

INFERTILIDADE FEMININA E AGROTÓXICO: revisão sistemática de modelos toxicológicos in vitro

Giovanna Rafael Fernandes da Silva¹
Raiane Cristina Fratini de Castro²
Eloísa dos Santos Siviero³
Geovana Izabela do Monte⁴
Isabele Picada Emanuelli⁵

Promoção da Saúde

Resumo

Frente ao surgimento e liberação crescente de pesticidas, estudos para testar a toxicidade reprodutiva feminina são essenciais para a segurança alimentar da cadeia produtiva agrícola. Os modelos in vitro são uma alternativa para prever riscos celulares e ação tóxica de tais produtos químicos sem utilizar modelos vivos. Frente ao exposto, o presente artigo apresenta uma revisão sistemática acerca das evidências disponíveis na literatura sobre estudos toxicológicos in vitro na fertilidade feminina e desenvolvimento embrionário inicial, visando orientar futuras medidas de saúde pública. Com base nos critérios de pesquisa, 92 artigos (1983-2021) foram identificados, sendo posteriormente refinados em 15 artigos descritos no fluxograma PRISMA. As espécies animais estudadas nos artigos foram em sua maioria suíno com 33,33% seguida de camundongos e murinos com 26,67% cada. Dentre os estudos realizados notamos que há uma preferência por utilizar como modelo gametas e embriões de animais de laboratório como os camundongos, murinos, xenopus e hamster chinês (68,75%). Já os animais de produção como suínos e bovinos, são pouco empregados nos estudos (37,5%). Os estudos analisados identificaram 34 tipos de agrotóxicos do tipo pesticidas, sendo Diclorodifenildicloroetileno (DDE) e Metoxicloro os mais presentes. Esta revisão sistemática revelou haver uma escassez na literatura ensaios in vitro e um número reduzido de artigos que abordavam os efeitos de agroquímicos no sistema reprodutor feminino. Visto a escassez de trabalhos, destaca-se a importância de fomentar e incentivar estudos que investiguem estes aspectos para compreender o real efeito dos diferentes agroquímicos na fertilidade feminina e no embrião pré-implantacional.

Palavras-chave: Embriotoxicidade; Maturação; Esterilidade; Pesticida.

¹Aluna de Medicina Veterinária/ Unicesumar, bolsista PIBIC-ICETI/ Unicesumar.
giovannarfs1@gmail.com

²Alunas de Medicina Veterinária/ Unicesumar. raianecfratini@gmail.com

^{3,4}Alunos do Mestrado em Tecnologias Limpas/ Unicesumar, bolsistas ICETI/ Unicesumar.
elosiviero@gmail.com; geovanaizabela19@gmail.com

⁵Docente do Mestrado em Tecnologias Limpas/ Unicesumar/ ICETI. isabele.emanuelli@unicesumar.edu.br

INTRODUÇÃO

O crescimento contínuo da população e o aumento do consumo impulsionam a demanda global por alimentos, e conseqüentemente a necessidade de crescimento da produção. Este crescimento deve vir obrigatoriamente baseado em pressupostos de sustentabilidade dos objetivos de desenvolvimento sustentável (ODS) introduzidos no ano 2015 pela agenda da ONU (FAO, 2018). O grande desafio é promover a segurança alimentar sustentável dentro dos sistemas produtivos, impactando minimamente o ambiente, a saúde humana e a biodiversidade como um todo.

O Brasil desponta para atender essa demanda alimentar principalmente de grãos e de proteína animal, pois possui o segundo maior rebanho mundial de bovinos, é o segundo maior produtor de soja (CONAB, 2019) e um importante produtor agrícola e exportador de diversas commodities (PAUMGARTTEN, 2020). O uso de pesticidas tornou-se essencial para o controle de pragas, contribuindo significativamente para aumentar a produtividade (SILVA *et al.*, 2019).

Os pesticidas são ferramentas essenciais à produção agrícola brasileira e à manutenção do seu alto nível produtivo. Combatem pragas, ervas daninhas e outros patógenos que causam prejuízos e reduzem a produtividade de lavouras e criações (ANVISA, 2019; WHO, 2019). Em contrapartida, podem causar efeitos indesejáveis tanto no meio ambiente físico quanto no homem – aplicadores de pesticidas e consumidores dos produtos com resíduos nocivos à saúde (BRASIL, 2016). As substâncias químicas que serão utilizadas para o controle de pragas devem ser usadas de maneira correta, segundo os conselhos da ANVISA (ANVISA, 2020) e do laboratório fabricante dessas substâncias.

Segundo Dutra, 2019, alguns estudos apontam que essas substâncias podem chegar a atuar no organismo como disruptores endócrinos, assim, intervindo em funções relacionadas aos hormônios, sendo mais evidente no sistema reprodutor.

Os agrotóxicos podem estar relacionados também a problemas no binômio mãe-feto, como, por exemplo, em má formações congênitas entre as crianças que mães foram

Realização



Apoio



expostas a essas substâncias perto do seu período de concepção, assim, ocorrendo nascimentos prematuros, escala apgar insatisfatórios e micro pênis nos recém-nascidos (LARSEN, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2014). A maioria das investigações olham os efeitos agudos da exposição a essas substâncias e ao tipo de exposição, isso é atenuante pelo fato que não verificam as consequências crônicas desses contaminantes nas crianças, fetos sendo humanos ou animais em gestação, mulheres que estão na sua idade fértil, adolescente, entre outros fatores. (LARSEN, 2017; LOPES *et al.*, 2018; TAVEIRA & ALBUQUERQUE, 2018).

O desenvolvimento embrionário inicial apresenta um ponto crítico para sobrevivência embrionária nos primeiros ciclos de clivagem, onde o embrião com aproximadamente 8 células ativas por completo o seu genoma embrionário e assume a transcrição e tradução própria (LONERGAN *et al.*, 1992). Porém, em embriões *in vitro*, o processo de ativação do genoma embrionário é ainda mais crítico devido à qualidade morfológica destes embriões (PERKEL *et al.*, 2015). Aproximadamente 40% dos oócitos bovinos fertilizados *in vitro* não se desenvolvem além dos primeiros ciclos de clivagem, não ativando eficientemente seu genoma (LONERGAN *et al.*, 1992).

Dentre as diversas causas relacionadas a essa falta de habilidade em ativar o genoma, destaca-se possíveis danos morfológicos do oócito ou das células do cumulus ocorridos durante o processo de maturação afetando a competência oocitária (EMANUELLI *et al.*, 2019; PERKEL *et al.*, 2015). No entanto, existe uma escassez de estudos toxicológicos que investiguem a ação dos agrotóxicos na fertilidade feminina utilizando modelos *in vitro*. Sendo assim, é importante utilizar modelos *in vitro* para verificar a toxicidade na reprodução feminina, e assim, conhecer os riscos celulares que esses pesticidas promovem. É uma questão de saúde pública, onde ocorre a falta de dados suficientes para tratar sobre o potencial embriotóxico dos diferentes tipos de pesticidas e consequentemente favorece a ocultação e invisibilidade destes (PIGNATI *et al.*, 2017; NASRALA NETO *et al.*, 2014).

Frente ao exposto, o presente artigo apresenta uma revisão sistemática acerca das evidências disponíveis na literatura sobre estudos toxicológicos *in vitro* na fertilidade

Realização

Apoio

feminina e desenvolvimento embrionário inicial, visando orientar futuras medidas de saúde pública.

METODOLOGIA

PROTOCOLO DE REVISÃO

O estudo foi realizado por meio da sistemática padrão PRISMA (Itens de Relatórios Preferenciais para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises). (LIBERATI *et al.*, 2009). As instruções processuais apresentadas na Figura 1 foram seguidas: (a) pesquisa de banco de dados para identificar artigos eventualmente relevantes, (b) avaliação da qualidade e relevância dos artigos, e (c) extração de dados.

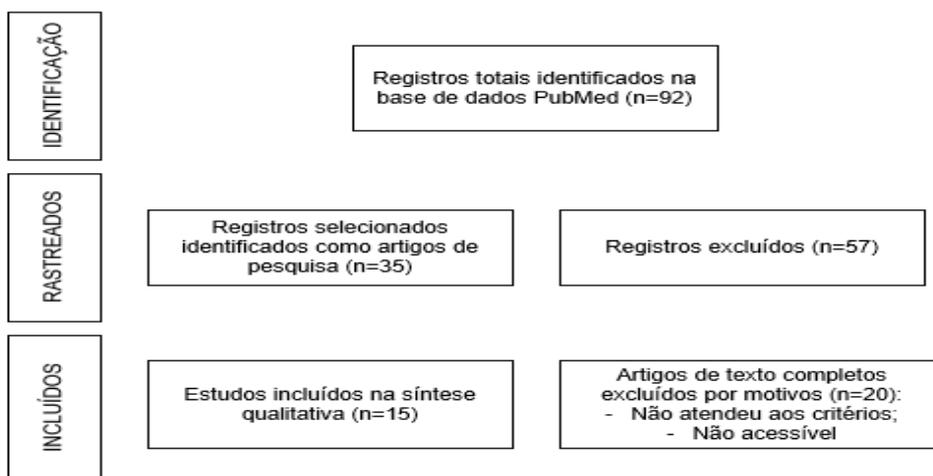


Figura 1. Fluxograma dos Itens de Relatórios Preferenciais para Revisões Sistemáticas e Meta-Análise (PRISMA).

A Figura 1 mostra o processo seletivo e a estratégia de pesquisa utilizados para artigos publicados entre os anos de 1983 e 2021. Com base nos critérios de pesquisa, 92 artigos publicados em língua inglesa foram identificados, sendo posteriormente refinados em 15 artigos descritos no fluxograma PRISMA.

Tabela 1. Descrição dos estudos selecionados para a revisão sistemática entre os anos de 1983 e 2021.

Realização

Apoio



Autor/ Ano	País	Espécie Animal	Agroquímico	Abordagem da exposição ao agroquímico	Estrutura morfológica de exposição	Parâmetros avaliados	Efeito acarretado	Referên- cias
Greenle e et al./2000	EUA	Camundongos	O,p'-DDT (um pesticida estrogênico)	Embriões pronucleares	Embrião	Ddesenvolim ento de embriões	O desenvolvimento para blastocisto e números médios de células foram significativamente reduzidos e por cento de apoptose foi significativamente aumentada para embriões	10.1016 /s0890- 6238(00) 00072- 1
Chedres e et al./2001	Canada	Suínos e hamster chinês	Diclorodifenildicloro oetileno (DDE), metoxicloro	Células ovarianas in vitro	Células da granulosa	Eesteroidogên ese e responsividade do FSH	DDE inibiu principalmente a geração de cAMP, enquanto o metoxicloro suprimiu a síntese de progesterona por meio de um mecanismo distal à geração de cAMP.	https://p ubmed. ncbi.nlm .nih.gov /117385 22/
Greenle e et al./2003	EUA	Camundongos	DDT (dicloro difenil tricloroetano	Embriões pronucleares	Embrião	Desenvolvime nto de embriões para blastocisto	Redução comparável no desenvolvimento ao blastocisto	10.1016 /s0890- 6238(99) 00051- 9
Hewitt et al./2005	UK	Rato	Benomil; anoftalmia	Desenvolvim ento embrionário	Embriões	Método de cultura de embriões	Diminuição nos parâmetros de crescimento	https://p ubmed. ncbi.nlm .nih.gov /159076 63/
Zachow et al./2006	USA	Rato	Metoxicloro	-	Células da granulosa	-	Interrupção da produção de P4 e E2 em células da granulosa	https://p ubmed. ncbi.nlm .nih.gov /167377 95/
Rossi et al./2006	Itália	Camundongos	Mancozeb	Maturação meiotica	Oócito	Maturação meiotic e fertilização do oocito	Aumento de alterações dependentes de dose na morfologia do fuso	10.1016 /i.reprot ox.2005 .11.005
LaChap elle et al./2007	EUA	enopus	Ácido 2,4- diclorofenoxiacétic o	Ócitos	Oócito	Maturação oocitária	Induz disfunção irreversível do mecanismo de sinalização meiotic	10.1016 /i.reprot ox.2006 .08.013
Campag na et al./2007	Canadá	Suínos	Mistura metabolizada de organoclorotina (2,2 bis (p- clorofenil)-1,1- dicloroetileno (p,p'- DDE); bifenilos policlorados (PCBs); hidroxilados (OH- PCBs))	Complexos de cumulus-oócitos (COCs)	Oócito	Expansão cumulus, a maturação do oócito, a penetração, o desenvolvimen to ao blastocisto e número de células por blastocisto	Induziu uma diminuição das células cúmulo apoptóticas em baixas concentrações e um aumento em concentrações mais elevadas	10.1016 /i.reprot ox.2006 .10.007
Campag na et al./2008	Canadá	Suínos	Organoclorinas composta por bifenilos policlorados (PCBs), cloroiatécnica, diclorodifeniloltileno e 12 outros componentes	Embriões	Embrião	Desenvolvime nto embrionario	Reduziu o desenvolvimento embrionário, reduziu o número médio de blastomeres por blastocisto expandido, não induziu apoptose de blastomere	10.1016 /i.reprot ox.2008 .03.003
Gregora szczuk et al./2011	Polônia	Suínos	Hexaclorobenzeno (HCBz) e pentachlorobenzeno (PeCBz)	Folículos ovarianos	Folículos ovarianos	Efeito sobre a esterogênese e a expressão de enzimas responsáveis pela síntese de esteroides	Efeito inibidor do HCBz em CYP17, 17β-HSD e CYP19, um efeito estimulante do PeCBz em CYP17 e CYP19 e nenhum efeito na expressão proteica 17β-HSD	10.1016 /i.reprot ox.2011 .01.006
Basavar ajappa et al./2012	EUA	Rato	Metoxicloro (MXC)	Folículos antral ovarianos	Folículo ovariano	Crescimento e atresia de folículos antral	Inibição do crescimento e indução da atresia em folículos de tipo selvagem (TR) e AHR (AHRKO)	10.1016 /i.reprot ox.2012 .03.007

Realização

Apoio



Ducolomb et al./2017	México	Suínos	Diazinon; malatião	Maturação in vitro	Oócitos	Viabilidade oocitária; divisões embrionárias; FIV	Prejudicam a fertilização in vitro e o desenvolvimento embrionário.	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19148769/
Zhou et al./2018	USA	Rato	Lindano e 7,12-dimentilbenz antraceno (DMBA)	Foliculogênese	Folículos	Sobrevivência a folicular maturação oocitária	Diminuição da sobrevivência do folículo, ao desenvolvimento prejudicado e à maturação comprometida	https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2018.04.010
Atmaca et al./2018	Turquia	Bovino	Mancozeb, metalaxil e tebuconazol	Esteroidogênese	Células luteais	Produção de esteroide: níveis de progesterona	Diminuição progressiva dos níveis de progesterona, dano na esteroidogênese	https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.03.009
He et al./2019	China	Camundongos	Fenoxaprop-Etil (FE)	Maturação in vitro	Oócito	Maturação nuclear (meiose)	Defeitos significativos na extrusão do primeiro corpo polar,	https://doi.org/10.1016/j.tox.2019.152241

ESTRATÉGIA DE PESQUISA

Uma conduta estruturada de busca de literatura foi utilizada para identificar estudos publicados relatando a influência dos agrotóxicos presentes nos alimentos na infertilidade. A base de dados científica PubMed foi pesquisada por estudos relevantes publicados entre os anos de 1983 e 2021. Estes foram pesquisados usando os seguintes termos de busca: pesticidas, fêmea, toxicologia, reprodução in vitro (*pesticides, female, toxicology, in vitro reproduction*). Não houve duplicata de artigo entre as bases pesquisadas. Foram retirados estudos que não atendiam aos critérios.

TRIAGEM DE DADOS

Os artigos publicados recuperados foram selecionados para inclusão. Foram elegidos estudos para avaliação que se atenderam aos seguintes critérios de inclusão:

- Qualquer artigo de pesquisa publicado entre os anos de 1983 e 2021 que referia agrotóxicos e infertilidade feminina.
- Qualquer artigo de pesquisa que incluía modelos in vitro de toxicologia reprodutiva feminina mediante exposição à agrotóxicos.
- Os dados foram extraídos e registrados para área do estudo, citação, ano de publicação, espécie animal, o tipo de agroquímico, abordagem da exposição

Realização

Apoio

ao agroquímico, estrutura morfológica de exposição, parâmetros avaliados e efeitos acarretados.

Foram retirados da pesquisa todos os estudos que não condiziam com os critérios de exclusão. Os critérios de exclusão utilizados foram:

- a) Qualquer estudo que não seja artigo de pesquisa, como artigo de revisão, estudo de caso, capítulo de livro e validação metodológica.
- b) Qualquer estudo que inclui pesquisas realizadas em animais vivos, ou referente a infertilidade masculina.

Os artigos elegíveis foram recuperados em formato de texto completo e avaliados usando as definições de caso especificadas pelos respectivos estudos (Tabela 1).

ANÁLISE DE DADOS

Todos os dados extraídos das diferentes publicações foram classificados no Microsoft Excel® e analisados por estatística descritiva. Os resultados do estudo desses artigos foram classificados de acordo com os parâmetros analisados dispostos na Tabela 1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

AQUISIÇÃO DE DADOS

Na busca preliminar foram constatados 92 artigos como registros totais, destes 35 registros foram selecionados como artigo de pesquisa, no entanto, a aplicação dos critérios de exclusão e inclusão procedeu em 15 artigos que foram identificados como elegíveis para extração de dados e análise qualitativa. A maioria dos artigos selecionados (35) foram excluídos por se tratar de pesquisa de modelo in vivo ou por incluir estudos envolvendo animais do sexo masculino. Estes dados corroboram com os encontrados na literatura que destacam a prevalência de estudos sobre toxicologia reprodutiva relacionadas ao sistema reprodutor masculino (DE OLIVEIRA, 2014; QUEIROZ, 2006;

Realização

Apoio

PAPARELLA, 2017).

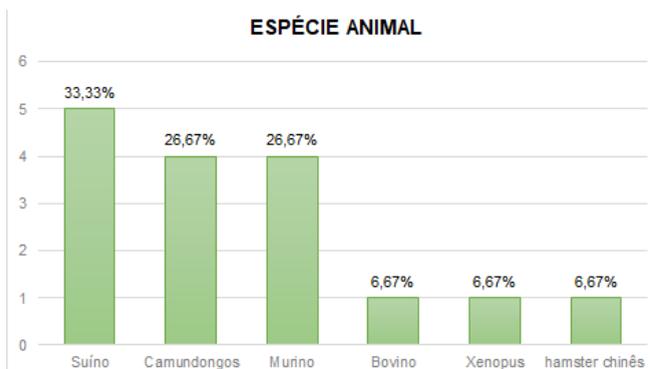
PAÍSES DE ESTUDO

Dentre os artigos selecionados, os EUA e Canadá foram os países com a maior parte dos estudos totalizando 40% (n=6) e 20% (n=3). Os demais países como China, Turquia, México, UK, Itália e Polônia apresentaram apenas 1 estudo cada um (6,67%).

ESPÉCIE ANIMAL

As espécies animais estudadas nos artigos foram em sua maioria suíno com 33,33% (5/16) seguida de camundongos e murinos com 26,67% (4/16) cada. Os demais modelos animais como bovinos, xenopus e hamster chinês tiveram apenas 1 artigo cada (Gráfico 1). Dentre os estudos realizados notamos que há uma preferência por utilizar como modelo gametas e embriões de animais de laboratório como os camundondos, murinos, xenopus e hamster chinês (68,75%; 11/16). Já os animais de produção como suínos e bovinos, são pouco empregados nos estudos (37,5%; 6/16).

É importante ressaltar que para utilizar os gametas e embriões de cobaias, se faz necessário o sacrifício do animal apenas para esta finalidade. No caso de animais de produção, os gametas são coletados de resíduos biológicos de abatedouro. Estes dados indicam há uma necessidade de viabilizar e fomentar modelos toxicológicos alternativos aos com animais vivos sendo essenciais estudos em modelos *in vitro* para testar a toxicidade reprodutiva feminina (SPIELMAN, 2009).



Realização

Apoio

Gráfico 1. Espécies animais analisadas nos artigos estudados.

AGROQUÍMICOS IDENTIFICADOS

Os estudos analisados identificaram 34 tipos de agrotóxicos do tipo pesticidas (Tabela 1), sendo Diclorodifenildicloroetileno (DDE) e Metoxicloro os mais presentes caracterizando 14,71% e 8,82%, respectivamente (Gráfico 2). Estes achados corroboram com o fato apresentado na literatura (BASAVARAJAPPA *et al.*, 2012; CAMPAGNA *et al.*, 2007; ZACHOW *et al.*, 2006) de que dentre os principais agrotóxicos administrados, revelam em sua maioria danos relevantes as estruturas analisadas. Todos estes estudos abordaram os efeitos dos agroquímicos em modelos *in vitro*.

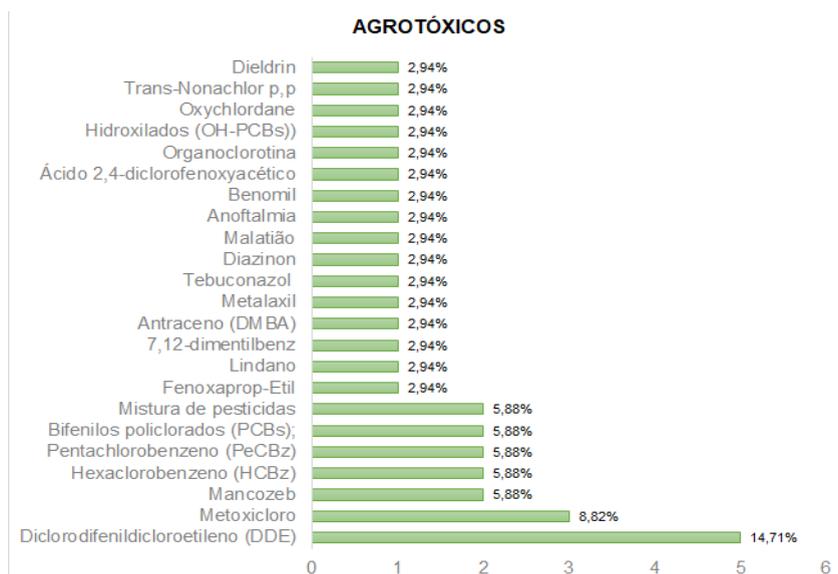


Gráfico 2. Agroquímicos identificados nos estudos toxicológicos *in vitro* analisados nos artigos.

PARÂMETROS AVALIADOS E ESTRUTURAS MORFOLÓGICAS DE EXPOSIÇÃO

A presente revisão de literatura indicou que a estrutura morfológica mais utilizada foram os oócitos com 33% dos estudos seguido de trabalhos com embriões com 26,67% (Gráfico 3). Estudos com estruturas mais complexas como folículo ovariano cultivado *in vitro*, obteve-se em 20% seguida de cultura de células foliculares (13,33%) e células

luteínica apenas em um artigo (6,67%).

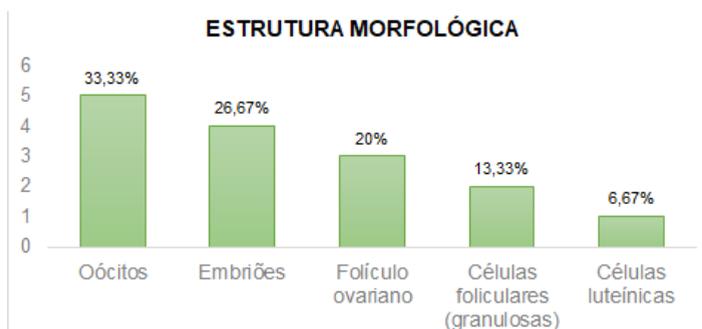


Gráfico 3. Estruturas morfológicas de exposição analisadas nos artigos.

PUBLICAÇÕES

Na Tabela 2 temos os locais onde os artigos estudados foram publicados, bem como o número de artigos encontrados em cada periódico de publicação, o fator de impacto de cada meio de publicação e sua qualificação Qualis/Capes. O fator de impacto das revistas onde os artigos foram publicados é alto, comprovando a importância dessa problemática para os periódicos. E, em relação a qualificação Qualis/Capes, os artigos classificados obtiveram os indicadores mais elevados (A1 e A2), que contemplam periódicos de excelência internacional e o indicador B1, que abrange os periódicos de excelência nacional. Alguns periódicos ainda não foram classificados pelo qualis, por não ter publicações cadastradas na CAPES por pesquisadores brasileiros.

Tabela 2. Periódicos de publicação, fator de impacto e Qualis/Capes dos artigos estudados.

Locais publicados	Números de artigos	Fator de impacto	Qualis/Capes		
			Medicina	Medicina Veterinária	Ciências Ambientais
<i>Reproductive Toxicology</i>	12	3.143	B1	A2	A1
<i>Toxicology</i>	1	4.221	A2	A1	A1

Realização

Apoio



<i>Environmental Toxicology and Pharmacology</i>	1	4.860	NC	NC	NC
<i>Cell Biology and Toxicology</i>	1	4.877	B1	NC	NC

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi encontrado um número reduzido de artigos que abordavam os efeitos de agroquímicos no sistema reprodutor feminino. Visto a escassez de trabalhos, destaca-se a importância de fomentar e incentivar estudos que investiguem estes aspectos para compreender o real efeito dos diferentes agroquímicos na fertilidade feminina e no embrião pré-implantacional. Estes estudos poderiam direcionar políticas públicas de promoção da saúde e minimizar os impactos negativos na saúde humana, especialmente no momento atual em que se enfrenta a pandemia de COVID-19.

Esta revisão sistemática revelou ainda, haver uma escassez na literatura ensaios in vitro que utilizem modelos alternativos aos animais vivos. Dentre os estudos verificou-se que há uma preferência pelo uso de gametas e embriões de animais de laboratório. Para a obtenção destas estruturas biológicas faz-se necessário o sacrifício do animal o que indica haver uma necessidade de viabilizar e fomentar modelos toxicológicos alternativos como os modelos com animais de produção oriundos de abatedouro.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação (ICETI/UNICESUMAR) pelo apoio financeiro na forma de bolsas de estudo.

REFERÊNCIAS

CHOWDHURY, R. *et al.* A review on antibiotics in an animal feed. **Bangladesh Journal of Animal Science**, v. 38, n. 1-2, p. 22-32, 2009.

Realização

Apoio



DE OLIVEIRA J, A. *et al.* Effects of exposure to glyphosate in male and female mice behavior in pubertal period. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 51, n. 3, p. 194-203, 2014.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. Estratégias para controle de mastites e melhoria da qualidade do leite. **Barueri: Manole**, v. 1, 2007

Food and Agricultural Organization of the United Nations. **Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods**. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/shroxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXM%2B2%252FMRL2e.pdf> (2018).

GARCIA, S. N.; OSBURN, B. I.; CULLOR, J. S. A one health perspective on dairy production and dairy food safety. **One Health**, [s.l.], v. 7, p.100086-00095, jun. 2019. Elsevier BV.

HASSAN, M. M. *et al.* Residual antimicrobial agents in food originating from animals. **Trends in Food Science & Technology**, 2021.

MARSHALL, B. M.; LEVY, S. B. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. **Clinical microbiology reviews**, v. 24, n. 4, p. 718-733, 2011.

NOVAES, S. F. *et al.* Residues of veterinary drugs in milk in Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 8, p. 1-7, 2017.

PAPARELLA, C. *et al.* Infertilidad masculina. Exposición laboral a factores ambientales y su efecto sobre la calidad seminal. **Revista Uruguaya de Medicina Interna**, v. 2, n. 2, p. 10-21, 2017.

POUPAUD, M. *et al.* Compreender a cadeia de suprimento de antibióticos veterinários para abordar a resistência antimicrobiana na RDP do Laos: Funções e interações das partes interessadas envolvidas. **Acta Tropica**, v. 220, p. 105943, 2021.

QUEIROZ, E. K. R.; WAISSMANN, W. Occupational exposure and effects on the male reproductive system. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 3, p. 485-493, 2006.

QUINTANILLA, P. *et al.* Enrofloxacin treatment on dairy goats: Presence of antibiotic in milk and impact of residue on technological process and characteristics of mature cheese. **Food Control**, v. 123, p. 107762, 2021.

SACHI, S. *et al.* Antibiotic residues in milk: Past, present, and future. **Journal of advanced veterinary and animal research**, v. 6, n. 3, p. 315, 2019.

SPIELMANN H. The way forward in reproductive/developmental toxicity testing. **Altern Lab Anim**. 2009;37(6):641-656. doi:10.1177/026119290903700609

Realização

Apoio