

## Intoxicação por organoclorados (endosulfan) em bovinos no Uruguai<sup>1</sup>

Rodolfo Rivero<sup>2\*</sup>, Carolina Matto<sup>2</sup>, Maria de Lourdes Adrien<sup>3</sup> e Osvaldo Rampoldi<sup>4</sup>

**ABSTRACT.-** Rivero R., Matto C., Adrien M.L. & Rampoldi O. 2011. [**Organochlorine (endosulfan) poisoning in cattle in Uruguay.**] Intoxicação por organoclorados (endosulfan) em bovinos no Uruguai. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31(4):277-280. Laboratorio Regional Noroeste "Dr. Miguel C. Rubino", Dirección de Laboratorios Veterinarios do Ministerio de Ganaderia, Agricultura y Pesca, CC.57037, Paysandú, CP.60.000, Uruguay. E-mail: [rrivero@mgap.gub.uy](mailto:rrivero@mgap.gub.uy)

An outbreak of organochlorine (endosulfan) poisoning in cattle registered in April 2009 on a farm for calf rearing is reported. Cattle showed neurological symptoms one day after an accidental discharge of a crop duster releasing 700 liter of pesticide with a water-based solution of endosulfan and cypermethrin had occurred. The morbidity was 7.7% and the mortality 6.0%. The symptoms in the cattle were sialorrhea, ataxia, hypersensitivity, muscle twitching, pedaling, teeth grinding, excitability, convulsions, recumbency and death. At necropsy of the animals and histopathological examination non significant lesions were found. There was also a significant mortality of fish in the gorge of the affected paddock. Through gas chromatography the presence of endosulfan and/or its metabolite above references levels was identified in samples of fat, liver and rumen contents of affected animals, as well as in fish and water collected, what confirmed the organochlorine poisoning.

INDEX TERMS: Pesticide, endosulfan, cattle, organochlorine poisoning.

**RESUMO.-** Descreve-se um surto de intoxicação por organoclorados (Endosulfan) em bovinos ocorrido em abril de 2009, em uma propriedade de recria de bezerros localizada no departamento de Paisandú, Uruguai. O quadro clínico foi observado um dia depois de haver ocorrido na propriedade, uma descarga accidental de 700 litros de um pesticida formulado em solução a base de água mais endosulfan e cipermetrina por dano em um avião pulverizador. A morbidade foi de 7,7% e mortalidade de 6,0%. Os sinais clínicos se caracterizaram por salivação, ataxia, hipersensibilidade, tremores musculares, movimentos de pedagem, ranger de dentes, excitação, convulsão, decúbito e

morte. Na necropsia dos animais e ao exame histopatológico não se observaram lesões. Na mesma propriedade foi observada, também, mortalidade de peixes em um arroio próximo ao local onde o pesticida foi derramado. Amostras de gordura, fígado e conteúdo ruminal de bovinos mortos e de peixes foram analisadas pela técnica de cromatografia gasosa sendo detectada a presença de endosulfan e/ou seus metabólitos em quantidades de 0,16-3,7mg/kg, superiores aos níveis de referência aceitáveis de 0,05-0,2mg/kg, confirmando-se a ocorrência da intoxicação por este organoclorado.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Pesticidas, endosulfan, intoxicação por organoclorados, bovinos.

### INTRODUÇÃO

O crescimento da agricultura no Uruguai nestes últimos anos se explica, sobretudo, pelo aumento da área de cultivo de soja (*Glycine max*) (DIEA 2008), incrementando-se o uso de produtos químicos como fertilizantes, herbicidas ou pesticidas. Dentre os praguicidas utilizados, se encontra o endosulfan, um ciclodieno da família dos organoclorados. No Uruguai o endosulfan é o único organoclorado permitido como fitossanitário em cultivos. O uso dos orga-

<sup>1</sup> Recebido em 8 de setembro de 2010.

Aceito para publicação em 20 de outubro de 2010.

<sup>2</sup> Laboratorio Regional Noroeste "Miguel C. Rubino", Dirección de Laboratorios Veterinarios del Ministerio de Agricultura y Pesca de Uruguay, CC.57037, Paysandú, CP.60.000, Uruguay. \*Autor para correspondência: [rrivero@mgap.gub.uy](mailto:rrivero@mgap.gub.uy)

<sup>3</sup> Departamento de Salud en los Sistemas Pecuarios, Facultad de Veterinaria, Universidad de la Republica de Uruguay, Ruta 3 Km 363, Paysandú, CP.60.000, Uruguay.

<sup>4</sup> Laboratorio Central "Miguel C. Rubino", Dirección de Laboratorios Veterinarios del Ministerio de Agricultura y Pesca de Uruguay, Ruta 8 Km 17.500, Montevideo, CP.12.100, Uruguay.

noclorados para animais no Uruguai está proibido desde 1977 (MAP 1977).

O endosulfan é uma mescla de dois isômeros biologicamente ativos, alfa ( $\alpha$ ) e beta ( $\beta$ ). As proporções em que se encontram estes isômeros no produto final são 70%  $\alpha$  isômeros e 30%  $\beta$  isômeros. Em pH 7  $\alpha$ -endosulfan e  $\beta$ -endosulfan tem uma vida média de 11-19 dias respectivamente; em pH 9 os isômeros têm uma vida média de 4-6 horas. Em solos ácidos e neutros a permanência destes isômeros é de um a dois meses para  $\alpha$ -endosulfan e de três a nove meses para  $\beta$ -endosulfan em condições aeróbicas (EPA 2002).

O endosulfan é uma inseticida classe II, de moderada toxicidade por via oral ou por contato com a pele (WHO 2004). Os organoclorados no passado foram detectados no leite de vacas tratadas e gordura de suínos (Joly 1967) o que determinou a proibição do uso destes pesticidas nos animais de produção.

Em humanos os organoclorados ingressam no organismo por via oral, pela pele íntegra e por inalação e se deposita na gordura (Goulding 1967). Este composto tem sido detectado em águas destinadas ao consumo humano (Dalvie et al. 2003). Tem sido também, detectado em peixes para consumo no Lago Victoria em Uganda, porém em baixas concentrações (Kasozi et al. 2006).

Organoclorados provocam intoxicação em bovinos, ovinos, sendo a via oral a mais importante (Frank et al. 1991). Os organoclorados em intoxicações agudas provocam descargas repetitivas dos neurônios motores e sensitivos interferindo na condução axonal dos impulsos nervosos, provocando hiperexcitabilidade, ataxia, tremores musculares e convulsão. Como se acumula na gordura corporal pode se determinar no cadáver. É excretado no leite, com uma maior concentração do pesticida na fração gordurosa do mesmo. Em exposições crônicas provoca crescimento retardado, imunossupressão e problemas reprodutivos (Radostits et al. 2002).

O endosulfan é, também, altamente tóxico tanto para peixes como para invertebrados que vivem em meios aquáticos, além disso tem um alto potencial de bio-acumulação em peixes. Níveis de 0,0001 a 0,166mg/kg de endosulfan provocam toxicidade aguda em organismos aquáticos (EPA 2002).

O limite máximo de resíduos para endosulfan e seu metabolito (endosulfan sulfato) admitido em bovinos para consumo de acordo com o Codex Alimentarius (2009) em gordura é de 0,2mg/kg. A União Européia estabelece como máximo de endosulfan e endosulfan sulfato em gordura 0,05mg/kg (EPA 2002) e em água doce 0,22 $\mu$ g/L (EPA 1980).

O objetivo do presente trabalho foi descrever um surto de intoxicação por organoclorados (endosulfan) em bovinos no Uruguai.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os dados epidemiológicos, sinais clínicos e coleta de amostras para análise foram obtidos durante visita ao estabelecimento por técnicos do Laboratório Regional Noroeste da Dire-

ção de Laboratórios Veterinários do Ministério de Ganaderia, Agricultura e Pesca de Uruguai (DILAVE). Foram coletadas amostras de água de um arroio e peixes mortos. Foram necropsiados cinco bezerros e uma vaca, coletando-se material para histopatologia e determinação de metabolitos tóxicos de pesticidas.

Amostras para histopatologia foram analisadas no Laboratório Regional Noroeste da DILAVE. Os tecidos extraídos foram fixados em formol a 10%, embebidos em parafina, cortados em secções de 5 $\mu$ m de espessura e corados com Hematoxilina-Eosina (HE).

Amostras de água coletadas em diferentes pontos do arroio, peixes mortos e vísceras dos animais submetidos à necropsia (fígado, conteúdo ruminal e gordura corporal) foram analisados no Departamento de Resíduos Biológicos do Laboratório Central da DILAVE para determinar presença de endosulfan ou seu metabolito (endosulfan sulfato) e cipermetrina. Estas amostras foram processadas mediante extração-purificação e análise cromatográfica de acordo a metodologia utilizada no Departamento de Resíduos Biológicos da DILAVE, usando-se como referência a técnica "SOP CLG-HEC 1.00" para resíduos químicos (USDA 1991), com um Cromatógrafo de Gases Shimadzu GC-17A.

## RESULTADOS

### Epidemiologia

A propriedade de 186 hectares onde ocorreu o surto era dividida em oito áreas de campo nativo com arroios e bosques de Eucalipto. Em uma das áreas havia uma pista de pouso para aviões de pequeno porte, contígua às instalações para o manejo dos animais.

Na propriedade havia 840 bezerros de diferentes raças, com idade de 6-7 meses, para recria, e três vacas mestiças, um touro Aberdeen Angus e quatro equinos. Alimentação dos bezerros consistia em campo nativo sendo suplementados com bagaço de girassol e sorgo picado. Todos os bezerros haviam recebido Ivermectina a 3,15%, 20 dias antes do surto.

A intoxicação ocorreu um dia após um avião de pulverização agrícola ter perdido por acidente parte da carga de pesticida preparada em base a uma solução de água mais 12% de endosulfan, 1% de cipermetrina e 10% de óleo de lecitina, para pulverizar 70 ha de um cultivo de soja a uma dose de 10 litros/ha. A carga foi derramada sobre as áreas contíguas à pista de pouso e sobre o arroio que ficava próximo. Foram colocados na pista, após o acidente, 5000 litros de água para diluir o produto. Os bezerros que se encontravam encerrados desde a manhã, foram liberados ao potreiro onde funcionava a pista na tarde do dia do acidente. No dia seguinte foram encontrados 10 animais mortos e 26 doentes com sinais clínicos caracterizados por debilidade dos membros, salivação, ataxia, tremores musculares, hipersensibilidade, excitação e movimentos de mastigação ou ranger de dentes. Posteriormente, ficavam em decúbito lateral com convulsões tônico-clônicas e movimentos de pedalagem, ocorrendo morte entre 1 hora e oito dias após o contato com o organoclorado.

No total morreram 49 bezerros e duas vacas sendo a morbidade e a mortalidade de 7,7% e 6,0%, respectivamente.

No arroio de um dos poteiros afetados houve alta mortalidade de peixes.

### Patologia

Na necropsia de seis bovinos foi observado presença de gás no rúmen e congestão pulmonar. Histologicamente havia congestão e edema pulmonar em todos os casos; havia, também, moderada vacuolização dos hepatócitos e degeneração e necrose tubular renal em dois dos bezerros examinados. No sistema nervoso central havia congestão e edema perivascular moderado.

### Toxicologia

Nos Quadros 1 e 2 são apresentados os níveis de endosulfan e endosulfan sulfato encontrados nas diferentes amostras analisadas.

**Quadro 1. Concentração de endosulfan e endosulfan sulfato (metabolito) nas amostras de animais mortos no surto de intoxicação por endosulfan\***

Animal-Identificação	Tipo de amostra	Endosulfan (mg/kg)	Endosulfan sulfato (mg/kg)
Vaca	Gordura	0,16	2,1
Vaca	Fígado	-	0,26
Bezerro 3690	Gordura	-	1,2
Bezerro 3690	Fígado	-	0,34
Bezerro 6433	Fígado	-	0,64
Bezerro 6433	Gordura	0,36	3,7
Bezerro 0663	Gordura	-	1,4
Bezerro 0663	Fígado	-	0,81
Bezerro 0663	Conteúdo ruminal	8,7	-
Bezerro 6472	Fígado	-	0,94
Peixes arroio	Peixes mortos	0,33	-

\* Limite máximo de endosulfan e endosulfan sulfato aceitado em bovinos em gordura: 0,05mg/kg (EPA 2002); 0,2mg/kg (Codex Alimentarius 2009).

**Quadro 2. concentração de endosulfan e endosulfan sulfato (metabolito) nas amostras de água do arroio contaminado por endosulfan\***

Amostra	Tipo de amostra	Endosulfan (µg/L)	Endosulfan sulfato (µg/L)
Água arroio 09/04 (curso médio)	Água	2,1	0,4
Água arroio 09/04 (curso baixo)	Água	3,5	0,7
Água arroio 10/04	Água	1,0	0,1

\* Limite máximo de endosulfan e endosulfan sulfato aceitado em água doce: 0,22µg/L (EPA 1980).

## DISCUSSÃO

Com base nos dados epidemiológicos, sinais clínicos observados e presença de endosulfan e seu metabolito em concentrações elevadas nas amostras de órgãos dos bovinos, na água e nos peixes, foi realizado o diagnóstico de intoxicação por endosulfan.

A concentração de endosulfan encontrada nos peixes era elevada (0,33mg/kg) e explica a alta mortalidade de-

les, já que valores de 0,0001 a 0,166mg/kg são suficientes para provocar intoxicação aguda (EPA 2002).

A maior quantidade de endosulfan foi encontrada no conteúdo ruminal de um bovino (8,7mg/kg de material analisado), o que sugere a intoxicação por via oral. Esta é a via mais frequente de intoxicação em bovinos e ovinos (Frank et al. 1991). Na gordura e no fígado foram detectadas concentrações entre 0,16-0,36mg/kg e 0,26-0,94mg/kg de material analisado respectivamente do metabolito endosulfan sulfato, provavelmente em ração desse metabolito ter tendência a se acumular nestes tecidos (Radostits et al. 2002, Mor & Ozmen 2003).

Um aspecto importante para a ocorrência de intoxicação é o fato de que os aviões pulverizam pequenas gotas de inseticida com baixo volume e por tanto alta concentração do pesticida (Thornhill & Matthews 1996). No presente caso a dose de endosulfan utilizada em solução a 12%, era seis vezes maior do que a concentração utilizada em máquinas de pulverização terrestre, determinando maior disponibilidade do produto para os bovinos. Outro fato relevante é que os bezerros foram soltos na área contaminada após um período de sete horas encerrados numa mangueira sem acesso a água e alimentos, o que provocou condições de sede e fome que levaram os animais a maior avidez por consumo da pastagem e água. Outro fator determinante na intoxicação foi alta carga animal (26 animais/ha) no potreiro onde estava a pista de aterrissagem o que favoreceu, também, o consumo da pastagem contaminada.

Os sinais clínicos foram observados 24 horas após a introdução dos animais na área contaminada e o quadro clínico era predominantemente neurológico, o que está relacionado à intoxicação aguda por estas substâncias (Radostits et al. 2002, Riet-Correa 2007). O bloqueio do canal do receptor cloreto de GABA por ciclodienos reduz a inibição neuronal, o que leva à hiperexcitabilidade, convulsões e morte (Bloomquist 1993).

As intoxicações por organoclorados são raras em animais domésticos no Brasil (Riet-Correa 2007), provavelmente devido à restrição ao uso destes produtos tanto em animais como na agricultura. São relatados casos de intoxicação por organoclorados em equinos, consequência de ação intencional (Nazario et al. 1972) ou acidental por contaminação do alimento (Nazario & Capellaro 1980) e em bovinos (Mor & Ozmen 2003). Em búfalos é mencionada a intoxicação por organofosforados (Grecco et al. 2009) depois de tratamentos contra ectoparasitos.

A ausência de lesões histopatológicas inflamatórias e/ou degenerativas específicas no sistema nervoso central, associadas à epidemiologia, aos sinais clínicos observados e às análises toxicológicas permitiram descartar outras doenças com sinais neurológicos predominantes como intoxicação por chumbo (Pb), raiva paralítica, polioencefalomalacia, ou meningoencefalite por herpesvirus bovino tipo 5 (BoHV-5) (Radostits et al. 2002, Riet-Correa 2007).

Não há tratamento para reduzir a contaminação dos tecidos por organoclorados. O decréscimo da concentração nos tecidos ocorre em um período de tempo que varia

de 3 a 6 meses, dependendo do organoclorado implicado (Radostits et al. 2002). O endosulfan é um produto de rápida metabolização no organismo animal, chegando a níveis praticamente não detectáveis em 30 dias após a contaminação (Codex Alimentarius 2009). Mas, por outro lado, endosulfan e endosulfan sulfato são persistentes no ambiente e têm um alto potencial de bio-acumulação em organismos aquáticos (EPA 2010).

No presente trabalho a intoxicação aguda por organoclorados em bovinos ocorreu como um fato accidental, já que seu uso está proibido em animais. Houve associação com atividade agrícola de crescente desenvolvimento no Uruguai chamando-se atenção para a possível ocorrência de outros casos onde coexistam atividades pecuárias e agrícolas.

## REFERÊNCIAS

- Bloomquist J.R. 1993. Toxicology, mode of action and target site-mediated resistance to insecticides acting on chloride channels. *Comp. Biochem. Physiol.* 106(2):301-314.
- Codex Alimentarius 2009. Joint Meeting of Pesticides Residues. Monographs and Evaluations. Nº 0.88 Endosulfan (FAO/PL: 1967/M/11/1). <[http://www.codexalimentarius.net/web/jmpr\\_es.jsp](http://www.codexalimentarius.net/web/jmpr_es.jsp)>
- Dalvie M.A., Cairncross E., Solomon A. & London L. 2003. Contamination of rural surface and ground water by endosulfan in farming areas of the Western Cape, South Africa. *Environ. Health, A Global Access Science Source*, 2:1.
- DIEA 2008. Anuario Estadístico. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca de Uruguay. <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxp001.aspx?7,5,41,O,S,0,MNU;E;27;1;MNU>.
- EPA 1980. Ambient water quality criteria for endosulfan. United States Environmental Protection Agency. EPA 440/5-80-046. 154p.
- EPA 2002. United States Environmental Protection Agency. EU-MRLs Regulation EC 396/2005: regulation (EC) Nº 396/2005 of the European Parliament and of the Council. Official Journal of the European Union, p.L70/1-L7016.
- EPA 2010. Endosulfan: Environmental fate and ecological risk assessment. United States Environmental Protection Agency. EPA-HQ-OPP-2002-0262-0162, p.1-11.
- Frank R., Braun H.E., Wilkie I. & Ewing R. 1991. A review of insecticide poisonings among domestic livestock in southern Ontario, Canada, 1982-1989. *Can. Vet. J.* 32:219-226.
- Goulding R. 1967. Human exposure to organochlorine pesticides. *Proc. R. Soc. Med.* 60:26-27.
- Grecco F.B., Schild A.L., Soares M.P., Raffi M.B., Sallis E.S.V. & Damé M.C. 2009. Intoxicação por organofosforados em búfalos (*Bubalus bubalis*) no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 29(3):211-214.
- Joly D.W. 1967. Organochlorine pesticides and farm livestock. *Proc. R. Soc. Med.* 60:24-26.
- Kasozzi G.N., Kiremire B.T., Bugenyi F.W.B., Kirsch N.H. & Nkedi-Kizza P. 2006. Organochlorine residues in fish and water samples from Lake Victoria, Uganda. *J. Environ. Qual.* 35:584-589.
- MAP 1977. Resolución del Ministerio de Agricultura y Pesca del 12 de enero de 1977: Prohibición de importación, fabricación y formulación de plaguicidas a base de hexaclorociclohexano para ser utilizados en sanidad animal y vegetal. <[http://www.mgap.gub.uy/dgssaa/Normativa/Archivos/PROD\\_FIT\\_RES\\_DGSA/Res%20MAP%2012-1-77%20HexaclorCicloHexano.pdf](http://www.mgap.gub.uy/dgssaa/Normativa/Archivos/PROD_FIT_RES_DGSA/Res%20MAP%2012-1-77%20HexaclorCicloHexano.pdf)>
- Mor F. & Ozmen O. 2003. Acute endosulfan poisoning in cattle. *Vet. Hum. Toxicol.* 45(6):323-324.
- Narahashi T. 1996. Neuronal ion channels as the target sites of insecticides. *Pharmacol. Toxicol.* 79(1):1-14.
- Nazario W. & Capellaro C.E.M. 1980. Intoxicação em eqüinos por canfeclor (canfeno clorado). *Biológico, São Paulo*, 46:191-204.
- Nazario W., Macruz R., Portugal M.A.S.C. & Luz I.C. 1972. Envenenamento intencional em pôneis pelo aldrin (inseticida clorado). *Atualidades Veterinárias, São Paulo*, 1:22-28.
- Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C. & Hinchcliff K.W. 2002. *Medicina Veterinária*. Vol 2. 9ª ed. McGraw-Hill-Interamericana. 2215p.
- Riet-Correa F. 2007. Intoxicação por organoclorados, p.78-80. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), *Doenças de Ruminantes e Eqüídeos*. Vol.2. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria. 1416p.
- Thornhill E.W. & Matthews G.A. 1996. Equipo de Aplicación de Pesticide para Uso en Agricultura: Equipo impulsado mecanicamente. Vol.2. Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO 111/2. 150p.
- USDA 1991. Analytical Chemistry Laboratory Guidebook: Residue chemistry. USDA Food Safety and Inspection Service, Washington, DC. Secs. CBM, p.1-58.
- WHO 2004. World Health Organization: The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification. 60p.