mL	48 hrs	Carbendazim induziu um aumento estatisticamente significativo, dependente da concentração, na frequência de MN em células binucleadas, em comparação com o controle (1-4%). O mesmo efeito também foi observado para MN C+ (controle= 29,63-30,77%; 5,20 µM= 79,46%).	++
(ELHAJOUJI; VAN HUMMELEN; KIRSCH- VOLDERS, 1995)	Linfócitos humanos	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (DMSO; PBS)	2 replicatas	0-10 µM	48 hrs	Carbendazim induziu um aumento estatisticamente significativo, dependente da concentração, na frequência de MN em células binucleadas, em comparação com o controle (1-4%). O mesmo efeito também foi observado para MN C+ (controle= 29,63-30,77%; 5,20 µM= 79,46%).	++

Tabela F.6- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Linhagem celular	IA/formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
(DECORDIER <i>et al.</i> , 2009)	Linfócitos humanos	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (não tratado; DMSO)	1 replicata	2,5; 5,0; 7,5 µg/mL	72 hrs	Em comparação ao controle negativo, observou-se um aumento na frequência de MN em células binucleadas tratadas com carbendazim, em todas as concentrações testadas. Em relação a indução de MN em células mononucleadas, o aumento da frequência foi observado somente na concentração de 7,5 µg/mL (11,3%), quando comparado ao controle negativo (1,6-2,2%).	●
(PANDITA, 1988)	Linfócitos de sangue periférico humano	Bavistin®	Troca de cromátides irmãs	Negativo (DMSO)	Não mencionado	1; 5; 10; 20; 40;60 µg/mL	48 hrs	Um aumento estatisticamente significativo na frequência de troca da cromátide irmã foi observado nas concentrações de 30 e 40 µg/mL quando comparado ao controle.	+
(BENTLEY <i>et al.</i> , 2000)	Linfócitos humanos	Carbendazim	Aneuploidia	- Negativo (DMSO); - Positivo (vimblastina; colchicina).	2 replicatas	21-5000 ng/mL	48 hrs	Em baixas concentrações de carbendazim a frequência dos eventos aneuplóides foram semelhantes aos níveis de controle. Em concentrações mais altas houve um aumento, estatisticamente significativo e dependente da concentração, das frequências de não disjunção, perda cromossômica e ganho cromossômico.	++
(BANDUHN; OBE, 1985)	Linfócitos de sangue periférico humano	Carbendazim	Aberração cromossômica	- Negativo (não tratado; somente S9; S9 + DMSO 1%; DMSO) - Positivo (trenimon; colcemida).	Não mencionado	0,0000001-0,0001 M	24 hrs	Todas as concentrações testadas tiveram resultados negativos em relação à indução de AC estruturais, com e sem S9.	-
			Troca de cromátides irmãs				6; 24; 48 hrs	Todas as concentrações testadas e o tempo de exposição tiveram resultados negativos em relação à indução de SCE, com e sem S9.	-
			Poliploidia				4; 32; 44; 56; 72 hrs	Quando comparado ao controle negativo, o carbendazim induziu um maior número de eventos poliplóides, principalmente células tetraploides e octoplóides, em todas as concentrações e tempo testados.	●
			Micronúcleo				30; 50 hrs	Em comparação com o controle negativo, as culturas tratadas com qualquer concentração de carbendazim e duração de exposição apresentaram maior frequência de micronúcleos.	●
(LAMB; LILLY, 1980)	Linfócitos de sangue periférico humano	Carbendazim	Aberração cromossômica	Negativo (DMSO)	2 replicatas	0,5 mg/mL	44 hrs	É evidente que não há aumento na frequência de aberrações cromossômicas nas culturas tratadas, tendo em vista que a porcentagem de aberrações cromossômicas do grupo controle foi de 3% e do grupo tratado variou entre 3-5%.	-



Tabela F.6- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Linhagem celular	IA/formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
(LEBAILLY <i>et al.</i> , 1997)	Linfócitos humanos	Carbendazim	Dano ao DNA (ensaio cometa)	- Negativo (não tratado; DMSO); - Positivo (etoposídeo 680 µM).	2 replicatas	25; 50; 100; 200; 300; 500 µM	1 hr	Nenhum dano ao DNA foi detectado após o tratamento com concentrações crescentes de carbendazim.	-

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, culturas expostas ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência de efeitos, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) as culturas de controle negativo e expostas ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: AC (aberração cromossômica); DMSO (dimetilsulfóxido); hrs (horas); L (litro); M (molar); mg (miligrama); mL (mililitro); mM (milimolar); MN (micronúcleo); MN C+ (micronúcleo centrômero positivo); MNNG (N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina); N-AAF (N-acetilaminofluoreno); ng (nanograma); PBS (tampão fosfato-salino); SCE (troca de cromátides irmãs); SZN (estreptozotocina); S9 (ativação metabólica); µg (micrograma); µM (micromolar); µmol (micromol); 2-AF (2-aminofluoreno); 2-AP (2-aminopurina); 4-NQO (1-óxido de 4-nitroquinolina).

Fonte: Do autor.

Tabela F.7- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
<b>• Estudos experimentais <i>in vivo</i> com vegetais</b>									
(SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983)	- <i>Allium cepa</i> ; - <i>Allium sativum</i> ; - <i>Vicia faba</i> .	Bavistin®	Aberração cromossômica	Negativo (vegetais não tratados com Bavistin®)	250; 500; 1000 ppm	Vegetais expostos sistemicamente por 2 hrs	12, 24 e 48 hrs após o tratamento	Todas as concentrações de carbendazim testadas causaram danos cromossômicos, dependente da dose, em todos os sistemas de teste, com diferenças estatisticamente significativas, quando comparado ao controle.	++
(KUCHY; WANI; KAMILI, 2016)	<i>Allium cepa</i>	Kvistin®	Aberração cromossômica ----- Micronúcleo	- Negativo (vegetais tratados com água de torneira); - Positivo (vegetais tratados com hidrazida maleica).	250; 500; 1000 ppm	Vegetais expostos sistemicamente	Após 24 e 48 hrs de exposição	A porcentagem de aberrações cromossômicas aumentou com o aumento do tempo de tratamento e da concentração (24 hrs= 4,42-12,88%; 48 hrs= 6,17-13,56%). ----- Houve um aumento progressivo na porcentagem de células micronucleadas de maneira dependente da dose e duração do tratamento (24 hrs= 0,32-0,68%; 48 hrs= 0,42-0,87%).	++  ++
(SINGH; SRIVASTAVA; SINGH, 2008)	<i>Hordeum vulgare L</i>	Carbendazim	Aberração cromossômica	- Negativo: vegetais tratados com água destilada; - Positivo: vegetais tratados com etil metanossulfonato.	0,05; 0,1; 0,5 %	Vegetais expostos sistemicamente por 6 hrs	4 hrs após o tratamento	Houve um aumento estatisticamente significativo na frequência de aberração cromossômica no grupo tratado com carbendazim. A porcentagem máxima (9,64%) de AC foi encontrada na maior concentração testada (0,5%).	+
<b>• Estudos experimentais <i>in vivo</i> com animais não mamíferos</b>									
(SILVA <i>et al.</i> , 2017)	15 <i>Daphnia magna</i> K6 (geração F0, F6, F9 e F12)	Carbendazim	Dano ao DNA (ensaio cometa)	Negativo (animais tratados com água)	5 µg/mL	Animais expostos sistemicamente por tempo não mencionado	Logo após o tratamento (mais 13 dias de recuperação)	Na população tratada com carbendazim, o dano ao DNA aumentou significativamente ao longo das gerações (6, 9 e 12), com a maior porcentagem de dano observada na última geração, sugerindo um efeito multigeracional do carbendazim. Após o período de recuperação, nenhuma diminuição no dano ao DNA foi observada.	+
(SILVA <i>et al.</i> , 2015)	15 <i>Daphnia magna</i> K6	Carbendazim	Dano ao DNA (ensaio cometa)	- Negativo (animais tratados com acetona); - Positivo (animais tratados com H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	5; 20; 25 µg/L	Animais expostos sistemicamente	Após 6 hrs de exposição	Em comparação com o grupo de controle, o carbendazim provocou um aumento significativo no dano ao DNA (40-60%) com o aumento das concentrações.	+
(JANAKIDEVI <i>et al.</i> , 2013)	20 Donax faba	Carbendazim	Dano ao DNA (ensaio cometa)	Negativo (animais tratados com água do mar ou com água do mar + acetona)	2,65; 105,32; 210,65; 421,3; 842,6 µg/L	Animais expostos sistemicamente	Após 96 hrs de exposição	Observou-se que o animal exposto a diferentes concentrações de carbendazim exibiu dano ao DNA significativamente maior em seus tecidos, em comparação ao controle. O dano ao DNA em todos os tecidos analisados foi considerado dependente da dose e do tempo.	++

Tabela F.7- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(HUAN <i>et al.</i> , 2016)	10 <i>Eisenia foetida</i> adultas	Carbendazim	Dano ao DNA (ensaio cometa)	- Negativo: animais tratados com acetona ou água deionizada; - Positivo: animais tratados com mitomicina C.	0,4; 1,2; 3,6 mg/kg de solo seco	Animais expostos sistemicamente	Após 7, 14 e 21 dias de exposição	Encontrou-se uma relação dose-resposta positiva entre o carbendazim e o nível de dano ao DNA, que foi significativamente mais alto do que os controles negativos, porém menor do que o controle positivo.	++
(PALANIKU MAR <i>et al.</i> , 2013)	3 <i>Chanos chanos</i>	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (animais tratados com água do mar)	2,85; 5,45; 10,97; 20,17; 45,31 µg/L	Animais expostos sistemicamente (água renovada a cada 24 hrs)	Após 96 hrs de exposição	Em comparação ao controle negativo (1,33%), houve um aumento estatisticamente significativo e dose-dependente da frequência de micronúcleo em animais tratados com carbendazim (6,0-24,33%).	++
(GREYWE <i>et al.</i> , 2012)	3 ovos de galinha Leghorn branca (cepa Lohmann)	Carbendazim	Micronúcleo	- Negativo (miristato de isopropila); - Positivo (DMBA)	0,1; 1,0; 10; 20 mg/ovo	Organismos expostos sistemicamente a uma dose única.	3 dias após a exposição	As frequências de MN nos dois grupos de dose média (1 e 10 mg/ovo) de carbendazim foram estatisticamente maiores do que o grupo controle.	+
	2 ovos de galinha Leghorn branca (cepa Lohmann)			- Negativo (água); - Positivo (DMBA).	0,01; 0,1; 1,0; 10 mg/ovo			Em comparação ao grupo controle, a frequência de eritrócitos micronucleados aumentou de maneira dependente da dose, variando de 0,3% até 6,1%.	++
(DIXON <i>et al.</i> , 1999)	<i>Pomatoceros lamarkii</i>	Carbendazim	Aberração cromossômica	Negativo (animais não tratados com carbendazim ou tratados com NaCl)	0,00000001; 0,0000001; 0,000001; 0,0000033 M	Animais expostos sistemicamente	Após 3 hrs de exposição	Observou-se um aumento significativo nas aberrações cromossômicas apenas na dose mais alta testada ( $1 \times 10^{-6}$ M).	+
• Estudos experimentais <i>in vivo</i> com animais mamíferos									
(ARANHA <i>et al.</i> , 2021)	9 ratos Wistar machos	Carbendazim	Dano ao DNA	Negativo (animais tratados com óleo de milho)	50 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	Não mencionado	O tratamento com carbendazim resultou em valores estatisticamente aumentados de dano ao DNA, em comparação ao grupo controle.	+
(ĐIKIĆ <i>et al.</i> , 2012)	5 camundongos machos suíços e 5 fêmeas	Carbendazim	Dano ao DNA (ensaio cometa)	Negativo (animais tratados com óleo de milho)	20 mg/kg	Dose diária através da via oral (gavagem)	Após 28 dias de exposição	Os parâmetros utilizados no ensaio cometa (comprimento da cauda; núcleo com calda longa; intensidade e momento da calda) foram significativamente maiores no grupo tratado com carbendazim, do que no grupo controle, demonstrando uma relação entre a exposição e o dano ao DNA.	+

Tabela F.7- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(RAI; MERCURIO, 2020)	5 camundongos Swiss Webster machos	Carbendazim	Dano ao DNA (ensaio cometa)	Negativo (animais tratados com água de torneira)	20 µM	Dose diária através da via oral (alimentar)	Após 90 dias de exposição (mais 45 dias de recuperação)	Observou-se que a média da porcentagem de dano ao DNA foi próxima a 30% no tratamento com carbendazim por 90 dias (sem recuperação) e entre 20-30% no tratamento com carbendazim por 90 dias + 45 dias de recuperação, demonstrando a persistência de danos ao DNA e aparente falta de reparo.	+
(BOWEN <i>et al.</i> , 2011)	6 ratos machos Han-Wistar ou Sprague-Dawley	Carbendazim	Dano DNA (ensaio cometa)	Negativo (animais tratados com metilcelulose)	1000; 1500; 2000 mg/kg/dia	3 doses aplicadas através da via oral (gavagem) em um intervalo de 24 hrs	3 hrs após a última dose	Quando comparado ao controle (3,12%), observou-se dano ao DNA em células do tecido do estômago na maior dose de carbendazim testada (8,31%). Entretanto, foi acompanhado por um aumento na toxicidade não observado em doses mais baixas, e, portanto, foram interpretados com cautela, podendo estar relacionados à citotoxicidade.	-
			Micronúcleo					Quando comparado ao controle negativo, observou-se um aumento estatisticamente significativo na porcentagem de reticulócitos micronucleados, acompanhada por uma resposta à dose.	++
(SINGHAL <i>et al.</i> , 2003)	8 frangos adultos de corte (White Leghorn)	Carbendazim	Imunotoxicidade	Negativo (animais não tratados com carbendazim)	200 ppm	Dose diária através da via oral (alimentar)	Após 6 meses de exposição	Observou-se uma redução significativa de 21% na proliferação de linfócitos B em animais tratados com carbendazim, assim como uma diminuição nos títulos de IgG (11%), IgM (22,9%), IgA (28,9%).	+
(HASHEM; MOHAMED; ATTIA, 2018)	15 ratas Sprague-Dawley fêmeas adultas	Carbendazim	- Dano ao DNA; - Micronúcleo; - Aberração cromossômica	Negativo (animais não tratados com carbendazim)	200 mg/kg/dia	Dose diária através da via oral (gavagem)	Após 14 dias de exposição (mais 15 dias de recuperação)	Estatisticamente, em comparação com o grupo controle, os ratos expostos ao carbendazim apresentaram danos no DNA representados pela alta porcentagem de micronúcleos (3,77%; grupo controle= 0,99%), fragmentação do DNA (26,62%; grupo controle= 5,40%) e de aberrações cromossômicas (16,66%; grupo controle= 2,88%). No entanto, após 15 dias de cessação do fungicida houve reparo do DNA.	+
			Imunotoxicidade					Em comparação com o grupo de controle negativo, os ratos individualmente expostos ao carbendazim provocaram uma redução significativa nos valores médios de contagem de neutrófilos. Entretanto, apresentaram uma elevação na contagem de leucócitos, linfócitos e eosinófilos. Após 15 dias da retirada do composto, as alterações melhoraram.	+
(JIANG <i>et al.</i> , 2014)	30 embriões de peixe-zebra adulto do tipo selvagem AB	Carbendazim	Imunotoxicidade (alteração transcritoriais de genes relacionados)	Negativo (animais expostos a água com 0,01% Tween-80)	4, 20, 100, 500 µg/L	Animais expostos sistemicamente	Após 96 hrs de exposição	- Observou-se um aumento significativo apenas no nível de transcrição de CXCL-C1C; - Observou-se uma redução significativa no nível de transcrição de: CCL1; IL-1b; TNFα; - Nenhuma indução significativa foi observada na transcrição da IL-8 e IFN.	+

Tabela F.7- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Nº espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(JIANG <i>et al.</i> , 2015)	30 larvas de peixe-zebra adulto do tipo selvagem AB	Carbendazim	Imunotoxicidade (alteração transcrpcionais de genes relacionados)	Negativo (animais expostos a água com 0,01% Tween-80)	4; 20; 100; 500 µg/L	Animais expostos sistemicamente	Após 4 e 8 dias de exposição	- Observou-se um aumento significativo no nível de transcrição de: IL-1b; CXCL-C1C; CCL1; IFN; TNFα; IL-8	-
(VANHAUWA ERT; VANPARYS; KIRSCH-VOLDERS, 2001)	5 camundongos albinos Swiss SPF (CD1)	Carbendazim	Micronúcleo	- Negativo (animais tratados com água); - Positivo (animais tratados com colchicina).	500; 1000 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	12, 18, 24, 36, 48 e 72 hrs após o tratamento	Observou-se um aumento estatisticamente significativo na frequência de células micronucleadas no grupo exposto, quando comparado ao controle negativo.	+
(SEILER, 1976)	Ratos ICR	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (animais não tratados com carbendazim)	500 mg/kg	2 doses aplicadas (intraperitoneal) em um intervalo de 24 hrs	6 hrs após a última dose	Na única dose testada os resultados foram negativos devido do acúmulo da substância, reduzindo a disponibilidade do composto para o organismo.	○
			Aberração na mitose		50; 100; 500; 1000 mg/kg	2 doses aplicadas através da via oral (gavagem) em um intervalo de 24 hrs		O número de eritrócitos policromáticos micronucleados mostrou um aumento dependente da dose (4,2-26,8 por 1000 PCE) e superior ao valor encontrado no controle não tratado (3,6 por 1000 PCE).	●
					1000 mg/kg.			Comparado ao controle, nos animais tratados com carbendazim encontrou-se figuras mitóticas aberrantes, como: metáfase com material de cromatina externa, anáfase com material de cromatina retardado, anáfase com ponte, anáfase tripolar e distribuição desigual de cromatina na anáfase.	●
(SARRIF <i>et al.</i> , 1994)	5 camundongos machos e 5 fêmeas B6D2F1/Cr-IBR (BDF1)	Carbendazim	Micronúcleo	- Negativo (metilcelulose); - Positivo (VCR; CP)	6; 1646; 3293 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	48 hrs após a exposição	Aumentos estatisticamente significativos nas frequências de MN foram induzidos em 1646 (1,2%) e 3293 mg/kg (1,74-3,24%), quando comparado ao grupo controle negativo (0,28-0,3%). A maioria dos micronúcleos induzidos por carbendazim nas duas maiores concentrações foram cinetocoros positivos (médias de 87%).	+
(MATSUO; NAKAI; NASU, 1999)	5 a 6 ratos machos Sprague-Dawley	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (animais tratados com óleo de milho)	50; 100; 400 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	24 hrs após a exposição	Apenas a concentração de 100 mg/kg induziu um aumento significativo das espermátides contendo micronúcleo (0,45%) e da frequência de MN cinetocoros positivos nos animais tratados (67,7%).	+
(PANDITA, 1988)	4 a 6 ratos albinos suíços	Bavistin®	Micronúcleo	- Negativo (animais tratados com DMSO); - Positivo (animais tratados com mitomicina C).	100; 500; 1000; 2000; 3000 mg/kg	2 doses aplicadas (intraperitoneal) em um intervalo de 24 hrs	54 hrs após a primeira dose	O aumento de células policromáticas micronucleadas foi dependente da dose. A análise estatística dos dados mostrou que um aumento significativo na frequência de micronúcleos foi observado na dosagem total de 2000 mg/kg (5,61%), 4000 mg/kg (8,99%) e 6000 mg/kg (12,42%), quando comparado ao grupo controle negativo (1,16%).	++

Tabela F.7- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

(continua)

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(COFFING <i>et al.</i> , 2011)	4 ratos Sprague Dawley	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (animais tratados apenas com o veículo)	500; 1000; 2.000 mg/kg	2 doses aplicadas (intraperitoneal) em um intervalo de 24 hrs	24 hrs após a última dose	- Em células da medula óssea, observou-se um aumento estatisticamente significativo na frequência de micronúcleo na dose de 2000 mg/kg; - Em relação as células do duodeno, um aumento estatisticamente significativo na frequência de micronúcleo foi observado em todas as três doses testadas; - Nenhum aumento na frequência de micronúcleo foi observado em células do cólon.	+
(PANDITA, 1988)	4 a 6 ratos albinos suíços	Bavistin®	Micronúcleo	- Negativo (animais tratados com DMSO); - Positivo (animais tratados com mitomicina C).	100; 500; 1000; 2000; 3000 mg/kg	2 doses aplicadas (intraperitoneal) em um intervalo de 24 hrs	54 hrs após a primeira dose	O aumento de células policromáticas micronucleadas foi dependente da dose. A análise estatística dos dados mostrou que um aumento significativo na frequência de micronúcleos foi observado na dosagem total de 2000 mg/kg (5,61%), 4000 mg/kg (8,99%) e 6000 mg/kg (12,42%), quando comparado ao grupo controle negativo (1,16%).	++
(COFFING <i>et al.</i> , 2011)	4 ratos Sprague Dawley	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (animais tratados apenas com o veículo)	500; 1000; 2.000 mg/kg	2 doses aplicadas (intraperitoneal) em um intervalo de 24 hrs	24 hrs após a última dose	- Em células da medula óssea, observou-se um aumento estatisticamente significativo na frequência de micronúcleo na dose de 2000 mg/kg; - Em relação as células do duodeno, um aumento estatisticamente significativo na frequência de micronúcleo foi observado em todas as três doses testadas; - Nenhum aumento na frequência de micronúcleo foi observado em células do cólon.	+
(IGARASHI <i>et al.</i> , 2007)	3 a 5 ratos consanguíneos ddY machos	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (animais tratados apenas com o veículo)	125; 250; 500; 1000 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	5 dias após a exposição	- A incidência de micronúcleo no grupo cujo a dose de carbendazim foi administrada antes da hepatectomia parcial (HP) não diferenciou do grupo controle; - A incidência de micronúcleo na dosagem após a HP aumentou de forma dose-dependente, sendo a maior frequência encontrada na dose de 500 mg/kg (6%).	++
(ITOH; HATTORI; NAGATA; SANBUISSHO, 2012)	4 ratos F344/DuCrj machos	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (animais tratados com metilcelulose)	62,5; 125; 250 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	5 dias após a exposição	O tratamento com carbendazim resultou em um aumento estatisticamente significativo, dependente da dose, na frequência de micronúcleo em todas as doses de carbendazim administradas após a HP. Nenhuma indução de MN foi obtida quando a dosagem ocorreu antes da HP.	++
(ITOH; HATTORI; NAGATA; TAKASAKI, 2012)	4 ratos machos e 4 fêmeas F344/DuCrj	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (animais tratados com metilcelulose)	62,5; 125 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	5 dias após a exposição	O tratamento com carbendazim resultou em um aumento estatisticamente significativo, dependente da dose, na frequência de micronúcleos nas células dos animais de ambos os sexos, sendo maior machos do que em fêmeas.	++

Tabela F.7- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(ITOH <i>et al.</i> , 2015)	5 ratos F344/DuCrjCrj machos	Carbendazim	Micronúcleo	Negativo (animais tratados com metilcelulose)	62,5; 125; 250 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	5 dias após a exposição	Quando comparado ao controle negativo, o tratamento com carbendazim resultou em um aumento estatisticamente significativo, dependente da dose, na frequência de micronúcleos nas células dos animais.	++
			Micronúcleo					A frequência de MN foi significativamente aumentada e relacionada à dose nos grupos tratados com carbendazim (12%), quando comparado ao controle negativo (1,2%). - As frequências de não disjunção cromossômica aumentaram com a dose após o tratamento com carbendazim (65 eventos /1000 células binucleadas), quando comparado ao grupo controle (6 /1000 células binucleadas); - A perda de cromossomos estava praticamente ausente nos controles, enquanto no grupo de dose mais alta uma média de 32 foi pontuada por 1000 células;	++
(DE STOPPELAA R <i>et al.</i> , 2000)	1 a 6 ratos Wistar machos	Carbendazim	Aneuploidia	Negativo (animais não tratados com carbendazim ou tratados com tricaprilina)	2,5; 5; 10 mg/bolsa	Dose única administrada via intraperitoneal	48 hrs após a exposição	- A frequência total de células aberrantes foi de 100 aberrações/1000 células no grupo tratado com carbendazim, em comparação com uma média de 12/1000 no grupo controle.	++
			Poliploidia					A indução de poliploidia não foi observada em células binucleadas ou mononucleadas, pelo contrário, as frequências de células poliplóides binucleadas e mononucleadas diminuíram nas culturas tratadas com carbendazim.	-
(SHEU <i>et al.</i> , 1990)	2 hamsters chineses machos de raça aleatória	Carbendazim	Aneuploidia	Negativo (animais não tratados com carbendazim)	100; 500; 1000 mg/kg	Dose única administrada via intraperitoneal	6, 24, 48 e 72 hrs após a exposição	Os grupos tratados não mostraram aumento significativo nas frequências de células hiperplóides, quando comparados aos controles correspondentes a cada período de avaliação.	-
			Aneuploidia					Após 12 horas da exposição houve um aumento estatisticamente significativo na frequência de células hiperplóides.	+
(BARALE <i>et al.</i> , 1993)	4 camundongos albinos suíços machos	Carbendazim	Poliploidia	Negativo (animais tratados com DMSO)	0,5 g/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 e 48 após a exposição	Após 24 horas da exposição houve um aumento estatisticamente significativo no número de células poliplóides (4n), quando comparado ao controle negativo.	+
			Micronúcleo					Observou-se uma indução significativa de MN após a administração de carbendazim, atingindo a maior frequência após 36 horas (6,40%) e 48 horas (2,8%) da exposição.	+
			Aberração cromossômica					Após 12 horas da exposição houve um aumento significativo na frequência de aberração cromossômica, seguido por um declínio no número, que foi inferior ao do controle.	+

(continua)

Tabela F.7- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de carbendazim.

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(DE STOPPELAA R <i>et al.</i> , 1999)	3 a 5 ratos machos Wistar Unilever	Carbendazim	- Aneuploidia; - Poliploidia; - Micronúcleo.	Negativo (animais tratados com óleo de milho)	50, 150, 450 ou 800 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	31 e 50 dias após a exposição	A poliploidia foi o único efeito observado 31 dias após a exposição ao carbendazim dos animais. Um aumento no número de espermatozoides hiperhaplóides foi observado nos grupos tratados com 150 mg/kg ou mais. Nenhum efeito foi observado 50 dias após a exposição.	●
				- Negativo (animais tratados com óleo de milho); - Positivo (mitomicina C)	2,5; 5; 10; 20; 30; 40; 50; 100; 150; 450; 800 mg/kg		48 e 72 hrs após a exposição	A poliploidia foi o único efeito observado nos animais tratados com carbendazim. Em comparação com controle, o grupo exposto teve uma maior frequência de células diploides, mas nenhuma análise estatística foi realizada.	●
(BÖRZSÖNYI <i>et al.</i> , 1976)	85 camundongos suíços fêmea grávidas	Carbendazim	Carcinogênico	Negativo (animais não tratados com carbendazim)	2500 mg/kg	1 dose/semana via oral (gavagem) durante a gravidez	Logo após o término do tratamento	Nenhum tumor foi encontrado na prole dos animais que receberam apenas carbendazim.	○
(BÖRZSÖNYI ; CSIK, 1975)	10 camundongos suíços fêmea grávidas	Carbendazim	Carcinogênico	Negativo (animais tratados com água)	500 mg/kg	1 dose/semana via oral (gavagem) durante a gravidez	Logo após o término do tratamento	Nenhum tumor foi encontrado na prole dos animais que receberam apenas carbendazim.	○
(BÖRZSÖNYI ; PINTÉR, 1977)	10 camundongos suíços fêmea	Carbendazim	Carcinogênico	Negativo (animais tratados com água)	600 mg/kg	2 doses/semana via oral (gavagem) durante a gravidez	Após 180 dias de exposição	Nenhum tumor foi encontrado em animais que receberam apenas carbendazim.	○

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, os grupos expostos ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência dos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) o grupo controle e exposto ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: AC (aberração cromossômica); CP (ciclofosfamida); DMBA (7,12- dimetilbenzantraceno); DMSO (dimetilsulfóxido); H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrogênio); hrs (horas); HP (hepatectomia parcial); IFN (interferon); IgA (imunoglobulina A); IgG (imunoglobulina G); IgM (imunoglobulina M); IL-1b (interleucina 1b); IL-8 (interleucina 8); kg (quilograma); L (litro); M (molar); mg (miligrama); mL (mililitro); MN (micronúcleo); NaCl (cloreto de sódio); PCE (eritrócitos policromáticos); ppm (parte por milhão); TNF $\alpha$  (fator de necrose tumoral alfa); VCR (sulfato de vincristina);  $\mu$ g (micrograma);  $\mu$ M (micromolar)

Fonte: Do autor.



Tabela F.8- Principais dados extraídos do estudo experimental *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo fembendazol.

Referência	Linhagem celular	IA/formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
(GOIN; MAYER, 1995)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D61.M	Fembendazol	Perda cromossômica	Negativo (não tratado; DMSO)	Não mencionado	15,0; 17,5; 20,0; 22,5; 25,0 µg/mL	18 hrs	A frequência de perda cromossômica na cultura não tratada foi inferior a 1 por 10 <sup>6</sup> CFU. A dose ativa mais baixa de fembendazol (17,5 µg/mL) gerou uma frequência de cerca de 13 por 10 <sup>6</sup> CFU e a maior indução de perda cromossômica ocorreu na dose mais alta (25,0 µg/mL) com uma frequência de 275 por 10 <sup>6</sup> CFU.	●

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (●) em comparação com o controle, culturas expostas ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência de efeitos, mas nenhuma análise estatística foi realizada.

Nota: CFU (unidade formadora de colônia); DMSO (dimetilsulfóxido); hrs (horas); mL (mililitro); mM (milimolar); µg (micrograma).

Fonte: Do autor.

Tabela F.9- Principais dados extraídos do estudo experimental *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo flubendazol.

Referência	Linhagem celular	IA/formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
(HUANG, N. <i>et al.</i> , 1994)	Fibroblastos de pulmões de hamsters chineses	Flubendazol	Aberração cromossômica Poliploidia	- Negativo (não tratado; DMSO); - Positivo (mitomicina C; CP)	Não mencionado	0,2-1,56 µg/mL	- 6 hrs (com S9); - 24 e 48 hrs (sem S9).	Nenhuma aberração cromossômica estrutural foi observada com e sem ativação metabólica. Sem ativação metabólica o tratamento por 24 e 48 hrs de flubendazol induziu um aumento, estatisticamente significativo e dose dependente, de 75 e 96%, respectivamente, na frequência de células poliplóides, quando comparado ao controle negativo. Com ativação metabólica, nenhum efeito foi observado.	- ++
(TWEATS <i>et al.</i> , 2016)	Linfócitos humanos	Flubendazol	Micronúcleo	- Negativo (DMSO); - Positivo (mitomicina C; CP; VCR).	Não mencionado	2-25 µg/mL 0,05-6,5 µg/mL	3 hrs (mais 21 hrs de recuperação) 24 hrs (mais 24 hrs de recuperação)	Aumentos estatisticamente significativos em linfócitos binucleados micronucleados foram observados em doses de flubendazol superiores a 5,0 µg/mL (sem S9) e a 14,0 µg/mL (com S9). Aumentos estatisticamente significativos na frequência de micronúcleo foram encontrados a partir da dose de 0,25 µg/mL (1,15%) até a mais alta testada (6,5 µg/mL= 10,1%). A maior parte dos micronúcleos se coraram de forma positiva para centrômeros (80-88%).	+ +
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	Célula de ovário de hamster chinês	Flubendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	3 replicatas	0-0,001 M	24 hrs	A exposição ao flubendazol induziu a formação de micronúcleos de forma dependente da concentração e estatisticamente significativo a partir da dose de 0,000000922 M	++

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: CP (ciclofosfamida); DMSO (dimetilsulfóxido); hrs (horas); M (molar); mL (mililitro); S9 (ativação metabólica); VCR (sulfato de vincristina); µg (micrograma).

Fonte: Do autor.

Tabela F.10- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo flubendazol.

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(TWEATS <i>et al.</i> , 2016)	7 ratas fêmeas Han Wistar jovens	Flubendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	65; 130; 400 mg/kg	2 doses aplicadas através da via oral (gavagem) em um intervalo de 24 hrs	24 hrs após a segunda dose	A nova formulação de flubendazol induziu um aumento estatisticamente significativo na frequência micronúcleos em todas as doses testadas (variando de 1,35-2,31%), quando comparado ao controle (0,21%).	+

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado.

Nota: DMSO (dimetilsulfóxido); hrs (horas); kg (quilograma); mg (miligrama).

Fonte: Do autor.

Tabela F.11- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados a formulações comerciais a base do ingrediente ativo fuberidazol.

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983)	- <i>Allium cepa</i> ; - <i>Allium sativum</i> ; - <i>Vicia faba</i> .	Veronit®	Aberração cromossômica	Negativo (vegetais não tratados com Veronit®)	250; 500; 1000 ppm	Vegetais expostos sistemicamente por 2 hrs	12, 24 e 48 hrs após o tratamento	Não houve diferença estatisticamente significativa na frequência de aberrações cromossômicas estruturais entre os organismos tratados com fuberidazol e os não tratados.	-

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: hrs (horas); ppm (parte por milhão).

Fonte: Do autor.

Tabela F.12- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de mebendazol.

(continua)

Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
<b>• Linhagem celular bacteriana</b>									
(PAULÍKOVÁ; DOBIÁS, 1981)	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA100, TA98, TA1535 e TA1538)	Vermox®	Mutagênico (Teste de Ames)	Negativo (água destilada estéril)	Não mencionado	62,5; 125; 250; 500; 1000 µg/placa	Não mencionado	Nenhuma atividade mutagênica foi observada, com e sem ativação metabólica pela fração microsossomal S9.	○
<b>• Linhagem celular fúngica</b>									
(GOIN; MAYER, 1995)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D61.M	Bavistin®	Mutagênico (Teste de Ames)	Negativo (não tratado; DMSO)	Não mencionado	7,5; 10,0; 12,5; 15,0; 17,5 µg/mL	18 hrs	Em comparação com o controle não tratado (1 por 10 <sup>6</sup> CFU), a frequência de perda cromossômica das culturas tratadas foi maior. A dose ativa mais baixa de mebendazol (10 µg/mL) apresentou uma frequência de 16 por 10 <sup>6</sup> CFU, atingindo a maior indução de perda na concentração de 17,5 µg/mL (152 por 10 <sup>6</sup> CFU).	●
(DE LA TORRE <i>et al.</i> , 1994)	<i>Aspergillus nidulans</i> (cepa diplóide D30)	Mebendazol	Segregação cromossômica	- Negativo (DMSO); - Positivo (MMS).	Não mencionado	0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 1,00; 2,50 µg/mL	6 dias	Observou-se um aumento na segregação cromossômica em culturas tratadas com: 0,5; 1,0; 2,5 µg/mL (IMSI= 4,43; 9,68; 11,02, respectivamente).	+
	<i>Aspergillus nidulans</i> (cepa haplóide FGSC#219)		Mutagênico			0,1; 2,5 µg/mL.		O mebendazol não induziu nenhuma mutação pontual em <i>A. nidulans</i> .	-
<b>• Linhagem celular animal</b>									
(MUDRY <i>et al.</i> , 1990)	Células de ovário de hamster chinês	Mebendazol	Aberração cromossômica	- Negativo (não tratado); - Positivo (colcemida)	Não mencionado	0,05; 0,1; 0,2; 0,5 µg/mL	32 hrs	Em todas as doses testadas, observou-se aumentos estatisticamente significativos na frequência de aberrações cromossômicas, principalmente formação de ponte, lacuna e quebra cromossômica.	+
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	Células de ovário de hamster chinês	Mebendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	3 replicatas	0-0,001 M	24 hrs	A exposição ao mebendazol induziu a formação de micronúcleos de forma dependente da concentração, a partir da concentração limite (0,000000112 M).	++
<b>• Linhagem celular humana</b>									
(ANTUNES; TAKAHASHI, 1994)	Linfócitos de sangue periférico humano	Mebendazol	Aberração cromossômica	- Negativo (DMSO); - Positivo (ARA-C).	Não mencionado	5; 10; 20 µg/mL	48 hrs	Não houve diferenças significativas na frequência de aberrações cromossômicas entre as culturas do controle negativo e as culturas tratadas com mebendazol.	-
(HUMMELEN; ELHAJOUJI; KIRSCH- VOLDERS, 1995)	Linfócitos de sangue periférico humano	Mebendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	2 replicatas	0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5 µM	48 hrs	A exposição ao mebendazol induziu um aumento estatisticamente significativo na frequência de MN para todas as concentrações, quando comparado ao controle, sendo dependente da concentração. Além disso, a maior parte dos micronúcleos induzidos eram MN C+ (56%-83%).	++

Tabela F.12- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de mebendazol.

Referência	Linagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito* (conclusão)
(ELHAJOUJI; CUNHA; KIRSCH-VOLDERS, 1998)	Linfócitos humanos	Mebendazol	Micronúcleo	Negativo (não tratado)	2 replicatas	0,05; 0,10; 0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 0,90; 1,00; 2,00; 3,00 µg/mL	48 hrs	Observou-se um claro aumento, dependente da concentração, nas frequências de micronúcleos em células mononucleadas, que se tornou estatisticamente significativo nas concentrações mais altas (frequência em torno de 50-100%, nas doses de 2 e 3 µg/mL). Entretanto, a frequência de micronúcleos em células binucleadas foi superior, variando de 150% (2 µg/mL) até cerca de 300% (3 µg/mL), quando comparado ao controle negativo.	++
(ELHAJOUJI; VAN HUMMELEN; KIRSCH-VOLDERS, 1995)	Linfócitos humanos	Mebendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO; PBS)	2 replicatas	0-1 µM	48 hrs	Mebendazol induziu um aumento estatisticamente significativo e dependente da concentração na frequência de micronúcleo em células binucleadas (0,27 µM). Adicionalmente, o composto também induziu aumentos significativos em MN C+ (0,34 µM= 55,88%), quando comparado aos controles negativos (29,63% e 30,77% de MN C+).	++

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, culturas expostas ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência de efeitos, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) as culturas de controle negativo e expostas ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: ARA-C (arabinósido de citosina); CFU (unidade formadora de colônia); DMSO (dimetilsulfóxido); hrs (horas); IMSI (índice de segregação mitótica induzida); M (molar); mL (mililitro); MMS (metilmetanossulfonato); MN (micronúcleo); MN C+ (micronúcleo centrômero positivo); PBS (tampão fosfato-salino); S9 (ativação metabólica); µg (micrograma); µM (micromolar).

Fonte: Do autor.

Tabela F.13- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo mebendazol.

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(ANTUNES; TAKAHASHI, 1994)	3 ratos Wistar machos e 3 fêmeas	Mebendazol	Aberração cromossômica	- Negativo (animais tratados com água); - Positivo (animais tratados com CP).	1300; 1750; 3500; 7000 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	24 hrs após o tratamento	Não houve diferenças significativas na frequência de aberrações cromossômicas entre o grupo do controle negativo e os animais tratados com mebendazol.	-
(MUDRY <i>et al.</i> , 1990)	10 camundongos CFW machos e 9 fêmeas	Mebendazol	Micronúcleo	Negativo (animais tratados com água destilada)	25; 50; 100 mg/kg	Dose única administrada via intraperitoneal	30 hrs após o tratamento	Quando comparado ao controle negativo (7,9%), as concentrações de 25 (17,4%) e 50 mg/kg (17,9%), causaram aumentos estatisticamente significativos na frequência de micronúcleos.	+

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: CP (ciclofosfamida); hrs (horas); kg (quilograma); mg (miligrama).

Fonte: Do autor.

Tabela F.14- Principais dados extraídos do estudo experimental *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo oxfendazol.

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(STANKIEWICZ <i>et al.</i> , 1994)	10 cordeiros Romney	Oxfendazol	Imunotóxico	Negativo (animais não tratados com oxfendazol)	Não mencionado	2 doses aplicadas através da via oral (gavagem) em um intervalo de 28 dias	3, 7, 14, 21 e 28 dias após a primeira e segunda dose	Em comparação com os animais pertencentes ao grupo controle negativo, aqueles tratados com oxfendazol apresentaram uma redução estatisticamente significativa na proliferação de linfócitos.	+

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado.

Nota: kg (quilograma); mg (miligrama).

Fonte: Do autor.

Tabela F.15- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo oxibendazol.

Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
<b>• Linhagem celular fúngica</b>									
(GOIN; MAYER, 1995)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D61.M	Oxibendazol	Perda de cromossomo	- Negativo (não tratado; DMSO); - Positivo (nocodazol).	Não mencionado	10; 20; 30; 40; 50 µg/mL	26 hrs	Nenhuma indução de perda cromossômica foi induzida pelo oxibendazol, entretanto o composto precipitou fortemente no meio utilizado.	-
<b>• Linhagem celular animal</b>									
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	Célula de ovário de hamster chinês	Oxibendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	3 replicatas	0-0,001 M	24 hrs	A exposição ao oxibendazol induziu a formação de micronúcleos de forma dependente da concentração a partir da concentração limite 0,000000131 M.	++

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: DMSO (dimetilsulfóxido); hrs (horas); M (molar); mL (mililitro); µg (micrograma).

Fonte: Do autor.

Tabela F.16- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.

(continua)

Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
<b>• Linhagem celular fúngica</b>									
(GOIN; MAYER, 1995)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D61.M	Tiabendazol	Perda cromossômica	Negativo (não tratado; DMF)	Não mencionado	10; 15; 30; 60; 90; 120 µg/mL	26 hrs	O tiabendazol induziu fortemente perda cromossômica. A dose ativa mais baixa (30 µg/mL) resultou uma frequência de perda de cerca de 15 por 10 <sup>6</sup> CFU. A maior indução ocorreu na dose mais alta com uma frequência de 344 por 10 <sup>6</sup> CFU.	●
(CREBELLI <i>et al.</i> , 1991)	Cepa diplóide PI de <i>Aspergillus nidulans</i>	Tiabendazol	Aneuploidia	Negativo (não tratado)	Não mencionado	1,2; 4; 12; 40 µg/mL	3-4,5 hrs	A amostra testada neste estudo produziu aumentos estatisticamente significativos na segregação de cromossomos inteiros na faixa de dose de 4 a 40 µg/mL	+
<b>• Linhagem celular animal</b>									
(WARR; PARRY; PARRY, 1993)	Células LUC2 de hamster chinês ( <i>Cricetulus griseus</i> )	Tiabendazol	Poliploidia	- Negativo (DMSO); - Positivo (colcemida).	Não mencionado	2,5; 5; 10; 25; 50; 100 µg/mL	18 hrs	Observou-se um aumento estatisticamente significativo na frequência de células tetraplóides na concentração de 100 µg/mL.	+
(GIBSON <i>et al.</i> , 1995)	Células embrionárias primárias de hamsters Golden Syrian	Tiabendazol	Aneuploidia (transformação morfológica)	- Negativo (DMSO); - Positivo (benzo[a]pyrene).	Não mencionado	12,5; 25; 50; 75 µg/mL 15; 20; 25; 30; 35 µg/mL	24 hrs 7 dias	Nenhum aumento significativo na frequência de transformação morfológica foi observado em qualquer dose e tempo de exposição.	-
(NATARAJAN <i>et al.</i> , 1993)	Fibroblastos embrionárias de hamster chinês	Tiabendazol	Aneuploidia	- Negativo (DMSO); - Positivo (dietilestilbestrol).	1 replicata	50; 83; 150 µg/mL	26 hrs	Em comparação com o controle, a frequência de indução de aneuploidia aumentou, atingindo o máximo de 35,7% na maior concentração avaliada 150 µg/mL, sendo a maioria células hipoplóides, quando comparado a hiperplóides.	●
(BRUNNER; ALBERTINI; WÜGLER, 1991)	Tubulina cerebral suína	Tiabendazol	Inibição da polimerização da tubulina	Negativo (não tratado)	Não mencionado	100; 250; 400 e 500 µM	35 min	Em comparação com controle, tiabendazol provocou um aumento na inibição da polimerização da tubulina cerebral e uma redução da velocidade desse processo. A concentração necessária para reduzir o nível de equilíbrio em 30% foi de 500 µM.	●
(WALLIN; HARTLEY-ASP, 1993)	Tubulina cerebral de bovinos	Tiabendazol	Inibição da polimerização da tubulina	Negativo (não tratado)	4-5 replicatas	10; 100; 1000 µM	Não mencionado	Em comparação com o controle, o tiabendazol causou apenas uma ligeira inibição da montagem da tubulina.	●
(SEELBACH <i>et al.</i> , 1993)	Células de pulmão de hamster chinês (V79)	Tiabendazol	Micronúcleo	- Negativo (não tratado; DMSO); - Positivo (colcemida).	2 replicatas	10,0; 31,6; 100,0; 316,4 µg/mL	3 hrs (mais 3,5 hrs de recuperação)	Em comparação com as culturas de células não tratadas, o tiabendazol induziu um aumento na frequência de micronúcleo a partir da concentração de 100 µg/mL, onde 80% eram MN cinetocoros positivos.	●
(LYNCH; PARRY, 1993)	Células LUC2 de hamster chinês ( <i>Cricetulus griseus</i> )	Tiabendazol	Micronúcleo	- Negativo (não tratado; DMSO); - Positivo (mitomicina C).	2 replicatas	10; 20; 25; 40; 50; 80; 100; 150 µg/mL	24 hrs	O composto induziu aumentos altamente significativos nas frequências de MN, que variaram de 61,8-146,4/1000 células, quando comparado a média dos controles (43,2/1000 células). Na concentração de 80 e 150 µg/mL, 90,5 e 81,1%, respectivamente, eram micronúcleos cinetocoros positivos.	+

Tabela F.16- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.

(continua)

Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	Célula de ovário de hamster chinês	Tiabendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	3 replicatas	0-0,001 M	24 hrs	Nenhum aumento na formação de micronúcleos foi observado nas culturas tratadas com tiabendazol.	-
(HASHIMOTO <i>et al.</i> , 2010)	Fibroblasto de pulmão de hamster chinês	Tiabendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	1 replicata	19; 26; 36; 51; 71; 100 µg/mL	24 hrs	Observou-se um aumento estatisticamente significativo na frequência de MN de uma maneira dependente da dose, a partir da concentração de 26 µg/mL até 100 µg/mL (17%), em comparação com o grupo não tratado. A maior parte dos MN formados foram cinetocoros positivos (83%), quando comparado aos cinetocoros negativos (17%).	++
(ANTOCCIA <i>et al.</i> , 1991)	Células CI-1 de hamster	Tiabendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	2-5 replicatas	2,5; 5; 10; 15; 25 µg/mL	24 hrs	Houve um aumento dose-dependente e estatisticamente significativo na frequência de micronúcleo nas concentrações de 10 (27,5/1000 células), 15 (42,3/1000 células) e 25 µg/mL (70,8/1000 células). A maior parte dos MN formados foram cinetocoros positivos (76,2-81,2%).	++
(MUDRY <i>et al.</i> , 1990)	Célula de ovário de hamster chinês	Tiabendazol	Aberração cromossômica	Negativo (não tratado)	Não mencionado	0,06; 0,12; 0,24; 0,6 µg/mL	24 hrs	Tiabendazol induziu um aumento estatisticamente significativo na frequência de aberrações cromossômicas estruturais em todas as concentrações, principalmente pontes (73-95%).	+
(CARBALLO <i>et al.</i> , 2006)	Célula de ovário de hamster chinês	Foldan®	Troca de cromátides irmãs	- Negativo (DMSO); - Positivo (ciclofosfamida)	Não mencionado	50; 100 µg/mL	Não mencionado	Na ausência de S9, um aumento significativo na frequência de SCE foi observado nas células expostas apenas à dose mais alta (100 µg/mL). Por outro lado, quando as células cresceram na presença do S9, a frequência SCE mostrou um aumento significativo em ambas as concentrações testadas.	+
<b>• Linhagem celular humana</b>									
(SBRANA <i>et al.</i> , 1993)	Linfócitos humanos	Tiabendazol	Aneuploidia ----- Poliploidia	Negativo (DMSO)	2 replicatas	150; 300; 450; 600; 900 µg/mL	5 hrs (mais 72 e 96 hrs de recuperação)	O tiabendazol induziu células hipodiplóides nas doses mais altas (450-900 µg/mL), em ambos os tempos de análise, mas sem alcançar significância estatística quando comparada ao controle. ----- Em relação a células tetraplóides, após 72 hrs da exposição, houve um aumento estatisticamente significativo na frequência nas doses de 600 (9,3%) e 900 µg/mL (8,6%), quando comparado ao controle (1,3%).	±  +
(HUMMELEN; ELHAJOUJI; KIRSCH- VOLDERS, 1995)	Linfócitos de sangue periférico humano	Tiabendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	2 replicatas	100; 150; 200; 300 µM	3; 48 hrs	Nenhum aumento na frequência de células micronucleadas foi encontrado para qualquer uma das concentrações testadas e tempo de exposição.	-



Tabela F.16- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.

									(conclusão)
Referência	Linhagem celular	IA/ formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/ dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
(CLARE <i>et al.</i> , 2006)	Linfócitos humanos	Tiabendazol	Micronúcleo	- Negativo (não tratado); - Positivo (mitomicina C).	2 replicatas	11-1000 µg/mL	3 hrs (mais 26 e 45 hrs de recuperação)	Nenhum aumento na frequência de células micronucleadas foi encontrado para qualquer uma das concentrações testadas e esquemas de tratamento.	-
(MIGLIORE; NIERI, 1991)	Linfócitos humanos	Tiabendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	Não mencionado	0,1; 0,3; 1; 3; 10; 30; 50; 100; 150; 200; 250; 300 µg/mL	48; 72 hrs	Nenhum aumento na frequência de células micronucleadas foi encontrado para qualquer uma das concentrações testadas e tempo de exposição.	-
(SANTOVITO; CERVELLA; DELPERO, 2011)	Linfócitos de sangue periférico humano	Tiabendazol	Micronúcleo	- Negativo (não tratado; DMSO); - Positivo (mitomicina C).	Não mencionado	0,5; 5; 50 µg/mL	48 hrs	Os resultados indicaram que o tiabendazol aumentou significativamente a frequência do micronúcleo em comparação com o controle negativo (1,2%), em todas as concentrações de tratamento (variando de 2,15-3,55%).	+
(HUMMELEN; KIRSCH-VOLDERS, 1992)	Linfócitos humanos	Tiabendazol	Micronúcleo	Negativo (DMSO)	2 replicatas	2,5; 5; 10; 30; 40 µg/mL	48 hrs	Nos tratamentos com tiabendazol, com ou sem S9, não foi detectado nenhum aumento estatístico na frequência de micronúcleo em células binucleadas.	-
(BONATTI <i>et al.</i> , 1992)	Fibroblastos diplóides humanos	Tiabendazol	Micronúcleo	Negativo (não tratado)	2 replicatas	0,05; 0,15; 0,45 µg/mL	24; 48 hrs	Tiabendazol produziu um aumento estatisticamente significativo no número de micronúcleos na dose de 0,15 µg/mL (12,6/1000 células), quando comparado ao controle não tratado (7,6). Um aumento significativo de micronúcleos cinetocoros positivos em relação aos controles e aos micronúcleos cinetocoros negativos.	+
(VINDAS <i>et al.</i> , 2004)	Células brancas de sangue humano	Formulação com 22% de tiabendazol	Dano ao DNA (ensaio cometa)	- Negativo (não tratado); - Positivo (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).	2 replicatas	25; 50; 75; 100 µg/mL	30 min	O tiabendazol não causou nenhum aumento estatisticamente significativo na frequência de danos ao DNA, em comparação com o controle negativo.	-
(CARBALLO <i>et al.</i> , 2006)	Linfócitos de sangue periférico humano	Foldan®	Troca de cromátides irmãs	Negativo (não tratado; NaCl 9%)	2 replicatas	50; 100 µg/mL	Não mencionado	O tiabendazol não provocou nenhum aumento estatisticamente significativo na frequência de troca de cromátides irmãs, em comparação com o controle negativo.	-

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (±) associação não significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, culturas expostas ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência de efeitos, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) as culturas de controle negativo e expostas ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: AC (aberração cromossômica); CFU (unidade formadora de colônia); DMF (dimetilformamida); DMSO (dimetilsulfóxido); hrs (horas); H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de oxigênio); min (minutos); mL (mililitro); MN (micronúcleo); SCE (troca de cromátides irmãs); S9 (ativação metabólica); µg (micrograma); µM (micromolar).

Fonte: Do autor.

Tabela F.17- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.

(continua)

Referência	Nº espécie do animal utilizado por grupo	IA/formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
<b>• Estudos experimentais <i>in vivo</i> com vegetais</b>									
(SANDHU <i>et al.</i> , 1991)	Cepa Neatby's de trigo chinês	Tiabendazol	Aneuploidia (ensaio hexaplóide)	Negativo (vegetais tratados com água destilada)	1; 5; 25; 100; 500 µg/mL	Vegetais expostos sistemicamente por 24 hrs	10 dias após o tratamento	Tiabendazol induziu uma resposta positiva para aneuploidia apenas na concentração de 25 µg/mL, que foi diferente estatisticamente do grupo controle negativo.	+
(ANDRIOLI; MUDRY, 2011)	<i>Allium cepa</i>	Foldan®	Aneuploidia	Negativo (vegetais tratados com DMSO)	50; 100; 250 µg/mL	Vegetais expostos sistemicamente por 30 hrs	24 hrs após o tratamento	Aumentos significativos na frequência de aberrações cromossômicas foram observadas em todas as concentrações de Foldan® testadas.	+
			Micronúcleo					A frequência de micronúcleos aumentou significativamente em todos os tratamentos, em comparação ao controle	+
(SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983)	- <i>Allium cepa</i> - <i>Allium sativum</i> - <i>Vicia faba</i>	Tecto® Mertecto®	Aberração cromossômica	Negativo (vegetais não tratados com Tecto® e Mertecto®)	250; 500; 1000 ppm	Vegetais expostos sistemicamente por 2 hrs	12, 24 e 48 hrs após o tratamento	Os compostos não induziram frequências de aberrações cromossômicas diferentes estatisticamente do grupo controle	-
<b>• Estudos experimentais <i>in vivo</i> com animais não mamíferos</b>									
(DIXON <i>et al.</i> , 1999)	Minhoca <i>Pomatoceros lamarckii</i>	Tiabendazol	Aberração cromossômica	Negativo (animais não tratados; animais tratados com NaCl)	0,00000001; 0,0000001; 0,000001; 0,0000033 M	Animais expostos sistemicamente por 3 hrs	Após o período de fertilização	Observou-se um aumento estatisticamente e dose-dependente da frequência de aberrações cromossômicas estruturais nas três doses mais altas.	++
(MARTINI <i>et al.</i> , 2010)	20 girinos <i>Xenopus laevis</i>	Tiabendazol	Imunotóxico	Negativo (animais tratados com trietilenoglicol)	0,7 µg/mL	Animais expostos sistemicamente a 4 doses em um intervalo de 8 dias	7, 24 e 72 hrs, e 6 e 9 dias após a primeira dose	O tiabendazol foi evidentemente um composto imunoestimulante, tendo em vista que, em relação ao controle, aumento a expressão de mRNA de IL-1β durante todos os tempos de exposição.	-
<b>• Estudos experimentais <i>in vivo</i> com animais não mamíferos</b>									
(SCHMID; XU; ADLER, 1999)	5 camundongos machos 102/E1x3H/E1	Tiabendazol	Aneuploidia	Negativo (animais tratados com óleo de milho)	100; 300 mg/kg	Dose diária através da via oral (gavagem) por 11 dias	22 dias após a última dose	Apenas a concentração de 300 mg/kg de tiabendazol induziu um aumento estatisticamente significativo de espermatozoide diplóide (0,047%) em comparação com o controle negativo (0,023%).	+
(MARRAZZINI <i>et al.</i> , 1994)	3 camundongos machos Swiss CD-1	Tiabendazol	Aneuploidia	Negativo (animais tratados com DMSO)	100; 250; 500 mg/kg	Dose única administrada via intraperitoneal	24 e 48 hrs após a exposição	Tiabendazol induziu um aumento na frequência de células hiperplóides, quando comparado ao controle negativo.	±
			Aberração cromossômica					Tiabendazol induziu um aumento na frequência de aberrações cromossômicas, quando comparado ao controle negativo.	±
			Micronúcleo					Após 24 horas, o tiabendazol produziu um aumento na frequência de micronúcleo em animais tratados com todas as doses.	±

Tabela F.17- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.

(continua)

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(LEOPARDI <i>et al.</i> , 1993)	3 camundongos machos (C57Bl/CnxC3 H/Cne)	Tiabendazol	Aneuploidia	Negativo (animais tratados com DMSO)	62,5 mg/kg	Dose única administrada via intraperitoneal	18 hrs após a exposição	A frequência de hiperploídia nos animais tratados com tiabendazol (0,3%) foi inferior ao do controle negativo (0,9%).	-
			Poliploidia					Tiabendazol não induziu nenhum efeito relacionado a poliploidia.	-
			Micronúcleo					Observou-se um aumento leve, mas significativo, na frequência de micronúcleos em animais tratados com tiabendazol, quando comparado ao controle negativo.	+
(ADLER <i>et al.</i> , 1991)	5 camundongos machos 102/E1xC3H/E1 e 5 fêmeas	Tiabendazol	Micronúcleo	Negativo (animais tratados com DMSO)	125; 250; 375; 500 mg/kg	Dose única administrada via intraperitoneal	6 e 24 hrs após a exposição	Tiabendazol não induziu, de forma significativa, micronúcleos em células da medula óssea de camundongo em nenhum dos experimentos realizados, em comparação com o controle.	-
	Negativo (animais tratados com Tween 20)			640 mg/kg	24 e 48 hrs após a exposição				
(MUDRY DE PARGAMEN T; LABAL DE VINUESA; LARRIPA, 1987)	63 camundongos CFW machos e fêmeas no total	Tiabendazol	Micronúcleo	Negativo (animais não tratados; animais tratados com água destilada)	50; 100; 200 mg/kg	Dose única administrada via intraperitoneal	30 horas após o tratamento	Camundongos tratados com 50, 100 e 200 mg/kg de tiabendazol apresentaram aumento significativo na frequência de micronúcleos (14,9; 16,8 e 20%, respectivamente) em relação aos dois controles negativos (8 e 8,2%).	+
	15 camundongos CFW machos e fêmeas no total		Troca de cromátide irmã						
(MUDRY DE PARGAMENT <i>et al.</i> , 1981)	3 <i>Saimiri sciureus</i>	Tiabendazol	Troca de cromátide irmã	Negativo (animais não tratados com tiabendazol)	40 mg/kg	Dose diária através da via oral (alimentar)	Após 5 dias de exposição	Observou-se um aumento estatisticamente significativo na frequência de SCE no grupo tratado com tiabendazol (8,7%), quando comparado ao controle negativo (5,6%).	+
(SASAKI <i>et al.</i> , 1997)	4 camundongos CD-1 machos	Tiabendazol	Danos ao DNA (ensaio cometa)	Negativo (animais tratados com azeite de oliva)	200 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	3, 8 e 24 hrs após a exposição	Tiabendazol produziu danos ao DNA estatisticamente significativos em todos os órgãos estudados (estômago, fígado, rim, bexiga, pulmão, cérebro e medula óssea) 3 hrs após a administração do composto.	+
(SASAKI <i>et al.</i> , 2002)	4 camundongos ddY machos	Tiabendazol	Danos ao DNA (ensaio cometa)	Negativo (animais não tratados com tiabendazol)	10; 100; 200 mg/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	3 e 24 hrs após a exposição	Tiabendazol induziu danos ao DNA em todos os órgãos estudados (estômago glandular, cólon, fígado, rim, bexiga urinária, pulmão, cérebro e medula óssea) 3 hrs após a administração da dose de 200 mg/kg exposição, com diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo não tratado.	+

Tabela F.17- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiabendazol.

Referência	Nº espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
(DONSKAYA <i>et al.</i> , 1982)	Camundongos fêmeas C57Bl/6J	Tiabendazol	Imunotóxico	Negativo (animais tratados com meio 199)	20 mg/kg	Dose única administrada via intraperitoneal	3, 6 e 9 dias após a exposição	Na medula óssea e timo, o tiabendazol estimulou todos os estágios de diferenciação de células T em camundongos, atuando como um composto imunostimulador.	-
(DONSKAYA <i>et al.</i> , 1982)	3 camundongos fêmeas C57Bl/6J	Tiabendazol	Imunotóxico	Negativo (animais tratados com meio 199)	20 mg/kg	Dose única administrada via intraperitoneal	3, 6 e 9 dias após a exposição	No baço e linfonodos, o tiabendazol estimulou o desenvolvimento e diferenciação de linfócitos em camundongos, atuando como um composto imunostimulador	-
(TADA <i>et al.</i> , 2001)	50 camundongos ICR machos e fêmeas	Tiabendazol	Carcinogênico	Negativo (animais não tratados com tiabendazol)	0,031; 0,125; 0,5%	Dose diária através da via oral (alimentar)	Após 78 semanas de exposição	Tiabendazol não foi carcinogênico para camundongos ICR. Na bexiga de animais tratados, foram observadas hiperplasia ou metaplasia escamosa do epitélio transicional e um papiloma de células transicionais, mas nenhum câncer foi identificado.	-
(FUJII <i>et al.</i> , 1986)	10 ratos F344/DuCrj machos e 10 fêmeas	Tiabendazol	Carcinogênico	Negativo (animais não tratados com tiabendazol)	126 mg/kg	Dose diária através da via oral (alimentar)	Após 13 semanas de exposição	Nenhum tumor foi encontrado nos grupos tratados com tiabendazol	-
	Após 65 semanas de exposição						No grupo tratado com tiabendazol observou-se a ocorrência de um caso de tumor em machos (1/15), mas nenhum câncer foi identificado.		-
(FUJII; MIKURIYA; SASAKI, 1991)	30 ratos F344/DuCrj machos e 30 fêmeas	Tiabendazol	Carcinogênico	Negativo (animais não tratados com tiabendazol)	0,05; 0,1; 0,2; 0,4%	Dose diária através da via oral (alimentar)	Após 104 semanas de exposição	Observou-se a hiperplasia de células de transição da pelve renal e/ou papila em grupos tratados de cada sexo com tendências positivas significativas. Baixa incidência de papiloma de células de transição ou carcinoma do sistema urinário foi registrada nos grupos dosados. O adenoma da glândula prepuccial ocorreu em homens tratados com TBZ a 0,4%, e a incidência foi significativamente maior do que nos controles.	+

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (±) associação não significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, os grupos expostos ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência dos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) o grupo controle e exposto ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: DMSO (dimetilsulfóxido); hrs (horas); kg (quilograma); M (molar); mg (miligrama); mL (mililitro); NaCl (cloreto de sódio); ppm (parte por milhão); SCE (troca de cromátides irmãs); µg (micrograma).

Fonte: Do autor.

Tabela F.18- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vitro* relacionados ao ingrediente ativo tiofanato-metílico.

Referência	Linagem celular	IA/formulação	Efeito	Controle	Nº de replicata/dose	Dose administrada	Duração da exposição	Resultados encontrado	Efeito*
• Linhagem celular humana									
(HRELIA <i>et al.</i> , 1996)	Linfócitos de sangue periférico humano	Tiofanato-metílico	Aberração cromossômica	- Negativo (não tratado; DMSO); - Positivo (EMS; ciclofosfamida).	Não mencionado	3; 10; 30; 100; 300 µg/mL	- 3 (com S9); - 24 hrs (sem S9).	Na ausência da mistura S9, observou-se aumentos estatisticamente significativos e relacionados a dose na frequência de AC estruturais. A frequência máxima de aberrações cromossômicas foi observada na dose mais alta (aproximadamente 9%) quando comparado ao controle negativo (1%). Aumentos nas AC também foram observados em culturas com S9, mas em menor frequência.	++
			Micronúcleo	- Negativo (não tratado; DMSO); - Positivo (colcemida; bleomicina).				0,3; 1,0; 3; 10; 30 µg/mL	Não mencionado
(FIMOGNARI; NÜSSE; HRELIA, 1999)	Linfócitos de sangue periférico humano	Tiofanato-metílico	Micronúcleo	- Negativo (não tratado; DMSO); - Positivo (colcemida; bleomicina).	Não mencionado	10; 30; 100 µg/mL	Não mencionado	Tiabendazol induziu a formação de micronúcleos, principalmente MN com centrômero negativo, que correspondeu a 81% do total.	●
(SAQUIB <i>et al.</i> , 2009)	Linfócitos humanos	Tiofanato-metílico	Micronúcleo	Negativo (não tratado; DMSO)	Não mencionado	0,05; 0,1; 0,2 mM	24 hrs	Um aumento dependente da concentração no número total de células binucleadas com micronúcleo, após a exposição a tiofanato-metílico, foi observado (13,5, 21 e 45 por 1000 células, respectivamente por dose), quando comparado ao controle negativo (7,0 por 1000 células).	++
			Danos ao DNA (ensaio cometa)	- Negativo (não tratado; DMSO) - Positivo (EMS).				0,25; 0,5; 0,75; 1,0 mM	3 hrs

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (±) associação não significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, culturas expostas ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência de efeitos, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) as culturas de controle negativo e expostas ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: AC (aberração cromossômica); DMSO (dimetilsulfóxido); EMS (etilmetanossulfonato); hrs (horas); mL (mililitro); mM (milimolar); MN (micronúcleo); S9 (ativação metabólica); µg (micrograma).

Fonte: Do autor.

Tabela F.19- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiofanato-metílico.

(continua)

Referência	Nº espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito*
				Controle	Exposto				
<b>• Estudos experimentais <i>in vivo</i> com vegetais</b>									
(SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983)	- <i>Allium cepa</i> - <i>Allium sativum</i> - <i>Vicia faba</i>	Mildothane® Cercobin-M® Topsin-M®	Aberração cromossômica	Negativo (vegetais não tratados com as formulações comerciais)	250; 500; 1000 ppm	Vegetais expostos sistemicamente por 2 hrs	12, 24 e 48 hrs após o tratamento	Os compostos não induziram frequências de aberrações cromossômicas diferentes estatisticamente do grupo controle	-
(SOMASHEKAR; GOWDA; VENKATASUBBAIAH, 1984)	<i>Allium cepa</i>	Topsin-M®	Aberração cromossômica Micronúcleo	Negativo (vegetais não tratados com Topsin-M®)	100; 300; 500; 1000 µg/ml	Vegetais expostos sistemicamente	Após 6, 24 e 48 hrs de exposição	Efeitos clastogênicos como fragmentação de cromossomos, lacunas, quebras e pontes foram observados nos estágios de anáfase e telófase. Observou-se um aumento na frequência de MN, especialmente no tratamento de 24 horas.	● ●
<b>• Estudos experimentais <i>in vivo</i> com animais não mamíferos</b>									
(CAPRIGLIONE <i>et al.</i> , 2011)	10 espécies machos e 10 fêmeas de <i>Podarcis sicula</i> (lagartos)	Tiofanato-metílico	Aberração cromossômica Micronúcleo Dano ao DNA (ensaio cometa)	Negativo (animais não tratados com tiofanato-metílico)	1,5 mg/mL	2 doses por semana através da via oral (alimentar)	Após 15, 30 e 40 dias de exposição	O número de todos os tipos de aberração cromossômica (lacunas, quebras e rearranjos) foi significativamente maior no grupo exposto do que nos controles. Um aumento estatisticamente significativo e correlacionado com o tempo de exposição de MN foi observado em animais expostos ao tiofanato-metílico por 30 ou 40 dias. Observou-se um aumento significativo do comprimento da cauda, paralelamente a uma redução no tamanho da cabeça, em animais tratados com tiofanato-metílico.	+ + +
<b>• Estudos experimentais <i>in vivo</i> com animais não mamíferos</b>									
(BEN AMARA <i>et al.</i> , 2014)	8 ratos Wistar machos	Tiofanato-metílico	Danos ao DNA	Negativo (animais tratados com óleo de milho)	300; 500; 700 mg/kg	Dose única administrada via intraperitoneal	24, 48 e 72 hrs após a exposição	Observou-se um aumento significativo e dose-dependente da frequência de quebras de fita simples de DNA.	++
(BARALE <i>et al.</i> , 1993)	4 ratos albinos suíços machos	Tiofanato-metílico	Micronúcleo Poliploidia Aberração cromossômica	Negativo (animais tratados com DMSO)	1 g/kg	Dose única através da via oral (gavagem)	12, 24, 36 e 48 hrs após a exposição	A média de micronúcleos foi maior significativamente em todos os tempos analisados, quando comparados ao controle, com um máximo em 24 hrs (3,40±0,99% MN/PCE). Um aumento na frequência de células poliplóides foi detectado 24 e 36 horas após o tratamento (significância <u>limitrofe</u> ). Não foram observadas variações no aumento das aberrações cromossômicas, em relação ao nível de controle.	+ + -

Tabela F.19- Principais dados extraídos dos estudos experimentais *in vivo* relacionados ao ingrediente ativo ou formulações a base de tiofanato-metílico.

Referência	Nº/ espécie do animal utilizado por grupo	IA/ formulação	Efeito	GRUPO		Tratamento	Período de avaliação	Resultados encontrado	Efeito* (conclusão)
				Controle	Exposto				
(MAKITA; HASHIMOTO; NOGUCHI, 1973)	30 ratos machos albinos Wistar	Tiofanato-metílico	Aberração cromossômica	Negativo (animais tratados com solução de goma arábica)	62,5; 125; 250; 500; 1000 mg/kg	Dose diária via intraperitoneal	Após 5 dias de exposição	Não se observou aberrações cromossômicas em animais expostos ao tiofanato-metílico.	○
(HASHIMOTO <i>et al.</i> , 2010)	5 coelhos albinos machos adultos	Tiofanato-metílico	Imunotóxico (irritação dérmica)	Negativo (animais não tratados com tiofanato-metílico)	0,1; 1; 10%	Dose única através da via dérmica	21 dias após a exposição	Um ligeiro eritema foi observado na pele de coelho tratada com uma suspensão de tiofanato-metílico a 10% após vários dias, mas este efeito desapareceu alguns dias após o tratamento final.	○
	14 cobaias machos albinos				1%	10 doses administradas em dias alternados via intradérmica	34 dias após a primeira dose	Foi observado que os animais tratados com tiofanato-metila não exibiram irritação primária, apenas um estado ligeiramente sensível.	○

\*Após a análise dos dados encontrados nos artigos, os efeitos observados foram classificados como: (++) associação estatisticamente significativa e dose relacionada entre a exposição e o efeito observado; (+) associação estatisticamente significativa entre a exposição e o efeito observado; (●) em comparação com o controle, os grupos expostos ao pesticida apresentaram uma maior ocorrência dos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (○) o grupo controle e exposto ao pesticida tiveram resultados semelhantes em relação aos efeitos investigados, mas nenhuma análise estatística foi realizada; (-) ausência de associação entre a exposição e o efeito observado.

Nota: DMSO (dimetilsulfóxido); g (grama); hrs (horas); kg (quilograma); mg (miligrama); mL (mililitro); MN (micronúcleo); PCE (eritrócitos policromáticos); ppm (parte por milhão); µg (micrograma).

Fonte: Do autor.

## APÊNDICE G- AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DOS ARTIGOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EXPERIMENTAIS *IN VITRO*.

Quadro G.1- Avaliação da qualidade e risco de viés dos estudos experimentais *in vitro* incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais.

(continua)

Artigos	Critérios chave			Outros critérios				Classificação
	1. Pode-se ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?	2. Pode-se ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?	3.O estudo teve um n° adequado de repetições por grupo de estudo?	4. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?	5. Os pesquisadores foram cegados para o grupo de teste?	6. Os dados do resultado foram completos?	7. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (os métodos estatísticos eram apropriados e os pesquisadores aderiram ao protocolo)?	Nível
<b>ALBENDAZOL</b>								
(GOIN; MAYER, 1995)	+	++	-	++	-	++	-	2
(RAMÍREZ; EASTMOND; HERRERA, 2007)	+	++	+	++	-	++	++	1
(RAMÍREZ <i>et al.</i> , 2001)	+	++	-	++	-	++	++	2
(RAMÍREZ <i>et al.</i> , 2003)	+	++	+	+	-	++	++	1
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	+	++	++	++	-	++	++	1
<b>BENOMIL</b>								
(OHNISHI <i>et al.</i> , 2008)	-	+	++	+	-	-	-	2
(KAPPAS; BRIDGES, 1981)	-	+	++	+	-	-	+	2
(KAPPAS <i>et al.</i> , 1976)	-	+	-	+	-	-	-	2
(KVELLAND, 1982)	+	+	-	++	-	+	-	2
(FICSOR; BORDAS; STEWART, 1978)	+	++	++	++	-	++	++	1
(SARRIF <i>et al.</i> , 1994)	+	++	+	++	-	++	+	1
(CARERE <i>et al.</i> , 1978)	+	++	++	+	-	++	--	1
(DE BERTOLDI <i>et al.</i> , 1980)	+	++	+	+	-	++	+	1
(BIANCHI <i>et al.</i> , 1994)	+	++	++	++	-	++	-	1
(GEORGIEVA <i>et al.</i> , 1990)	+	++	-	++	-	++	+	2
(ALBERTINI; BRUNNER; WÜRGLER, 1993)	+	+	+	++	-	++	--	1
(ALBERTINI, 1991)	+	++	-	++	-	++	-	2
(RAIMONDI <i>et al.</i> , 1989)	+	+	-	+	-	++	--	2



Quadro G.1- Avaliação da qualidade e risco de viés dos estudos experimentais *in vitro* incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais.

(continua)

Artigos	Critérios chave			Outros critérios				Classificação
	1. Pode-se ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?	2. Pode-se ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?	3. O estudo teve um n° adequado de repetições por grupo de estudo?	4. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?	5. Os pesquisadores foram cegados para o grupo de teste?	6. Os dados do resultado foram completos?	7. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (os métodos estatísticos eram apropriados e os pesquisadores aderiram ao protocolo)?	Nível
(RAINALDI <i>et al.</i> , 1987)	+	++	-	++	-	++	--	2
(HOWLETT; SCHIESTL, 2000)	+	++	++	++	-	++	++	1
(ATHWAL; SANDHU, 1985)	+	-	-	-	-	++	-	2
(GIBSON <i>et al.</i> , 1995)	+	+	-	++	++	++	++	2
(BENTLEY <i>et al.</i> , 2000)	+	++	+	++	-	++	++	1
(ZELESCO; BARBIERI; GRAVES, 1990)	+	++	-	-	-	++	--	2
(KOCHENDÖRFER <i>et al.</i> , 1996)	+	++	-	++	-	+	--	2
(NICOLOFF; KAPPAS, 1987)	+	+	+	++	-	+	--	1
(STERNES; VIG, 1989)	+	++	-	+	-	++	--	2
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	+	++	++	++	-	++	++	1
(PIATTI; MARABINI; CHIESARA, 1994)	+	++	++	++	+	++	++	1
(EASTMOND; TUCKER, 1989)	+	++	-	++	-	++	++	2
(BIANCHI-SANTAMARIA <i>et al.</i> , 1997)	+	++	++	++	-	++	++	1
(DOLARA <i>et al.</i> , 1992)	+	++	-	++	-	++	++	2
<b>BENZIMIDAZOL</b>								
(GOIN; MAYER, 1995)	+	++	-	++	-	++	-	2
(SEILER, 1972)	-	+	-	++	-	+	-	2
<b>CARBENDAZIM</b>								
(SEILER, 1972)	-	+	-	++	-	+	-	2
(FICSOR; BORDAS; STEWART, 1978)	+	++	++	++	-	++	++	1
(SARRIF <i>et al.</i> , 1994)	+	++	+	++	-	++	-	1
(ALBERTINI, 1989)	+	++	++	++	-	++	-	1
(FELLOWS <i>et al.</i> , 2011)	+	++	+	++	-	++	-	1

Quadro G.1- Avaliação da qualidade e risco de viés dos estudos experimentais *in vitro* incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais.

(continua)

Artigos	Critérios chave			Outros critérios				Classificação
	1. Pode-se ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?	2. Pode-se ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?	3. O estudo teve um n° adequado de repetições por grupo de estudo?	4. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?	5. Os pesquisadores foram cegados para o grupo de teste?	6. Os dados do resultado foram completos?	7. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (os métodos estatísticos eram apropriados e os pesquisadores aderiram ao protocolo)?	Nível
(PANDITA, 1988)	+	++	++	++	-	++	--	1
(WOOD, 1982)	+	++	-	++	-	++	--	2
(ALBERTINI, 1991)	+	++	-	++	-	++	-	2
(HUMMELEN; ELHAJOUJI; KIRSCH-VOLDERS, 1995)	+	++	+	++	-	++	+	1
(VERMA <i>et al.</i> , 2017)	+	+	-	+	-	++	+	2
(VERMA <i>et al.</i> , 2018)	+	+	++	+	-	++	+	1
(SEELBACH <i>et al.</i> , 1993)	+	++	+	++	-	++	--	1
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	+	++	++	++	-	++	++	1
(ELHAJOUJI; CUNHA; KIRSCH-VOLDERS, 1998)	+	++	+	++	-	++	++	1
(ELHAJOUJI; VAN HUMMELEN; KIRSCH-VOLDERS, 1995)	+	++	+	++	-	++	++	1
(DECORDIER <i>et al.</i> , 2009)	+	+	--	++	-	++	-	2
(PANDITA, 1988)	+	++	-	++	++	++	+	2
(BANDUHN; OBE, 1985)	+	++	-	++	-	++	++	2
(LAMB; LILLY, 1980)	+	++	+	++	--	+	+	1
(DE STOPPELAAR <i>et al.</i> , 2000)	+	++	-	++	-	-	-	2
(BENTLEY <i>et al.</i> , 2000)	+	++	+	++	-	++	++	1
(WHITTAKER <i>et al.</i> , 1990)	+	++	++	++	-	++	--	1
(LEBAILLY <i>et al.</i> , 1997)	+	++	+	++	-	++	++	1
(VIGREUX <i>et al.</i> , 1998)	+	++	++	++	-	++	++	1
<b>FEMBENDAZOL</b>								
(GOIN; MAYER, 1995)	+	++	-	++	-	++	-	2
<b>FLUBENDAZOL</b>								
(HUANG <i>et al.</i> , 1994)	+	++	-	++	-	++	++	2

Quadro G.1- Avaliação da qualidade e risco de viés dos estudos experimentais *in vitro* incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais.

(continua)

Artigos	Critérios chave			Outros critérios				Classificação
	1. Pode-se ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?	2. Pode-se ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?	3. O estudo teve um n° adequado de repetições por grupo de estudo?	4. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?	5. Os pesquisadores foram cegados para o grupo de teste?	6. Os dados do resultado foram completos?	7. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (os métodos estatísticos eram apropriados e os pesquisadores aderiram ao protocolo)?	Nível
(TWEATS <i>et al.</i> , 2016)	+	++	-	++	+	++	-	2
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	+	++	++	++	-	++	++	1
<b>MEBENDAZOL</b>								
(PAULÍKOVÁ; DOBIÁS, 1981)	+	++	-	+	-	+	--	2
(MUDRY <i>et al.</i> , 1990)	+	++	-	+	-	++	-	2
(ANTUNES; TAKAHASHI, 1994)	+	++	-	++	-	++	++	2
(GOIN; MAYER, 1995)	+	++	-	++	-	++	-	2
(DE LA TORRE <i>et al.</i> , 1994)	+	++	-	++	-	++	++	2
(HUMMELEN; ELHAJOUJI; KIRSCH-VOLDERS, 1995)	+	++	+	++	-	++	+	1
(ELHAJOUJI; CUNHA; KIRSCH-VOLDERS, 1998)	+	++	+	++	-	++	++	1
(ELHAJOUJI; VAN HUMMELEN; KIRSCH-VOLDERS, 1995)	+	++	+	++	-	++	++	1
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	+	++	++	++	-	++	++	1
<b>OXIBENDAZOL</b>								
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	+	++	++	++	-	++	++	1
(GOIN; MAYER, 1995)	+	++	-	++	-	++	-	2
<b>TIABENDAZOL</b>								
(GOIN; MAYER, 1995)	+	++	-	++	-	++	-	2
(SBRANA <i>et al.</i> , 1993)	+	++	+	+	-	++	+	1
(WARR; PARRY; PARRY, 1993)	+	+	-	++	-	++	+	2
(GIBSON <i>et al.</i> , 1995)	+	+	-	++	++	++	++	2
(NATARAJAN <i>et al.</i> , 1993)	+	++	-	+	-	++	--	2
(CREBELL <i>et al.</i> , 1991)	+	++	-	++	-	++	-	2

Quadro G.1- Avaliação da qualidade e risco de viés dos estudos experimentais *in vitro* incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais.

(conclusão)

Artigos	Critérios chave			Outros critérios				Classificação
	1. Pode-se ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?	2. Pode-se ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?	3.O estudo teve um n° adequado de repetições por grupo de estudo?	4. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?	5. Os pesquisadores foram cegados para o grupo de teste?	6. Os dados do resultado foram completos?	7. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (os métodos estatísticos eram apropriados e os pesquisadores aderiram ao protocolo)?	Nível
(BRUNNER; ALBERTINI; WÜRGLER, 1991)	+	++	-	-	-	++	-	2
(WALLIN; HARTLEY-ASP, 1993)	+	+	++	+	-	++	--	1
(CARBALLO <i>et al.</i> , 2006)	+	++	+	++	++	++	++	1
(HUMMELEN; ELHAJOUJI; KIRSCH-VOLDERS, 1995)	+	++	+	++	-	++	+	1
(SEELBACH <i>et al.</i> , 1993)	+	++	+	++	-	++	--	1
(LYNCH; PARRY, 1993)	+	++	+	++	-	++	+	1
(CLARE <i>et al.</i> , 2006)	+	++	+	++	-	++	-	1
(ERMLER; SCHOLZE; KORTENKAMP, 2013)	+	++	++	++	-	++	++	1
(HASHIMOTO, Kiyohiro <i>et al.</i> , 2010)	+	++	--	++	-	++	++	2
(MIGLIORE; NIERI, 1991)	+	++	-	++	+	+	+	2
(SANTOVITO; CERVELLA; DELPERO, 2011)	+	++	-	++	-	++	++	2
(HUMMELEN; KIRSCH-VOLDERS, 1992)	+	++	+	++	-	++	+	1
(ANTOCCIA <i>et al.</i> , 1991)	+	++	++	++	-	++	++	1
(BONATTI <i>et al.</i> , 1992)	+	++	+	+	-	++	+	1
(VINDAS <i>et al.</i> , 2004)	+	++	+	++	-	++	++	1
(MUDRY DE PARGAMENT; LABAL DE VINUESA; LARRIPA, 1987)	+	++	-	+	-	++	+	2
<b>TIOFANATO-METÍLICO</b>								
(HRELIA <i>et al.</i> , 1996)	+	++	-	++	-	++	+	2
(FIMOGNARI; NÜSSE; HRELIA, 1999)	+	++	-	++	-	++	+	2
(SAQUIB <i>et al.</i> , 2009)	+	++	-	++	-	++	+	2

Nota: ++ (definitivamente baixo risco de viés); + (provavelmente baixo risco de viés); - (provavelmente alto risco de viés); -- (definitivamente alto risco de viés).

Fonte: Do autor.

## APÊNDICE H- AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DOS ARTIGOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ESTUDOS EXPERIMENTAIS *IN VIVO*.

Quadro H.1- Avaliação da qualidade e risco de viés dos estudos experimentais *in vivo* incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais.

(continua)

Artigos	Critérios chave			Outros critérios						Classificação
	1. Podemos ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?	2. Podemos ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?	3. O estudo possui um número adequado de animais para detectar os efeitos da exposição?	4. A dose administrada ou o nível de exposição foram adequadamente randomizados?	5. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?	6. O pessoal da pesquisa e os avaliadores não tinham conhecimento do grupo de estudo (tratamento)?	7. Os dados do resultado foram completos sem atrito ou exclusão da análise?	8. Todos os resultados medidos foram relatados?	9. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (métodos estatísticos eram apropriados e os pesquisadores aderiram ao protocolo)?	Nível
<b>BENOMIL</b>										
(SHERMAN; CULIK; JACKSON, 1975)	-	+	+	++	++	-	++	++	--	2
(GEORGIEVA <i>et al.</i> , 1990)	+	++	+	-	+	-	++	++	+	1
(SEILER, 1976)	+	+	-	-	-	-	++	++	--	2
(SARRIF <i>et al.</i> , 1994)	+	++	+	-	+	-	++	++	++	1
(BARALE <i>et al.</i> , 1993)	+	++	+	++	++	++	++	++	++	1
(AMER; DONYA; ALY, 2003)	-	++	+	-	++	-	++	++	++	2
(ADHIKARI; GROVER, 1988)	+	++	-	-	++	-	++	++	+	2
(MAILHES; AARDEMA, 1992)	+	++	-	-	++	-	++	++	+	2
(SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983)	+	++	-	-	+	+	++	++	+	2
(BÖRZSÖNYI; PINTÉR, 1977)	+	+	+	-	++	-	+	+	--	1
<b>BENZIMIDAZOL</b>										
(SEILER, 1976)	+	+	-	-	-	-	++	++	--	2
<b>CARBENDAZIM</b>										
(SINGHAL <i>et al.</i> , 2003)	-	++	+	+	++	-	++	++	++	2
(JIANG <i>et al.</i> , 2015)	+	++	+	++	++	-	-	++	++	1
(JIANG <i>et al.</i> , 2014)	+	++	+	++	++	-	-	++	++	1

Quadro H.1- Avaliação da qualidade e risco de viés dos estudos experimentais *in vivo* incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais.

(continua)

Artigos	Critérios chave			Outros critérios						Classificação
	1. Podemos ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?	2. Podemos ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?	3. O estudo possui um número adequado de animais para detectar os efeitos da exposição?	4. A dose administrada ou o nível de exposição foram adequadamente randomizados?	5. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?	6. O pessoal da pesquisa e os avaliadores não tinham conhecimento do grupo de estudo (tratamento)?	7. Os dados do resultado foram completos sem atrito ou exclusão da análise?	8. Todos os resultados medidos foram relatados?	9. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (métodos estatísticos eram apropriados e os pesquisadores aderiram ao protocolo)?	Nível
(HASHEM; MOHAMED; ATTIA, 2018)	-	++	+	++	++	-	++	++	++	2
(ARANHA <i>et al.</i> , 2021)	-	-	+	-	++	++	++	++	++	2
(ĐIKIĆ <i>et al.</i> , 2012)	-	++	+	-	++	-	++	++	++	2
(SILVA <i>et al.</i> , 2017)	++	++	+	-	++	-	++	++	++	1
(SILVA <i>et al.</i> , 2015)	++	++	+	-	++	-	++	++	++	1
(RAI; MERCURIO, 2020)	-	++	+	-	++	-	+	++	++	2
(JANAKIDEVI <i>et al.</i> , 2013)	+	++	+	-	++	-	++	++	++	1
(HUAN <i>et al.</i> , 2016)	+	++	+	-	++	-	++	++	++	1
(BOWEN <i>et al.</i> , 2011)	-	++	+	-	++	++	-	++	++	2
(PALANIKUMAR <i>et al.</i> , 2013)	++	++	+	-	++	-	++	++	++	1
(VANHAUWAERT; VANPARYS; KIRSCH-VOLDERS, 2001)	+	++	+	-	++	+	++	++	++	1
(SEILER, 1976)	+	+	-	-	-	-	++	++	--	2
(SARRIF <i>et al.</i> , 1994)	+	++	+	-	+	-	++	++	++	1
(GREYWE <i>et al.</i> , 2012)	+	++	-	+	++	-	++	++	++	2
(PANDITA, 1988)	+	++	+	-	++	-	++	++	+	1
(COFFING <i>et al.</i> , 2011)	-	++	+	-	++	-	++	++	++	2
(IGARASHI <i>et al.</i> , 2007)	-	++	+	-	++	-	++	++	++	2
(ITOH; HATTORI; NAGATA; SANBUISHO, 2012)	-	++	+	-	++	-	-	++	++	2
(ITOH; HATTORI; NAGATA; TAKASAKI, 2012)	-	++	+	-	++	-	++	++	++	2
(ITOH <i>et al.</i> , 2015)	-	++	+	-	++	-	++	++	++	2

Quadro H.1- Avaliação da qualidade e risco de viés dos estudos experimentais *in vivo* incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais.

(continua)

Artigos	Critérios chave			Outros critérios						Classificação
	1. Podemos ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?	2. Podemos ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?	3. O estudo possui um número adequado de animais para detectar os efeitos da exposição?	4. A dose administrada ou o nível de exposição foram adequadamente randomizados?	5. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?	6. O pessoal da pesquisa e os avaliadores não tinham conhecimento do grupo de estudo (tratamento)?	7. Os dados do resultado foram completos sem atrito ou exclusão da análise?	8. Todos os resultados medidos foram relatados?	9. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (métodos estatísticos eram apropriados e os pesquisadores aderiram ao protocolo)?	Nível
(MATSUO; NAKAI; NASU, 1999)	-	++	+	-	++	-	++	++	++	2
(DE STOPPELAAR <i>et al.</i> , 2000)	+	++	-	-	++	-	-	++	-	2
(SHEU <i>et al.</i> , 1990)	+	++	-	-	++	-	+	++	++	2
(DE STOPPELAAR <i>et al.</i> , 1999)	-	++	+	-	++	-	-	++	++	2
(KUCHY; WANI; KAMILI, 2016)	+	++	-	-	++	++	++	++	++	2
(BARALE <i>et al.</i> , 1993)	+	++	+	++	++	++	++	++	++	1
(SINGH; SRIVASTAVA; SINGH, 2008)	+	++	+	-	++	-	++	++	+	1
(SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983)	+	++	-	-	+	+	++	++	+	2
(DIXON <i>et al.</i> , 1999)	+	++	-	-	++	-	++	++	++	2
(BÖRZSÖNYI <i>et al.</i> , 1976)	+	+	+	-	+	-	+	+	--	1
(BÖRZSÖNYI; CSIK, 1975)	+	+	+	-	++	-	+	+	--	1
(BÖRZSÖNYI; PINTÉR, 1977)	+	+	+	-	++	-	+	+	--	1
<b>FLUBENDAZOL</b>										
(TWEATS <i>et al.</i> , 2016)	++	++	+	-	++	-	++	++	+	1
<b>FUBERIDAZOL</b>										
(SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983)	+	++	-	-	+	+	++	-	+	2
<b>MEBENDAZOL</b>										
(ANTUNES; TAKAHASHI, 1994)	+	++	+	-	++	-	++	++	+	1
(MUDRY <i>et al.</i> , 1990)	+	++	+	-	+	-	++	++	+	1

Quadro H.1- Avaliação da qualidade e risco de viés dos estudos experimentais *in vivo* incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais.

(continua)

Artigos	Critérios chave			Outros critérios						Classificação
	1. Podemos ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?	2. Podemos ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?	3. O estudo possui um número adequado de animais para detectar os efeitos da exposição?	4. A dose administrada ou o nível de exposição foram adequadamente randomizados?	5. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?	6. O pessoal da pesquisa e os avaliadores não tinham conhecimento do grupo de estudo (tratamento)?	7. Os dados do resultado foram completos sem atrito ou exclusão da análise?	8. Todos os resultados medidos foram relatados?	9. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (métodos estatísticos eram apropriados e os pesquisadores aderiram ao protocolo)?	Nível
<b>OXFENDAZOL</b>										
(STANKIEWICZ <i>et al.</i> , 1994)	+	++	+	+	++	-	++	++	++	1
<b>TIABENDAZOL</b>										
(SCHMID; XU; ADLER, 1999)	+	++	+	-	++	-	++	++	++	1
(SANDHU <i>et al.</i> , 1991)	-	+	-	-	++	-	++	++	+	2
(DIXON <i>et al.</i> , 1999)	+	++	-	-	++	-	++	++	++	2
(MUDRY DE PARGAMENT <i>et al.</i> , 1981)	-	++	+	-	+	-	-	++	+	2
(MUDRY DE PARGAMENT; LABAL DE VINUESA; LARRIPA, 1987)	+	++	+	-	++	-	++	++	+	1
(ADLER <i>et al.</i> , 1991)	+	+	+	-	++	-	++	++	++	1
(MARRAZZINI <i>et al.</i> , 1994)	+	++	+	+	+	-	++	++	++	1
(ANDRIOLI; MUDRY, 2011)	+	++	+	-	++	-	++	++	++	1
(SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983)	+	++	-	-	+	+	++	-	+	2
(LEOPARDI <i>et al.</i> , 1993)	+	+	+	-	++	-	+	++	++	1
(SASAKI <i>et al.</i> , 1997)	+	++	+	-	+	-	++	++	++	1
(SASAKI <i>et al.</i> , 2002)	+	++	+	-	+	-	++	++	++	1
(DONSKAYA; GOLDSCHNEIDER; <i>et al.</i> , 1982)	+	++	+	-	++	-	++	++	-	1
(DONSKAYA <i>et al.</i> , 1982)	+	++	+	-	++	-	++	++	++	1
(TADA <i>et al.</i> , 2001)	-	++	+	-	++	-	+	++	++	2
(FUJII <i>et al.</i> , 1986)	-	++	+	-	++	-	++	++	++	2
(FUJII; MIKURIYA; SASAKI, 1991)	-	++	+	-	++	-	++	++	++	2



Quadro H.1- Avaliação da qualidade e risco de viés dos estudos experimentais *in vivo* incluídos na revisão sistemática de estudos experimentais.

(conclusão)

Artigos	Critérios chave			Outros critérios						Classificação
	1. Podemos ter certeza de que a exposição foi adequadamente caracterizada?	2. Podemos ter certeza de que o resultado foi avaliado adequadamente?	3. O estudo possui um número adequado de animais para detectar os efeitos da exposição?	4. A dose administrada ou o nível de exposição foram adequadamente randomizados?	5. As condições experimentais eram idênticas nos grupos de estudo?	6. O pessoal da pesquisa e os avaliadores não tinham conhecimento do grupo de estudo (tratamento)?	7. Os dados do resultado foram completos sem atrito ou exclusão da análise?	8. Todos os resultados medidos foram relatados?	9. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (métodos estatísticos eram apropriados e os pesquisadores aderiram ao protocolo)?	Nível
(SOMASHEKAR; GOWDA; VENKATASUBBAIAH, 1984)	+	+	-	-	+	-	++	++	--	2
(HASHIMOTO <i>et al.</i> , 1972)	+	+	+	-	+	-	++	++	--	1
(MARTINI <i>et al.</i> , 2010)	++	++	+	-	++	-	++	++	++	1
<b>TIOFANATO-METÍLICO</b>										
(MAKITA; HASHIMOTO; NOGUCHI, 1973)	+	+	+	-	++	-	-	++	-	2
(BEN AMARA <i>et al.</i> , 2014)	+	++	+	+	++	-	-	++	++	1
(BARALE <i>et al.</i> , 1993)	+	++	+	++	++	++	++	++	++	1
(CAPRIGLIONE <i>et al.</i> , 2011)	-	++	+	-	++	-	++	++	++	2
(SAHU; BEHERA; SHARMA, 1983)	+	++	-	-	+	+	++	-	+	2

Nota: ++ (definitivamente baixo risco de viés); + (provavelmente baixo risco de viés); - (provavelmente alto risco de viés); -- (definitivamente alto risco de viés).

Fonte: Do autor.

