

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ASPECTOS CLINICOPATOLÓGICOS DA INTOXICAÇÃO POR ARSÊNIO
ORGÂNICO EM BOVINOS

MAIARA ALINE GONÇALVES

PORTO ALEGRE
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ASPECTOS CLINICOPATOLÓGICOS DA INTOXICAÇÃO POR ARSÊNIO
ORGÂNICO EM BOVINOS

MAIARA ALINE GONÇALVES

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de concentração em Medicina Veterinária Preventiva e Patologia Animal, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: David Driemeier

PORTO ALEGRE
2015

CIP - Catalogação na Publicação

Gonçalves, Maiara Aline
Aspectos clinicopatológicos da intoxicação por
arsênio orgânico em bovinos / Maiara Aline Gonçalves. -
- 2015.
68 f.

Orientador: David Driemeier.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,
Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Organoarsênio. 2. Intoxicação por herbicida. 3.
Necrose vascular. 4. Toxicidade. 5. Bovino. I.
Driemeier, David, orient. II. Título.

MAIARA ALINE GONÇALVES

**ASPECTOS CLINICOPATOLÓGICOS DA INTOXICAÇÃO POR ARSÊNIO
ORGÂNICO EM BOVINOS**

Aprovada em 15 de dezembro de 2015.

APROVADO POR:

Prof. Dr. David Driemeier

Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Claudio Severo Lombardo de Barros (Professor Visitante na Universidade
Federal de Mato Grosso do Sul, Bolsista FUNDECT/CAPES)

Membro da Comissão

Prof. Dr. Bruno Leite dos Anjos (Unipampa, Uruguaiana - RS)

Membro da Comissão

Prof. Dr^a. Luciana Sonne (UFRGS, Porto Alegre - RS)

Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Ao meu Senhor e meu Deus, sem o qual meus passos não teriam sido os mesmos, que me conduz e cuida dos meus, em todo o tempo. Agradeço como o salmista que disse “Grandes coisas fez o Senhor por nós, pelas quais estamos alegres (Sl, 126:3)”.

Agradeço a minha família que suporta a saudade nesse período de jornada acadêmica. Aos meus pais, Vera e Paulo, meus avós Enedi, Laurinda, Valdemar e Leonilda, meu irmão Matheus Gabriel e minha cunhada Raquel, obrigada pela compreensão e carinho.

Ao meu noivo, amigo e em breve esposo, Roney dos Santos Ramos, que acompanhou minha trajetória do início ao fim nesses últimos sete anos, pelo seu incentivo, seu exemplo e sua admiração.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Setor de Patologia Veterinária, que abre portas para as demais instituições, contribuindo de forma expressiva para o ensino e pesquisa em patologia veterinária no Brasil, gerando conhecimento aliado à extensão, prática de substancial importância aos discentes da área.

Ao prof. David Driemeier por seus ricos ensinamentos e exemplo de caráter profissional e pessoal. Por sua confiança e seu incentivo neste período. Também aos professores Luciana Sonne e Saulo Pavarini. Do mesmo modo, estendo os agradecimentos ao prof. Bruno Leite dos Anjos que inquestionavelmente influenciou minha trajetória na área de patologia veterinária até aqui.

Aos colegas que tive o agradável prazer de conhecer e conviver, à Vê e à Márcia, minhas companheiras imbatíveis de plantão; Raquel, Dani, Luiz, Fabi, Welden, Paulinha, Marina, Cíntia, Claudio, Carol, e a todos os demais que de alguma forma deixaram sua parcela de contribuição em minha vida profissional e pessoal.

Aos meus amigos e irmãos do grupo “Dinâmicos da Fé”, especialmente Marlei e Valter, que me acolheram de forma incomparável ao longo desses dois anos, e passaram a ser parte da minha nova família em Porto Alegre. Obrigado por seus ensinamentos de valor na obra do Senhor Jesus, que permanecerão comigo no restante da jornada. Assim como, aos demais membros dessa família abençoada...à tia Ana, à Cris, à d. Conceição (carinhosamente “Neusa”) e à Jaque, por me receberem de forma tão alegre e fraternal em suas casas, por seu carinho, sua atenção e por me integrarem em suas famílias.

RESUMO

ASPECTOS CLINICOPATOLÓGICOS DA INTOXICAÇÃO POR ARSÊNIO ORGÂNICO EM BOVINOS

O arsênio é um metaloide encontrado nas formas orgânica e inorgânica em estado de oxidação trivalente ou pentavalente. Na medicina veterinária a intoxicação por arsênio foi associada, no passado, ao contato acidental com pesticidas e ao uso indevido de medicamentos à base de arsênio inorgânico. Atualmente a intoxicação em bovinos tem sido relatada devido à exposição prolongada a ambientes contaminados. No Brasil, devido à proibição do uso de arsênio inorgânico na formulação de pesticidas, herbicidas a base de metanoarseniato ácido monossódico (MSMA), um arsenical orgânico pentavalente, considerado menos tóxico, têm sido utilizados em plantas infestantes em pós-emergência em culturas de algodão, café, cana-de-açúcar e citros. Em maio de 2014, em uma fazenda no município de Barra do Ribeiro, RS, foi realizada aplicação via aérea de um herbicida formulado com MSMA. Cerca de 200 vacas de corte e terneiros estavam sobre o local e apresentaram diarreia acentuada e severa desidratação após ingerir o pasto contaminado. Dezesesseis animais morreram em até 20 dias, sendo seis submetidos ao exame de necropsia. As principais alterações macroscópicas consistiram de avermelhamento difuso da mucosa dos pré-estômagos, abomaso, e intestino, múltiplas úlceras e desprendimento multifocal da mucosa de pré-estômagos com acentuado edema de submucosa e hemorragia multifocal nas serosas. Microscopicamente, as principais alterações foram caracterizadas por necrose isquêmica multifocal associada à necrose fibrinoide de vasos e trombose na mucosa e submucosa. Com exceção de um bovino, os níveis de arsênio detectados estavam acima do limite de referência para a espécie, de 0,5 µg/g ou ppm. O exame anatomopatológico dos bovinos demonstrou que o MSMA promove lesões na mucosa de pré-estômagos por meio de necrose fibrinoide da parede de arteríolas e capilares. Apesar de ser classificado como pentavalente, durante sua metabolização, o MSMA pode gerar metabólitos intermediários trivalentes, que poderiam ter contribuído supostamente com as lesões observadas neste surto. As lesões observadas são similares às alterações promovidas pela forma inorgânica trivalente do arsênio em bovinos. A utilização de herbicidas que contém MSMA deve ser cautelosa, evitando-se o contato de animais em pastagens recém-pulverizadas.

Palavras-chave: organoarsênio, intoxicação por herbicida, necrose vascular, toxicidade, bovino.

ABSTRACT

CLINICO-PATHOLOGICAL ASPECTS OF ORGANIC ARSENIC POISONING IN CATTLE

Arsenic is a metalloid found in organic and inorganic forms in a state of trivalent or pentavalent oxidation. In veterinary medicine arsenic poisoning has been associated in the past to accidental contact with pesticides and misuse of medicinal products containing inorganic arsenic. Currently subclinical poisoning in cattle has been reported due to prolonged exposure to contaminated environments. In Brazil, due to the ban of inorganic arsenic in pesticide formulation, herbicides methane arsenate monosodium acid (MSMA), an organic arsenical pentavalent, considered less toxic, has been used against weeds in post-emergent cotton, coffee, sugarcane and citrus. In May 2014, on a farm in the municipality of Barra do Ribeiro, Rio Grande do Sul, Brazil, air application was made on a Tifton cultivated paddock with a MSMA formulated herbicide. About 200 beef cows and calves were on the paddock and showed severe diarrhea and severe dehydration after consuming contaminated pasture. Sixteen animals died in 20 days, six of which were necropsied. The main gross lesions consisted of diffuse reddening of the mucosa of the fore stomachs, abomasum and intestines; multiple ulcers and multifocal detachment of the mucosa with severe edema of submucosa and multifocal hemorrhage in the serous membranes. Microscopically the main changes were characterized by multifocal ischemic necrosis associated with fibrinoid necrosis of vessels and thrombosis in the mucosa and submucosa. Except in one bovine, the levels of organic arsenic detected were above the reference level for the species (0,5 µg/g or ppm). The pathology found in the affected cattle showed that MSMA causes injuries in the mucosal pre-stomachs through fibrinoid necrosis the walls of arterioles and capillaries. Although it is classified as pentavalent, during their metabolism the MSMA can generate trivalent intermediate metabolites, supposedly responsible for the injuries observed in this outbreak. The lesions found in the outbreak of this report are similar to those caused in cattle by inorganic trivalent form of arsenic. Herbicides containing MSMA must be used with caution, avoiding the contact of the animals with freshly sprayed pasture.

Keywords: Organoarsenic, herbicide poisoning, vascular necrosis, toxicity, bovine.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Fórmula estrutural do metanoarseniato ácido monossódico. Fonte: BRASIL (2015).20
- Figura 2 - Formas de apresentação da toxicose por arsênio inorgânico (1) e orgânico (2) de acordo com o tipo de exposição, em humanos (A) e animais (B). Fonte: ATSDR, 2007. 23
- Figura 3 - Etapas da biotransformação do arsênio na intoxicação em humanos. Fonte: ATSDR, 2007. 25
- Figura 4 - Capim-annoni severamente dessecado, transcorridos 10 dias da primeira aplicação de MSMA sobre a pastagem..... 36
- Figura 5 - Bovino. A. Rúmen. Observam-se úlceras multifocais a coalescentes, com área central deprimida, bem demarcadas por margem avermelhada na mucosa e recobertas por material amarelado (fibrina). Há ainda extensas áreas de desprendimento do epitélio da mucosa. B. Edema difuso da submucosa do rúmen. C. Omaso. Observam-se áreas multifocais de avermelhamento nas lâminas omasais. D. avermelhamento difuso da mucosa do abomaso..... 36
- Figura 6 - Bovino. A. Rúmen. Aspecto submacroscópico. Nota-se infarto isquêmico multifocal estendendo-se da mucosa até a camada muscular externa do órgão. HE. B. Rúmen. Há área focal bem demarcada de necrose isquêmica abrangendo mucosa e submucosa do órgão. No centro da lesão há abundante quantidade de debris necróticos e deposição de fibrina. HE, 4x.. 38
- Figura 7 - Bovino. **A.** Rúmen. Na submucosa observa-se vasculite e necrose fibrinoide de arteríolas associada a foco de necrose e infiltrado inflamatório discreto a moderado de neutrófilos, macrófagos e plasmócitos. Há ainda acentuado edema na submucosa. No detalhe (canto inferior direito), evidencia-se moderado infiltrado de neutrófilos degenerados na parede dos vasos e moderada necrose fibrinoide. HE, 4x. **B.** Rúmen. Desprendimento epitelial focalmente extenso com formação de pústula preenchida por neutrófilos, além de leve vacuolização do epitélio estratificado e infiltrado neutrofilico moderado na lâmina própria. HE, 20x. **C.** Omaso. Área focalmente extensa de necrose isquêmica na lâmina omasal, abrangendo significativamente o epitélio de revestimento da mucosa, estendendo-se à submucosa, muscular da mucosa e muscular externa. HE, 4x. **D.** Omaso. A fotomicrografia anterior está ampliada e visualiza-se alguns vasos na submucosa com necrose fibrinoide da parede e trombose (setas). O tecido epitelial, conjuntivo e muscular estão substituídos por debris necróticos e deposição de fibrina. HE, 10x. **E.** Retículo. Vaso com marcada necrose fibrinoide da parede, com perda da estrutura (setas). Observa-se acentuado infiltrado inflamatório composto por neutrófilos íntegros e degenerados, no espaço perivascular e na parede vascular. No lúmen há moderado agregado de fibrina, debris celulares e leucócitos. HE, 40x. **F.** Vaso com necrose fibrinoide da parede, com depósito hialino evidenciado pela coloração de ácido periódico de Schiff (PAS), e acúmulo de material fibrilar e detritos necróticos em seu lúmen (trombo). PAS, 40x..... 39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Intoxicações por arsenicais orgânicos e inorgânicos em animais domésticos no período de 1941 à 2013.....	21
Tabela 2. Variação de níveis teciduais de arsênio em bovinos intoxicados considerados acima do limite de referência para a espécie.	24
Tabela 3. Quantificação de arsênio total nas amostras de tecido e urina de bovinos necropsiados e da pastagem em três períodos de tempo distintos.	40

LISTA DE ABREVIATURAS

As – arsênio

ATSDR - Agência de Substância Tóxica e Registro de Doenças

MSMA – Metano Arseniato Ácido Monossódico

DDT – diclorodifeniltricloroetano

DSMA – metilarsonato ácido dissódico

EPA – Agência de Proteção do Meio Ambiente

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

As^{III} – arsênio trivalente

As^V – arsênio pentavalente

MMA^{III} – ácido metilarsenoso

DMA^{III} – ácido dimetilarsenoso

MMA^V – ácido monometilarsônico

DMA^V – ácido dimetilarsínico

ATP – Trifosfato de adenosina

ATC – Ácido Tricarboxílico

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

ROS – Espécies Reativas de Oxigênio

DMSA – Ácido meso-2,3- dimercato succínico

BAL – *British Anti-Levis*

HE – Hematoxilina e Eosina

PAS – Ácido Periódico de Shiff

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Intoxicações por metais pesados e pesticidas em animais de produção.....	12
2.2 Contexto histórico	15
2.3 Arsênio: caracterização química	17
2.4 Intoxicação por arsênio em bovinos.....	18
2.5 Toxicocinética e toxicodinâmica	22
2.6 Formas de apresentação da doença e sinais clínicos.....	27
2.7 Achados de necropsia e lesões microscópicas	29
2.8 Diagnóstico da intoxicação e diagnósticos diferenciais.....	31
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1 Dados epidemiológicos e clinicopatológicos.....	33
3.2 Análise toxicológica.....	34
4. RESULTADOS	34
4.1 Epidemiologia e avaliação clinicopatológica.....	34
4.2 Avaliação toxicológica	38
5. DISCUSSÃO.....	40
6. CONCLUSÕES.....	46
REFERÊNCIAS.....	47
APÊNDICE A.....	55

1. INTRODUÇÃO

O arsênio (As) é um metaloide ou semimetal encontrado nas formas orgânica e inorgânica em estado de oxidação trivalente ou pentavalente. Está classificado em primeira posição, seguido do chumbo e mercúrio, no ranking da Priority List of Hazardous Substances (lista prioritária de substâncias perigosas) da Agency for Toxic Substances and Disease Registry, um órgão federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA (ATSDR, 2007). A intoxicação por esse elemento é descrita com maior frequência em humanos cronicamente expostos a alguma fonte que contenha arsênio, geralmente de forma laboral ou por ingestão de altos níveis de arsênio na água. A toxicose está relacionada com a manifestação clínica de lesões cutâneas, decorrentes de um distúrbio vascular periférico que culmina em gangrena das extremidades, sendo por isso conhecida como *blackfoot disease* ou “doença do pé preto” (YU et al. 2002).

Na medicina veterinária a intoxicação por arsênio foi descrita com maior frequência até a década de 1990, devido à ampla utilização de compostos carrapaticidas, praguicidas e herbicidas a base de arsênio inorgânico, (DÖBEREINER et al., 1967; SELBY et al., 1977; HOFF et al., 1998; OSWEILER, 1998). Atualmente, em alguns países com altos níveis de arsênio inorgânico na água e no solo, a intoxicação subclínica em bovinos tem sido associada à exposição em longo prazo e pode resultar em perda significativa de índices zootécnicos e, principalmente, acumular-se no organismo de animais, e potencialmente, no leite e produtos derivados (HUEZA et al., 2008; BERA et al., 2010; DATTA et al., 2010).

Surtos espontâneos ou casos isolados da doença já foram descritos em bovinos, cães, gatos e, com menor frequência, em suínos, equinos e ovinos (SELBY et al., 1977; RICE et al., 1980; PACE et al., 1997; MONIES et al., 1999; FAIRES et al., 2004; DANTAS et al., 2012; ASHRAFIHELAN et al., 2013; BERTIN et al., 2013).

A intoxicação por arsênio em bovinos foi frequentemente relacionada à forma inorgânica trivalente do metaloide, ainda hoje associada à apresentação subclínica da doença. O curso clínico é geralmente agudo, devido à ingestão de altas doses do agente, com morte entre 3 a 4 horas após o início dos sinais clínicos. Observa-se diarreia, por vezes sanguinolenta, desidratação, dor abdominal, parada dos movimentos ruminais e depressão (RIET-CORREA et al., 2007).

Na necropsia os bovinos intoxicados por arsênio inorgânico apresentam úlceras e erosões multifocais na mucosa dos pré-estômagos, no abomaso e intestino, associadas a congestão, hemorragias e proeminente edema de submucosa em casos agudos e subagudos (OSWEILER, 1998; RIET-CORREA et al., 2007). Microscopicamente, há variável comprometimento da vasculatura gastrointestinal, além de infiltrado inflamatório na mucosa e nefrose (VALENTINE et al., 2007; BERTIN et al., 2013).

Neste estudo são descritos os aspectos clínicos, patológicos e patogênese, observados em um surto de intoxicação por arsênio orgânico em bovinos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Intoxicações por metais pesados e pesticidas em animais de produção

Os metais pesados são elementos químicos eletropositivos, sólidos, brilhantes e bons condutores de calor e eletricidade. Quimicamente estão situados a direita e ao centro da tabela periódica e são classificados como orgânicos e inorgânicos dependendo dos arranjos formados com outros elementos químicos (HUEZA et al. 2008). Como espécies elementares, em geral não são biodegradáveis. Esse fator associado à bioacumulação contribui para uma grande preocupação em relação aos metais como agentes tóxicos (RAIKWAR et al., 2008; LIU et al., 2012). Alguns metais como o chumbo, mercúrio e arsênio, representam um problema prático relacionado à gestão ambiental, devido a sua presença em dejetos industriais, descartados no meio ambiente sem tratamento específico (HUEZA et al., 2008). Atividades de mineração, fundição e agricultura, têm contribuído para contaminação em alguns países como Japão, Indonésia, China e Índia (RAIKWAR et al., 2008; DATTA et al., 2010).

A intoxicação por metais pode produzir quadros agudos, desenvolvidos rapidamente pela exposição a uma única dose elevada, ou crônicos e subclínicos por exposição a doses baixas por tempo prolongado (BENITE et al., 2007). Os animais são expostos mediante ingestão de alimento ou água contaminada, produtos farmacêuticos, acesso acidental a campo pulverizado com pesticidas, calagem, suplementos minerais com alto teor de vestígios metálicos, mastigação de objetos ou lambedura de superfícies que contém metais, como é o caso do chumbo (RAIKWAR et al., 2008). Alguns metais tóxicos também podem ser encontrados na confecção de baterias secas e automotivas, antifúngicos e inseticidas, cloro e soda e conservantes de madeira (HUEZA et al., 2008).

Na medicina veterinária, a intoxicação por metais pesados foi comumente relatada no passado, devido à exposição frequente de animais domésticos a pesticidas, produtos farmacêuticos ou aditivos alimentares a base de componentes metálicos (ATSDR, 2007; HUEZA et al., 2008; CANTONI, 2010). Atualmente muitos compostos químicos e produtos farmacêuticos a base de metais estão proibidos para utilização ou possuem uso restrito devido sua toxicidade potencial e, em sua grande maioria, foram substituídos por princípios ativos mais seguros (HUEZA et al., 2008). Apesar disso, existem regiões do mundo com altos índices de contaminação ambiental por metais pesados, o que propicia a exposição crônica de

bovinos a baixas doses desses elementos, gerando risco de contaminação para a população consumidora de produtos de origem animal, que podem conter altos níveis de metais (LÓPEZ ALONSO et al., 2000; CAI et al., 2009; DATTA et al., 2010).

A bioacumulação também tem sido considerada um sério problema na fauna aquática, principalmente em peixes marinhos em regiões com descarga de poluentes químicos e também espécies de água doce, próximas a áreas de agricultura (VINODHINI & NARAYANAN, 2008; SANCHES FILHO et al., 2013; MARENGONI et al., 2013). A fim de evitar, ou minimizar os riscos, o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a Instrução Normativa nº 42, de 20 de dezembro de 1999, determina a colheita e submissão de amostras de tecidos e subprodutos aos laboratórios oficiais pela inspeção federal, para o monitoramento de resíduos de metais pesados. A análise desses resíduos tem como objetivo controlar o nível de elementos metálicos nos produtos e subprodutos destinados ao consumo humano e obter informações sobre os níveis médios regionais (BRASIL, 1999).

No Brasil, alguns estudos demonstraram a importância da investigação de níveis tóxicos de chumbo em ruminantes e equinos que permanecem em áreas circunvizinhas a indústrias metalíferas, como fábricas produtoras de baterias automotivas (MARÇAL et al., 2003; PERES, 2009). O cobre, entre os metais essenciais, é um dos principais elementos responsáveis por toxicose em bovinos, ovinos e bubalinos. Devido sua capacidade de acumular-se no organismo (MÉNDEZ & RIET-CORREA, 2007; MINERVINO et al., 2009).

Atualmente alguns metais tóxicos, como o arsênio orgânico, chumbo (derivados orgânicos), zinco, mercúrio e estanho são constituintes de herbicidas e preservantes de madeira (FLORIAN, 2013). Nos anos 50 e 60, os chamados “defensivos agrícolas” passaram a ser amplamente utilizados, com introdução do diclorodifeniltricloroetano (DDT), um inseticida a base de cloro, que era compulsoriamente incluído junto a adubos e fertilizantes em financiamentos agrícolas. Foi denominada “revolução verde”, em que fertilizantes, juntamente com as máquinas agrícolas, marcaram a impactante chegada da tecnologia à produção agrícola. A partir da década de 1970, estudos revelaram que resíduos clorados persistiam ao longo da cadeia alimentar contaminando até mesmo o leite materno, fazendo com que substâncias a base de cloro, inclusive o DDT fossem retiradas do mercado. Para substituir o DDT foram introduzidos no Brasil inseticidas fosforados, a partir dos anos 70, especialmente no sul, em monoculturas de soja, trigo e arroz, como solução de curto prazo

para tratamento de pragas e doenças. O Brasil é considerado hoje um dos maiores consumidores de agrotóxicos e existem aproximadamente 1.000 princípios ativos comercializados em mais de 8.000 formulações. Atualmente o maior consumidor é o estado de São Paulo onde se destaca o cultivo da cana-de-açúcar (LUCCHESI, 2005; ARMAS, 2007).

O risco de intoxicação por essas substâncias geralmente está relacionado ao uso indiscriminado, que pode acarretar grandes prejuízos na pecuária, pois geralmente os quadros ocorrem na forma de surtos com perdas significativas nos rebanhos. A intoxicação ocorre, na grande maioria das vezes, por contaminação da água, alimentos, pastagens e utilização de concentrações exageradas do produto (RADOSTITS et al., 2007). Além disso, há casos em que se aplicam os produtos sobre culturas que serão utilizadas posteriormente, na forma de feno, na alimentação animal (BARROS & DRIEMEIER, 2007).

As substâncias mais importantes relacionadas a intoxicações em ruminantes são os organofosforados e carbamatos. Esses produtos são utilizados como inseticidas em lavouras e como antiparasitários para animais. Intoxicações acidentais ocorrem durante aplicações em plantações ou uso de antiparasitários em concentrações inadequadas (BARROS et al., 2006).

As intoxicações por herbicidas são pouco frequentes ou subdiagnosticadas, uma vez que existe, por parte dos produtores, certa restrição à investigação dos surtos de intoxicação, já que, na maioria das vezes, esses ocorrem devido ao uso indiscriminado do produto. Esses produtos são amplamente utilizados na agricultura e não é incomum a atividade pecuária concomitante com a agricultura em pequenas e grandes propriedades, sendo assim o risco eminente de contaminação crônica de animais também existe, sobretudo em bovinos, porém poucos são os estudos para comprovar este fato. Fagnani et al (2011) demonstraram níveis consideráveis de organofosforados e carbamatos no leite e alimento de vacas Holandesas em propriedades leiteiras de uma região de exploração agrícola no agreste de Pernambuco. Com isso, foi destacada a importância de monitoramento de forrageiras e grãos fornecidos aos animais em regiões com utilização de pesticidas.

Do grupo dos herbicidas, o paraquat está entre os produtos de maior toxicidade. É um produto de contato não seletivo, considerado um sal de amônia bi quaternária, usualmente sintetizado na forma de sal diclorídrico. É atualmente o terceiro pesticida mais vendido no mundo (WESSELING et al. 2001). De todos os herbicidas, o paraquat é considerado o

principal responsável por intoxicações humanas graves. Em razão da sua extrema toxicidade, é provável que esse herbicida também possa representar alto risco aos animais em geral, por contato direto ou indireto (PAULINO, et al., 2008). O herbicida glifosato, empregado como dessecante, também tem sido associado a alguns relatos de intoxicação em cães (BURGAT et al., 1998; ALBO & NEBBIA, 2003).

Juntamente com os herbicidas de amplo espectro, o clomazone tem sido amplamente utilizado em culturas de arroz irrigado, fumo, soja e outras leguminosas. Recentemente foi reportado um surto de intoxicação espontânea por esse produto em ovinos, seguido da reprodução experimental da doença. Este fato ocorreu devido exposição à deriva do herbicida aplicado em uma plantação de arroz, no campo vizinho, que foi pulverizado via aérea em condições climáticas desfavoráveis. Os ovinos que permaneciam no campo ao lado desenvolveram um quadro de neuropatia tóxica, reversível após remoção dos animais do local. Os autores alertaram para ocorrência de exposições acidentais desta maneira, já que a aplicação em lavouras de extensa área, na maioria das vezes ocorre por via aérea (FAGUNDES et al., 2015).

Herbicidas a base de arsênio em sua forma orgânica têm sido empregados para plantas infestantes em pós-emergência em culturas de algodão, cana-de-açúcar e citros, como é o caso do MSMA (metano arseniato ácido monossódico) (BRASIL, 2015; SERODIO, 2014). A intoxicação por esse composto em animais de rebanho pode ocorrer quando o produto é aplicado no campo nativo ou em pastagem onde os animais são mantidos (DANTAS et al., 2012). Apesar de não ter indicação para essa finalidade, o MSMA também tem sido utilizado para o controle de algumas forrageiras (CARVALHO et al., 2005; GALON et al., 2012).

2.2 Contexto histórico

O arsênio ou arsênico (As), já é conhecido pelo homem desde tempos remotos. Em 130 d.C., o médico grego Claudius Galeno passou a utilizá-lo como medicamento no tratamento de alguns distúrbios, como dispneias, tosses e também como parasiticida. No século XIX, a solução de Fowler (arsênio a 1%) era utilizada para tratar inúmeras dermatoses e tumores de pele em humanos, e empregada como biotônico (GONTIJO & BITTENCOURT, 2005; HUEZA et al., 2008). Ainda hoje, o trióxido de arsênio é utilizado para tratamento de leucemia promielocítica em humanos, aprovado pela Agência Nacional de Vigilância

Sanitária - ANVISA (TRISENOX ®, 2015). Até o início do século XX o arsênio também foi considerado um dos principais agentes suicidas para humanos, citado em muitos tratados de Medicina Legal (GONTIJO & BITTENCOURT, 2005).

É utilizado em todo o mundo na agricultura e silvicultura como pesticida (herbicidas, inseticidas e produtos silvícolas), principalmente na forma de compostos inorgânicos, que foram amplamente utilizados como o trióxido de arsênio, arsenito de sódio, arseniato de cálcio, entre outros (CANTONI, 2010). Presentemente a utilização de arsênio em herbicidas é feita pela adição de formas orgânicas, consideradas menos tóxicas. O arsênio orgânico como o ácido arsenílico, 3-nitro-4-ácido hidroxifenilarsônico e 4-ácido nitrofenilarsônico também foram utilizados como aditivos promotores de crescimento para ração de aves e suínos (CALVERT & SMITH, 1981).

Nos Estados Unidos, a partir de 1960, a utilização de arsenicais inorgânicos na agricultura foi gradativamente reduzindo (MERWIN et al., 1994; SANOK et al., 1995). Em 1987, a EPA (Environmental Protection Agency) emitiu uma decisão preliminar de cancelar o registro da maioria dos arsenicais inorgânicos utilizados como pesticidas no país. Apesar disso o uso do arsênio inorgânico está permitido para formulação de iscas para formigas e conservantes de madeira. Em produtos alimentares a utilização foi cancelada em 1993 (ATSDR, 2007). Atualmente, no Brasil, não estão registrados para uso em insumos agrícolas (BRASIL, 2015), tão pouco como aditivos promotores de crescimento em rações comerciais (BRASIL, 2002). Entretanto, compostos a base de arsênio orgânico, nomeadamente metano arseniato ácido monossódico (MSMA) podem ser utilizados no país, empregados principalmente em culturas de algodão (BRASIL, 2015). Pequenas quantidades de arsênio elementar são também adicionados a outros metais para formar ligas ou misturas de metal com propriedades melhoradas (ATSDR, 2007).

O governo norte americano possui uma agência específica para o registro de substâncias tóxicas e de doenças a elas associadas (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Esta agência publica a cada dois anos uma lista de elementos de maior risco à saúde humana e ao meio ambiente (Priority List of Hazardous Substances), onde estão registradas 275 substâncias orgânicas e inorgânicas. Desde 1997, o arsênio é considerado o elemento mais tóxico à saúde humana (ATSDR, 2007). Um dos fatores que contribuem para esse dado é a poluição ambiental por arsênio, que se tornou um problema grave em alguns países nos últimos anos, especialmente Bangladesh, Índia e China (SUN, 2004; FERREIRA, 2013). No

oeste da Índia a contaminação de águas subterrâneas tem sido uma preocupação crescente, tanto para população humana quanto para animais de produção. Bera et al. (2010) identificaram concentrações elevadas de arsênio na urina e pelos de bovinos expostos a esses solos, indicando uma forma de intoxicação subclínica nesses animais.

No passado a maior parte da exposição de humanos ao arsênio deu-se principalmente na forma ocupacional, em indústrias de fundição, mineração ou carvão. E a utilização do arsênio como insumo farmacêutico foi associada à ocorrência de arsenicismo cutâneo, mediante aparecimento de neoplasias e outras alterações em pacientes que em algum momento haviam utilizado arsênio como agente terapêutico (GONTIJO & BITTENCOURT, 2005). A ingestão de água potável contaminada, frequentemente proveniente de fontes naturais, ou alimentos, principalmente frutos do mar e peixes, que contenham níveis de arsênio acima do permitido, também é considerada um importante meio de contaminação (LIU et al., 2012). Em animais, as principais fontes de exposição estão relacionadas à ingestão de pastagem acidentalmente contaminada por herbicida que contenha arsênio, ou à veiculação de altos níveis de arsênio em água de bebida e pastagem, através do solo, em regiões ambientalmente contaminadas (HUEZA et al., 2008).

2.3 Arsênio: caracterização química

O arsênio (do grego *arsenikon*, arsen = forte; ni-kao = prevalecer, vencer), cujo símbolo químico é As, possui número atômico 33, é encontrado em três formas alotrópicas com colorações: cinza metálico (forma α – mais estável); negro (forma β) e amarelo (forma γ). É classificado como metaloide, ou semimetal, pois possui atividades químicas de elementos não-metals e propriedades físicas de metais. No meio ambiente, o metaloide arsênio não é destruído, mas pode sofrer mudança em sua forma ou tornar-se ligado ou separado de partículas. Essa mudança pode ocorrer através da reação com oxigênio ou com outras moléculas presentes no ar, água ou solo, ou ainda, pela ação de bactérias do solo ou de sedimento. A concentração normal de arsênio no solo varia amplamente, geralmente entre 1 a 40 partes do elemento para um milhão de partes de terra (ppm), com um nível médio de 3-4 ppm (ATRSD, 2007).

Como na maioria dos metais, pode ser encontrado na forma orgânica – menos tóxica como o ácido arsenílico, e inorgânica – mais tóxica, como o trióxido de arsênio e arsenito de sódio

(HUEZA et al., 2008). No meio ambiente, quando combinado com elementos como oxigênio, cloro e enxofre é classificado como inorgânico. Quando combinado com carbono e hidrogênio é referido como o arsênio orgânico. O arsênio inorgânico ocorre naturalmente no solo e em muitos tipos de rocha, especialmente em minerais e minérios que contêm cobre ou chumbo. Quando esses minérios são aquecidos em fundições, a maior parte do arsênio evapora e pode ser coletado, extraído como trióxido de arsênio (As_2O_3) (ATSDR, 2007).

Os compostos orgânicos e inorgânicos podem estar disponíveis em diferentes estados de oxidação classificadas em pentavalente e trivalente (HUGHES, 2002). Os compostos inorgânicos trivalentes mais comuns são o trióxido de arsênio e o arsenito de sódio, enquanto os inorgânicos pentavalentes são o arsenato de sódio, o pentóxido de arsênio e o ácido arsênio (LIU et al., 2012). Compostos orgânicos incluem as formas pentavalentes metano arseniato ácido monossódico – MSMA e metilarseniato ácido dissódico – DSMA, que são aqueles utilizados como herbicidas. Alguns arsenicais orgânicos pentavalentes como o ácido arsenílico, arsanilato de sódio e ácido 3-nitro 4-hidroxifenilarsônico também já foram utilizados como aditivos promotores de crescimento em ração para aves e suínos de produção (OSWEILER, 1998; SERÓDIO, 2014).

A classificação dos compostos arsenicais em ordem decrescente de toxicidade, segundo ANDERSON et al. (1986) e BURGUERA et al., (1991) pode ser estabelecida da seguinte maneira: arsina > arsenito > arseniato (arsenato) > ácidos alquil-arsênicos > compostos de arsênio > arsênio elementar.

2.4 Intoxicação por arsênio em bovinos

Em animais, os primeiros relatos de toxicose ocorreram em 1822, quando da observação de uma possível ação cancerígena em bovinos que pastejavam nas proximidades de algumas fundições em Paris. Os animais desenvolviam neoplasias cutâneas que foram atribuídas a uma possível ação tóxica dos gases arsenicais que eram exalados no local (GONTIJO & BITTENCOURT, 2005).

As espécies mais susceptíveis à intoxicação por arsênio são os felinos, seguidos dos equinos e bovinos (OSWEILER, 1998), no entanto, os surtos espontâneos de intoxicação por arsênio em são mais frequentes em bovinos (BERTIN et al., 2013; BERA et al., 2010;

DANTAS et al., 2012; DATTA et al., 2010; FAIRES et al., 2004; NEIGER et al., 2004). A principal fonte de intoxicação para os animais é pela ingestão acidental de arsênio. Em um levantamento de 156 casos de toxicose por arsênio em bovinos realizado por BERTIN (2013), em 32 casos de exposição acidental, 34 % dos animais tiveram contato com arsênio através da ingestão de pastagem contaminada, 28% pela ingestão de água contaminada, e 26% por ingestão de resíduos de pesticidas e fertilizantes.

No Brasil, são relatados dois surtos de intoxicação acidental em bovinos, ambos através da ingestão de pastagem contaminada com pesticidas contendo arsênio em sua formulação (DÖBEREINER et al. 1967; DANTAS et al. 2012). As demais fontes de risco incluem exposição acidental a antigos pesticidas (p.ex., arsenato de chumbo e trióxido de arsênio) que eram armazenados ou descartados inadequadamente; solos contaminados com arsênio e pilhas incineradas, que com frequência são lambidos por animais que carecem de sais minerais; águas contaminadas em áreas de minas abandonadas ou próximas a resíduos industriais e incineração de madeira tratada com conservantes arsenicais (OSWEILER, 1998; BERTIN et al., 2013).

Até a proibição da utilização do arsênio inorgânico em insumos agrícolas, a maioria das intoxicações em bovinos estava relacionada a essa forma de apresentação (DÖBEREINER et al., 1967; BARTÍK & PISKAČ, 1981; OSWEILER, 1998). Os relatos de intoxicação por arsênio orgânico em bovinos, em grande parte, eram associados a aditivos alimentares com a presença desse elemento (VORHIES ET AL., 1969; KEENAN ET AL., 1973), além de um surto descrito por Neiger et al. (2014), envolvendo acetoarsenito cúprico, um tipo de arsênio orgânico trivalente. Intoxicação associada à ingestão acidental de MSMA (metano arseniato ácido monossódico) foi somente reportado por Dantas et al. (2012), e em uma descrição experimental da doença por Dickinson (1972).

O MSMA é classificado com um arsênio orgânico pentavalente, e é autorizado pela ANVISA para composição de herbicidas (Figura 1). Atualmente compõe 14 tipos diferentes de marcas comerciais. Tem indicação para plantas infestantes em pós-emergência nas culturas de algodão, café, cana-de-açúcar e citros (BRASIL, 2015). Apesar de não ser indicado para essa finalidade, também tem sido utilizado no controle de algumas forrageiras como *Brachiaria decumbens* e *B. brizantha* (CARVALHO et al., 2005; GALON et al., 2012).

Os quadros de intoxicação por esse composto em bovinos ocorrem geralmente quando o produto é aplicado no campo nativo ou pastagem em que os animais se encontram. Na Tabela 1, respectivamente, são apresentados, resumidamente, os quadros de intoxicação por arsênio, descritos mundialmente em animais domésticos. De acordo com esses dados, historicamente as intoxicações por arsênio nos bovinos e demais espécies estão relacionadas à forma inorgânica e ocorrem geralmente sob a forma de surto (mais de um animal envolvido). São raros os experimentos de indução da doença, realizados a fim de elucidar questões relacionadas à patogênese do elemento tóxico.

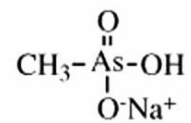


Figura 1 - Fórmula estrutural do metanoarseniato ácido monossódico. Fonte: BRASIL (2015).

Em humanos a dose letal (DL 50) de arsênio é considerada entre 70 a 180 mg para arsênio inorgânico (LIU et al., 2012). Para animais domésticos está relacionada com sua forma de apresentação (orgânico ou inorgânico, trivalente ou pentavalente) e com a espécie em questão. Para bovinos, alguns autores descreveram a DL50 de 1 a 25 mg/kg para arsênio inorgânico trivalente e 30 a 100 mg/kg para arsênio inorgânico pentavalente (OSWEILER, 1998; BERTIN, et al., 2013). A DL50 do MSMA em bovinos foi descrita entre 80 e 100 mg/kg. No entanto, o total de 50 a 70 mg/kg foi o suficiente para promover alteração clínica (DICKINSON, 1972).

Tabela 1. Intoxicações por arsenicais orgânicos e inorgânicos em animais domésticos no período de 1941 à 2013.

Espécie	Idade	Sexo	Nº de animais	Local (Região, Estado ou país)	Forma de apresentação do As	Natureza da intoxicação	Referência
Bovino	A	M	2	Ontario (Canadá)	Arsênio inorgânico	Acidental	Davey, 1941
Suíno	A	NI	30	Ontário (Canadá)	Ácido arsanílico (organoarsênio)	Acidental	Oliver et al., 1957
Bovino	>2 anos	NI	95	Paraná (Brasil)	Arsênio inorgânico	Acidental	Döbereiner et al., 1967
Suíno	J	NI	2	Michigan (EUA)	Ácido arsanílico (organoarsênio)	Experimental	Vorhies et al., 1969
Ovino	2 meses	NI	20	Indiana (EUA)	Arsenato de chumbo	Experimental	Benett et al., 1971
Ovino	J	M	30	Arizona (EUA)	Ácido arsênico (organoarsênio)	Acidental	Nelson et al., 1971
Bovino	J	NI	5	Washington (EUA)	MSMA	Experimental	Dickinson, 1972
Bovino	J/A	F/M	30	Sul da Austrália	Trióxido de arsênio	Acidental	Molennan et al., 1972
Suíno	6-12 semanas	NI	97	Austrália	Ácido arsanílico (organoarsênio)	Acidental	Keenan et al., 1973
Bovino	J/A	F/M	10	Dakota do Sul (EUA)	Arsênio inorgânico	Acidental	Bergeland et al., 1976
Canino/felino	0,5-6 anos	NI	64/5	Missouri (EUA)	Arsênio inorgânico	Acidental	Selby et al., 1977
Bovino	A	NI	11	NI	Arsênio inorgânico	Acidental	Reviere et al., 1981
Bovino	NI	M	15	Virgínia (EUA)	Pentóxido de arsênio	Acidental	Thatcher et al., 1985
Equino	A		5	Missouri (EUA)	Arsenato e arsenito de chumbo	Acidental	Pace et al., 1997
Bovino	NI	F/M	18	Minnesota (EUA)	Arsênio inorgânico	Acidental	McClanahan, 2003
Bovino	J	M	5	Ontario (Canadá)	Trióxido de arsênio	Acidental	Faires, 2004
Bovino	J	M	3	Dakota do Sul (EUA)	Acetoarsenito cúprico (organoarsênio)	Acidental	Neiger et al., 2004
Bovino	8 meses - 8 anos	F/M	13	Oregon (EUA)	Arsenato de cálcio	Acidental	Valentine te al., 2007
Bovino	NI	NI	8	West Bengal (India)	Arsênio (NI)	Acidental	Bera et al., 2010
Bovino	NI	F	30	West Bengal (India)	Frações de arsenito e organoarsênio	Acidental	Datta et al., 2010
Bovino	A	F	24	São Paulo (Brasil)	MSMA	Acidental	Dantas et al., 2012
Ovino	7 anos	F	1	Ghopuz (Irã)	Arsênio inorgânico	Acidental	Ashrafihelan et al., 2013
Bovino	1-18 meses	F/M	156	Indiana (EUA)	Arsênio inorgânico	Acidental	Bertin et al., 2013

Legendas: As: arsênio; A: adulto; J: jovem; NI: não informado; F: fêmea; M: macho; EUA: Estados Unidos da América. MSMA: metanoarseniato ácido monossódico.

2.5 Toxicocinética e toxicodinâmica

A alta reatividade dos metais com outros grupamentos químicos determina a lipossolubilidade, fator que influencia a toxicocinética e conseqüentemente, a maior ou menor absorção pelo organismo, bem como, os efeitos tóxicos (HUEZA et al., 2008).

A absorção ocorre predominantemente via gastrointestinal, quando da exposição oral, tanto para o arsênio inorgânico quanto orgânico. A absorção cutânea também pode ocorrer, quando há exposição cutânea ou uso tópico de substância que contenha arsênio. Outras vias, como a respiratória, ocorrem com maior frequência em humanos em atividade profissional de mineração, envolvendo arsenicais inorgânicos (ATSDR, 2007; HUEZA et al., 2008). Na Figura 2 estão demonstradas as possíveis formas de apresentação da doença de acordo com o tipo de exposição ao arsênio em animais e humanos, segunda a Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Nota-se que as várias formas de apresentação da doença em humanos estão relacionadas à exposição oral, dermal e inalatória, ao passo que em animais, a maioria das formas clínicas restringe-se a exposição oral ao arsênio inorgânico. Algumas das alterações como a genotoxicidade, alterações reprodutivas e neoplasias, demonstradas separadamente no esquema, estão relacionadas com a forma crônica da doença (ATSDR, 2007).

Após a absorção a distribuição ocorre para vários tecidos do organismo. O arsênio é distribuído pelo organismo ligado aos eritrócitos (GRAEME & POLLACK, 1998). Em ratos intoxicados cronicamente por arsenicais orgânicos o arsênio foi primariamente encontrado em eritrócitos, em uma concentração cerca de 150 vezes mais alta que no plasma (ATSDR, 2007). No entanto a concentração de arsênio no sangue pode ser altamente variável, podendo estar abaixo do limite tóxico, apesar da identificação de concentrações tóxicas em outros órgãos (ATSDR, 2007).

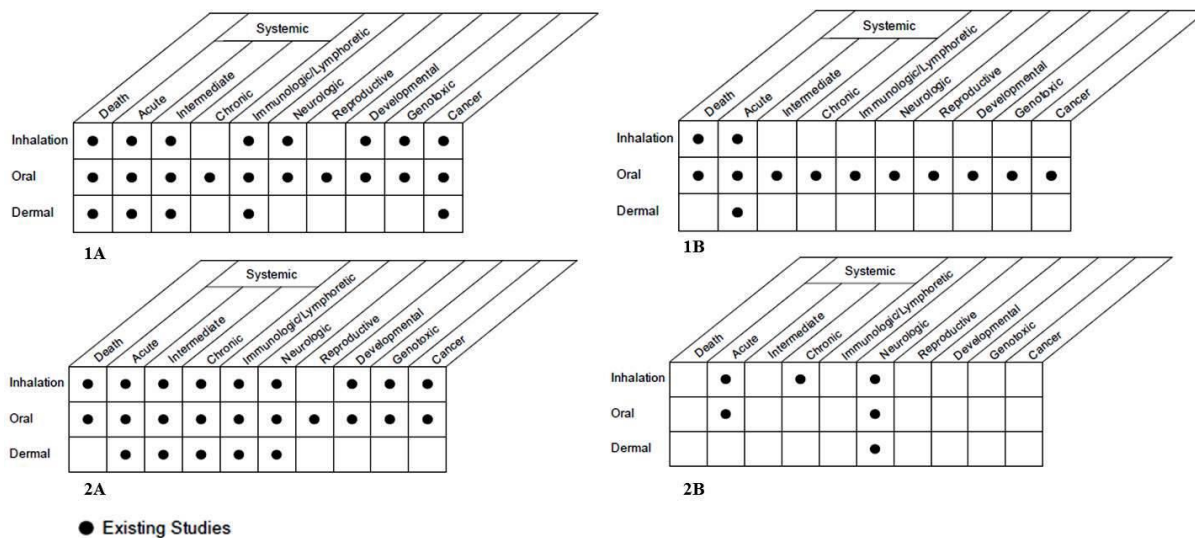


Figura 2 - Formas de apresentação da toxicose por arsênio inorgânico (1) e orgânico (2) de acordo com o tipo de exposição, em humanos (A) e animais (B). Fonte: ATSDR, 2007.

Em seres humanos intoxicados é possível detectar arsênio em praticamente todos os tecidos do corpo, sendo que a maioria dos tecidos apresentam níveis entre 0,05-0,15 ppm, exceto nos cabelos e unhas que sempre apresentam níveis mais elevados, 0,65 e 0,36 ppm, respectivamente (ATSDR, 2007). De acordo com BERTIN et al. (2013), o Centro de Diagnóstico para Saúde Populacional e Animal da Michigan State University, estabelece que os valores de referência para arsênio em animais são 0,05–0,17 ppm na urina, <50 ppb no sangue, 0,004–0,40 ppm no fígado e 0,018–0,40 ppm no rim.

Há na literatura uma ampla faixa de valores teciduais de arsênio para bovinos intoxicados, variando amplamente de acordo com a amostra analisada, tempo de exposição e dose ingerida (HUMPHREYS, 1988; NEIGER, 2004; BERTIN et al., 2013). A quantidade de arsênio encontrada nos fígados e rins de 21 bovinos intoxicados foi determinada por Hatch & Funnell (1969), que encontraram valores no fígado entre 2,1-38,0 ppm e, nos rins, correspondentes a 1,5-37,0 ppm. A partir disso, concluíram que em alguns bovinos a concentração de arsênio foi maior no fígado, em outros no rim, e ainda, que em alguns animais com sinais clínicos semelhantes, os níveis encontrados foram extremamente baixos.

Monies (1999) descreve que os níveis, já registrados na literatura, variam entre 0,5 à 800 ppm. Entretanto, sempre que um animal sobrevive a um surto, após alguns dias da

exposição, os níveis teciduais podem ser inferiores a 10 ppm. Isto porque o arsênio é rapidamente eliminado do organismo animal, com excreção quase completa dentro de poucos dias (OSWEILER, 1998; HUEZA et al., 2008). O pelo em animais intoxicados é utilizado como marcador de exposição crônica a pequenas doses do elemento (BERA et al., 2010; DATTA et al., 2010). A Tabela 2, a seguir, apresenta a variação tecidual de níveis de arsênio em bovinos intoxicados de forma aguda ou subaguda, de acordo com dados da literatura.

Tabela 2. Variação de níveis teciduais de arsênio em bovinos intoxicados considerados acima do limite de referência para a espécie.

Tecido ou material analisado	Quantidade detectada (ppm ou ppb)
Fígado	6,9-23,85 ppm (McCLANAHAN et al. 2003; DANTAS et al. 2012)
Rim	6,18-28,71ppm (VALENTINE et al. 2007; DANTAS et al. 2012)
Músculo esquelético	*
Pelo	2,1-4,15 ppm (DÖBEREINER et al., 1967)
Urina	26,8 ppm (BERTIN et al. 2013)
Sangue	1,89-667,0 ppb (DANTAS et al. 2012; BERTIN et al. 2013)
Leite	10,52 ppm (DANTAS et al. 2012)

Legenda: * sem descrição em bovinos intoxicados por arsênio.

A forma de metabolização do arsênio envolve dois processos básicos que compreendem reações de redução/oxidação que interconvertem arsênio trivalente (As^{III}) e pentavalente (As^V), e reações de metilação, que convertem o As^{III} às formas pentavalentes ácido monometilarsônico (MMA^V) e ácido dimetilarsínico (DMA^V). Estes processos parecem ser semelhantes, independentemente se a exposição ao arsênio foi através de inalação, oral ou outra forma. O organismo possui a capacidade de alterar a forma pentavalente para a forma trivalente e posteriormente para formas orgânicas metiladas, com a finalidade de gerar compostos que são mais facilmente excretados na urina (ATSDR, 2007). Na Figura, 3 um esquema do processo de metabolização do arsênio, chamada de biotransformação, demonstra as etapas para as formas pentavalente (As^V) e trivalente (As^{III}).

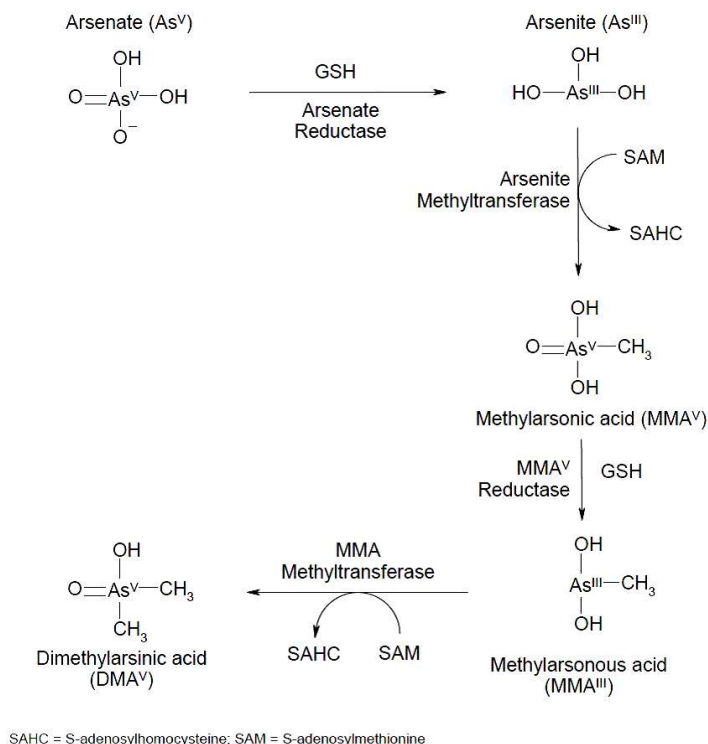


Figura 3 - Etapas da biotransformação do arsênio na intoxicação em humanos. Fonte: ATSDR, 2007.

A forma pentavalente é rapidamente reduzida à forma trivalente (As^{III}) que penetra nas células. A enzima glutatona peroxidase parece desempenhar um papel na redução da As^{V} para As^{III} , que é necessário antes da metilação. Dentro das células, principalmente hepatócitos, o As^{III} é metilado, ou seja, sofre adição de um grupo metila para formar o MMA^{V} (ácido monometilarsênico) que posteriormente é reduzido novamente para a forma trivalente MMA^{III} (ácido monometilarsenoso) e DMA^{III} (ácido dimetilarsenoso) (ATSDR, 2007). Por fim, essas formas são novamente metiladas a DMA^{V} (ácido monometilarsínico), menos tóxico e excretado mais facilmente (ATSDR, 2007; KAPP, 2005). Grande parte do As^{III} formado é distribuído para os tecidos e captado pelas células (principalmente hepatócitos) antes mesmo da metilação. Alguns tipos de células parecem acumular As^{III} mais rapidamente do que As^{V} (ATSDR, 2007).

O mecanismo exato da ação do arsênio não é totalmente conhecido, mas várias hipóteses têm sido propostas (HUGHES, 2002). Ambas as formas do arsênio (trivalente e pentavalente) promovem alterações em determinadas reações químicas ou enzimas

essenciais na produção de ATP, produzindo um déficit de energia celular (LIU et al., 2012). Entre as enzimas mais afetadas, cerca de 200, estão aquelas responsáveis pela produção de energia ou na síntese e reparo do DNA (ROSSMAN & KLEIN, 2011).

Algumas macromoléculas são afetadas pelo arsênio trivalente, que se liga especialmente às enzimas sulfidrílicas, tais como o piruvato desidrogenase, cuja inibição compromete a formação da acetilcoenzima A e, conseqüentemente, leva a diminuição na produção do ATP no ciclo do ácido tricarboxílico (HUEZA et al. 2008). Os compostos arsenicais trivalentes também podem ligar-se ao ácido lipólico a às α -ceto oxidases. O ácido lipólico é um cofator enzimático no tecido respiratório e desempenha um papel essencial no ciclo do ácido tricarboxílico (ATC). Tecidos que possuam necessidades elevadas de energia oxidativa (células dividindo-se ativamente, tais como epitélio intestinal, rins, fígado, pele e pulmão) são mais afetados (BARTÍK & PISKAČ, 1981; OSWEILER, 1998; GWALTNEY-BRANT, 2002).

O arsênio trivalente também desencadeia uma importante alteração nos tecidos atingidos, principalmente sobre o trato gastrointestinal, o comprometimento da integridade capilar, que ocorre por mecanismo pouco conhecido. Um processo sugerido é que ocorra dilatação capilar, seguido por transudação de plasma, resultando em intensa congestão e edema de submucosa (OSWEILER, 1998). Outras alterações decorrentes da ação tóxica podem estar relacionadas à promoção de estresse oxidativo tecidual e liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS), altamente tóxicas, principalmente sobre o DNA, causando alteração no estado de metilação do DNA e instabilidade genômica, comprometimento do reparo do DNA e aumento da proliferação celular. Esse fato está relacionado à indução de neoplasias em humanos expostos cronicamente ao arsênio (HUEZA et al. 2008; LIU et al., 2012).

O arsênio pentavalente é considerado um desacoplador da fosforilação oxidativa mitocondrial, pois compete com o fosfato, desacoplando a reação para a formação de ADP-arsenato. Ou seja, induz a formação de 1-arseno-3-fosfoglicerato, ao invés de vez de 1,3-difosfoglicerato, que não pode liberar fosfato para formação de ATP (HUEZA et al., 2008; BERTIN et al., 2013). Apesar disso, a forma de ação do As^V não está bem definida e uma investigação adicional é necessária. Os efeitos tóxicos do As^V podem realmente dever-se a sua redução a As^{III} (HUGHES, 2002).

A vida média dos compostos arsenicais no organismo é de poucos dias, sua excreção em animais intoxicados é rápida, cerca de 24 h a 48 h (OSWEILER, 1998; ATSDR, 2007). Quando transcorrido um período de tempo maior entre absorção e excreção, geralmente é detectado em lugares considerados como de eliminação, como unhas e pelos (BENITE et al., 2007). A bioacumulação pode ocorrer em quadros crônicos, em alguns órgãos rins, músculo esquelético e principalmente no fígado (HATCH & FUNNELL, 1969; BARTÍK & PISKAČ, 1981; HUEZA et al. 2008). Apesar de ser mais frequentemente descrita em humanos, estudos tem demonstrado que bovinos expostos a pequenas doses do elemento em longo prazo, apresentam níveis significativos de arsênio nos pelos, fezes, urina e leite (BERA et al., 2010; DATTA et al., 2010). O arsênio é excretado na urina na forma metilada, em qualquer estado de valência, ou seja, MMA^{V} ou MMA^{III} (ATSDR, 2007; HUEZA et al., 2008).

2.6 Formas de apresentação da doença e sinais clínicos

O quadro clínico na intoxicação por compostos arsenicais pode desenvolver-se nas formas aguda, mais frequentemente, subaguda ou crônica em bovinos. Os sinais clínicos de intoxicação aguda são causados por lesão direta da vasculatura gastrointestinal e inflamação da mucosa, além de danos aos órgãos com alto requerimento de ATP. Os bovinos apresentam diarreia, por vezes sanguinolenta, desidratação, dor abdominal, parada dos movimentos ruminais e depressão, e morrem 3 a 4 horas após início dos sinais clínicos (RIET-CORREA et al., 2007a; VALENTINE et al., 2007; BERTIN et al., 2013). De acordo com Osweiler (1998), essas alterações estão relacionadas à forma trivalente inorgânica do arsênio, e também podem ocorrer na apresentação subaguda da doença. A morte ocorre devido a choque hipovolêmico e, quando altas doses são ingeridas, os bovinos podem não apresentar sinais clínicos e serem encontrados mortos (HUMPHREYS, 1988; HUEZA et al., 2008; DANTAS et al., 2012).

Na intoxicação por arsênio pentavalente inorgânico, a apresentação aguda cursa com 2 a 4 dias e podem ser observados sinais clínicos neurológicos como cegueira, ataxia, incoordenação e opistótono, relacionados a neuropatia periférica (OSWEILER, 1998; MAXIE & YOUSSEF, 2007).

Em um levantamento realizado por Bertin et al. (2013), intoxicação aguda foi observada em 68% dos casos, caracterizada por diarreia, ataxia, desidratação, estresse respiratório, diminuição na produção de leite e aumento na salivação. O exame hematológico revelou anemia normocítica normocrômica com neutrofilia, hipoglicemia e hipocalcemia na bioquímica sérica.

A intoxicação subaguda é menos frequente, mas pode ocorrer em animais que ingeriram pequenas doses durante vários dias (OSWEILER, 1998), ou ainda quando a exposição foi a uma única dose e, iniciado alguns sinais clínicos, os mesmos podem se estender em torno de dois a sete dias. Os sinais clínicos são similares à forma aguda e a desidratação nesse caso é mais intensa. (RIET-CORREA et al., 2007; RADOSTITS et al., 2007). A bioquímica sérica pode indicar azotemia quando há comprometimento renal (DANTAS et al., 2012).

Os quadros de intoxicação crônica ocorrem com maior frequência em humanos expostos diariamente a pequenas doses de arsenicais inorgânicos, em regiões contaminadas ou de forma ocupacional (GONTIJO & BITTENCOURT, 2005). As principais alterações observadas, mediante exposição oral em humanos são lesões da pele caracterizadas por hiperpigmentação, hiperqueratose e hipopigmentação. Em Taiwan, a *blackfoot disease*, uma enfermidade veno-oclusiva que promove gangrena das extremidades, se observa em indivíduos cronicamente expostos ao arsênio através de água contaminada com o metaloide (HUGHES, 2002). Outros achados clinicopatológicos, em humanos, incluem febre, anorexia, hepatomegalia, arritmia cardíaca, irritação gástrica com formação de vesículas e descamação, neuropatia periférica (perda sensorial no sistema nervoso periférico com uma a duas semanas pós exposição a altas doses), anemia, leucopenia e desenvolvimento de cirrose e neoplasias no fígado, pele, bexiga e outros órgãos. Essas alterações estão relacionadas com diferentes formas clínicas e classificação química do arsênio (orgânico, inorgânico, pentavalente ou trivalente) (ATSDR, 2007).

Em bovinos, nos quadros crônicos há diminuição do crescimento ou perda de peso e lesões de pele caracterizadas por pelo seco com perda de vigor, além de dermatite crônica com hiperemia nas fases iniciais, seguida de necrose e perda do epitélio (MAXIE & YOUSSEF, 2007). Essa apresentação de dermatite crônica grave foi observada em surtos de intoxicação por arsênio inorgânico (trióxido de arsênio) utilizado em carrapaticidas, no Brasil, até o início da década de 1980, quando os produtos eram utilizados em altas

concentrações (RIET - CORREA et al., 2007). A apresentação crônica da doença está geralmente relacionada à ingestão de água e pastagem em locais que contenham altos índices de arsênio (HUEZA et al., 2008; BERA et al., 2010). Datta et al. (2010) demonstraram altos índices de arsênio inorgânico e orgânico em pelos e fezes de bovinos cronicamente expostos em regiões com níveis elevados de arsênio na água e solo. Além disso, seus resultados indicaram significativa eliminação de arsênio no leite de vacas expostas.

Com exceção dos quadros de intoxicação causados por aditivos alimentares à base de arsênio orgânico, a taxa de mortalidade é alta (OSWEILER, 1998). O prognóstico para a intoxicação aguda e subaguda em bovinos intoxicados por arsênio inorgânico é desfavorável. De 156 casos revisados por Bertin et al. (2013), 1% (N = 2) sobreviveram e se recuperaram completamente da intoxicação. Na intoxicação crônica o prognóstico é favorável, no entanto, devido à característica subclínica reportada, deve-se enfatizar o risco de bioacumulação do arsênio, principalmente no leite e seus derivados. Além disso, os autores afirmaram que esses animais seriam um potencial marcador para indicar a contaminação ambiental por arsênio de determinadas regiões (BERA et al., 2010; DATTA et al., 2010).

2.7 Achados de necropsia e lesões microscópicas

No exame de necropsia de bovinos intoxicados por arsênio inorgânico, em casos agudos e subagudos da doença, são observadas predominantemente alterações ulcerativas e erosivas no sistema gastrointestinal, principalmente no abomaso, além de congestão, hemorragia e proeminente edema de submucosas com eventual ascite (McCLANAHAN et al., 2003; RIET-CORREA et al., 2007; BERTIN et al., 2013). O intestino pode apresentar dilatação e abundante conteúdo fluido. Bertin et al. (2013) descreveram que as lesões observadas em bovinos com toxicose aguda por arsênio assemelham-se a injúria intestinal promovida em quadros de salmonelose. Quando há acometimento renal observa-se congestão difusa da região medular, com coloração vermelho-escuro. Hemorragias petequiais também podem ser visualizadas em alguns órgãos, como na mucosa da bexiga (MONIES, 1999). Perfuração da cavidade abdominal com prolapso do abomaso também foi reportada em um surto de intoxicação por As inorgânico em bovinos (DÖBEREINER

et al., 1967). Em quadros crônicos pode haver ascite, hepatomegalia e esteatose hepática (HUEZA et al. 2008).

A histopatologia revela grau variado de hemorragia e necrose da mucosa do abomaso e intestinos, congestão gastrointestinal difusa, além de nefrose, com alteração predominante em túbulos renais proximais, necrose da medula óssea, hemorragias multifocais em serosas, bem como congestão da polpa vermelha do baço (HUMPHREYS, 1988; NEIGER et al., 2004; FAIRES et al., 2004; MAXIE & YUSSEF, 2007). Pace et al. (1997) reportaram necrose associada à vasculite supurativa e hemorragia da parede de artérias, veias e capilares do ceco e cólon de equinos intoxicados por arsênio pentavalente inorgânico. Os autores também observaram necrose da mucosa com deposição superficial de fibrina e infiltrado inflamatório de eosinófilos e de células mononucleares.

Lesões macroscópicas e microscópicas observadas por Dantas et al. (2012), na intoxicação por arsênio orgânico (MSMA), apresentam semelhança com as lesões descritas nas intoxicações por arsenicais inorgânicos, caracterizadas como abomasite e enterite necrotizante, além de nefrose hemorrágica difusa. Alterações vasculares são pouco mencionadas quando relacionadas à intoxicação por arsênio orgânico (OSWEILER, 1998; RADOSTITS et al., 2007).

Intoxicações promovidas por aditivos orgânicos alimentares à base de arsênio não promovem alterações macroscópicas significativas. Microscopicamente, podem ser vistas alterações em nervos periféricos caracterizadas por desmielinização e proliferação de células de Schwann, além de degeneração neuronal e degeneração Walleriana no nervo óptico e demais nervos periféricos (MAXIE & YOUSSEF, 2007).

Na forma crônica da doença, HUEZA et al. (2008) descrevem depleção da medula óssea e degeneração gordurosa hepática.

Em outras espécies animais e em humanos, os achados macroscópicos assemelham-se às descritas anteriormente. Predominantemente em quadros agudos, observa-se injúria gastrointestinal, que pode ser severa de acordo com a dose de arsênio a qual o indivíduo foi exposto (LIU et al., 2012). Na forma crônica, em humanos, as alterações de pele são caracterizadas por infarto de extremidades nos membros, que microscopicamente são descritas como tromboangeíte obliterante decorrente do espessamento e necrose fibrinoide da parede nas arteríolas subcutâneas, associado à trombose com infiltração de células

mononucleares, neovascularização e dilatação dos vasos dérmicos (YU et al., 2002; LIU et al., 2012).

2.8 Diagnóstico da intoxicação e diagnósticos diferenciais

O diagnóstico de intoxicação por arsênio em bovinos deve incluir os achados epidemiológicos e clinicopatológicos, associados à detecção do metaloide em tecidos de eleição, como o fígado e o rim nos casos de intoxicação aguda (RADOSTITS et al., 2007; RIET-CORREA et al., 2007; HUEZA et al., 2008).

O material de eleição para determinação de arsênio em bovinos e humanos é a urina, rins e fígado (ATSDR, 2007; BERA et al., 2010). O sangue total também pode ser utilizado, no entanto é classificado como pouco específico. A concentração de arsênio no sangue pode ser altamente variável, podendo estar abaixo do limiar tóxico, apesar de a identificação de concentrações tóxicas em outros órgãos como o rim e fígado (BERTIN et al., 2013). Em casos crônicos, em animais expostos a pequenas doses por período prolongado, o casco e pelos são considerados bons indicadores da concentração do elemento, por acumularem determinados níveis de arsênio a longo prazo (OSWEILER, 1998; BERA; et al., 2010).

O método mais empregado para detecção de arsênio em tecidos e fluidos biológicos é a espectrometria de absorção atômica, associado à geração de hidretos, por oferecer maior sensibilidade e seletividade na determinação do metaloide (BERTIN et al., 2013). Outros métodos incluem cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de absorção atômica e a fluorescência atômica acoplada à geração de hidreto, entre outras. O método utilizado deve alcançar, sucessivamente, melhores limites de detecção, capazes de medir pequenas concentrações em uma grande variedade de amostras, com sensibilidade e boa seletividade (BARRA, 2000). Exames complementares como bioquímica sérica e hemograma podem auxiliar na interpretação do quadro clínico do animal e na determinação de seu prognóstico (DANTAS et al., 2012).

A intoxicação por arsenicais em bovinos, em todas as suas apresentações, com exceção da forma neurológica, cursa com gastroenterite geralmente severa, que clinicamente pode

ser interpretada como episódios decorrentes de outras causas tóxicas, infecciosas ou metabólicas.

As alterações clínicas e macroscópicas no abomaso e rumem são similares às alterações promovidas na intoxicação por *Baccharis* spp. (RIET-CORREA et al., 2007b). A acidose láctica ruminal também cursa com lesões ulcerativas na mucosa do rúmen (RADOSTITS et al., 2007). Lesões intestinais, bem como a diarreia profusa são diagnósticos diferenciais para quadros agudos de salmonelose, doença da mucosas, e quando são afetados o cólon e o ceco a coronavirose e coccidiose também são importantes diagnósticos diferenciais em bovinos (MONIES, 1999; BROWN et al., 2007).

Outro diagnóstico diferencial a ser considerado é a ruminite micótica, como por *Mucor*, *Rhizopus* e *Absidia* spp. Esses fungos têm a proliferação favorecida pelo pH ácido no rúmen, quando da ocorrência de acidose láctica ou ruminite química e invadem vasos da parede ruminal, promovendo trombose e infarto (RADOSTITS et al., 2007). JENSEN et al. (1994) sugerem que a alteração na microbiota ruminal, desencadeado por um fator primário, ou até mesmo a estase do conteúdo e lesões erosivas previamente desencadeadas também são considerados fatores indutores da proliferação e infecção micótica.

Gastroenterite ulcerativa também pode ser visualizada na ocorrência da febre catarral maligna, no entanto, nesta doença alterações em diversas membranas mucosas podem ocorrer, ao passo que, na intoxicação por arsênio, as lesões concentram-se mais no trato gastrointestinal (BROWN et al., 2007).

2.9 Controle e profilaxia

O tratamento para animais intoxicados por arsênio é baseado na terapia quelante, feita para qualquer metal pesado. Ao entrar em contato com os metais, o quelante forma complexos químicos que impedem ou dificultam a capacidade do elemento tóxico ligar-se a moléculas do organismo do animal, auxiliando também na rápida eliminação do metal. O fármaco mais empregado para essa finalidade é o dimercaprol ou BAL (*British Anti-Levis*), uma substância hidrossolúvel que possui baixa afinidade pelos metais essenciais e alta afinidade por metais pesados. O DMSA (ácido meso-2,3- dimercato succínico) e também a penicilamina (β,β - dimetilcisteína) também podem ser utilizados. O BAL e o DMSA são

utilizados na posologia de 6mg/kg intramuscular, três vezes ao dia, durante 3 a 5 dias, e 10 a 73mg/kg , via oral ou intramuscular, duas ou três vezes ao dia, no período de 3 a 5 dias, respectivamente (HUEZA et al. 2008).

Terapia de suporte também pode ser administrada em animais intoxicados, como o uso de catárticos, que diminuem a absorção de substâncias ingeridas devido aumento no trânsito intestinal (RADOSTITS et al., 2007).

As intoxicações que cursam com sinais clínicos agudos geralmente são fatais e, quando se trata de rebanho, o tratamento de todos os animais pode tornar-se dispendioso. Além disso, a exposição crônica de bovinos ou outras espécies, como humanos, a terapia quelante não é eficaz. Isto porque a maior parte do arsênio é excretada com poucas horas decorrentes da absorção (ATSDR, 2007). Por isso, a melhor estratégia é evitar situações de exposição a componentes arsenicais (KANG, 2012).

Propriedades próximas a indústrias que utilizam arsênio em sua produção devem realizar monitoramento eventual da qualidade da água de lagos e açudes, ou qualquer outra fonte natural que sirva para suprimento de água de beber dos animais, já que contaminação ambiental por arsênio sabidamente contribui para a exposição a longo prazo de animais de produção (HUEZA et al., 2008; DATTA et al., 2010). E situações onde os bovinos são expostos a pastagem contaminada com arsênio devem ser evitadas (DANTAS et al., 2012; SERODIO, 2014).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Dados epidemiológicos e clinicopatológicos

Dados epidemiológicos e clínicos foram investigados junto ao médico veterinário responsável e funcionários de uma propriedade rural de criação semi-intensiva de bovinos, na qual havia queixa de mortalidade no rebanho. Seis bovinos mortos foram submetidos ao exame de necropsia e amostras do fígado, rúmen, retículo, omaso, abomaso, músculo esquelético, coração, pele, intestinos grosso e delgado, pâncreas, glândulas adrenais, rins, bexiga, pulmão, linfonodos, baço, medula óssea, olho, cérebro e medula espinhal (segmentos cervical, torácico, lombar e sacral) foram coletadas, fixadas em formalina a 10% tamponada e processados através de técnicas histológicas de rotina, com excessão do

bovino E, que apresentava acentuado grau de autólise. As lâminas confeccionadas foram submetidas a coloração de hematoxilina e eosina, ácido periódico de Schiff (PAS) e coloração de Grocott.

3.2 Análise toxicológica

Para determinação toxicológica nos tecidos, fragmentos de fígado, rim, músculo esquelético e urina, além de amostras de pastagem, coletadas em diferentes locais na propriedade, foram encaminhadas para exame de espectrofotometria de absorção atômica com gerador de hidretos, no Centro de Análises Toxicológicas da Unesp, Campus de Botucatu (CEATOX). Para tal foi utilizado espectrofotômetro de absorção atômica otimizado para arsênio (GBC modelo 932 AA). Após mineralização de amostras em microondas (Provecto Analítica Ltda. Modelo DGT 100 plus), foi realizada leitura com feixe de 193,7 nm e limite de detecção em 0,5 ppm (ug/ml ou g).

4. RESULTADOS

4.1 Epidemiologia e avaliação clinicopatológica

Em maio de 2014, uma propriedade localizada no município de Barra do Ribeiro, Rio Grande do Sul, relatou um quadro de mortalidade em bovinos. Durante a visita técnica a propriedade se relatou a aplicação via aérea de um herbicida que contém em sua formulação metano arseniato ácido monossódico (MSMA), em pastagem de tifton (*Cynodon* sp.), para controle de pastagem invasora composta por capim-annoni (*Eragrostis plana*). O produto foi aplicado em dois momentos, com intervalo de 5 dias. A área pulverizada apresentava extensa dessecação do capim-annoni e no local haviam cerca de 200 bovinos (vacas de corte adultas, novilhas e terneiros), da raça Angus e mestiços, no momento das aplicações, os quais tiveram contato com o produto através de inalação, contato cutâneo e ingestão do pasto contaminado.

Poucas horas após a primeira aplicação, os bovinos apresentaram diarreia liquefeita em variados graus, anorexia, palidez de mucosas e severa desidratação. Cinco dias após primeira exposição dos animais, a pastagem recebeu uma segunda aplicação do herbicida contendo arsênio e, estes apresentaram piora do quadro clínico. Após esse episódio todos

foram removidos do local (Figura 4). No total, 16 bovinos morreram em até 20 dias, principalmente nos 10 primeiros dias após a exposição inicial. Seis bovinos foram submetidos a exame de necropsia (vacas adultas e novilhas). Dois bovinos foram necropsiados no dia quatro após exposição (Bovino A e B), três no dia seis (Bovino C, D e E) e um bovino no dia 10 (Bovino F). Os animais que sobreviveram recuperaram-se clinicamente, no entanto permaneceram com baixo ganho de peso por até 12 semanas após o surto, mesmo suplementados, segundo informações do veterinário.

Na necropsia, o rúmen de todos os animais avaliados estava repleto de conteúdo fibroso (forragem), com a mucosa difusamente avermelhada e com grandes úlceras multifocais a coalescentes, com até 4,5 cm de diâmetro, observadas no Bovino F. As regiões ulceradas apresentavam centro deprimido, avermelhado e bordos necróticos, bem como, ocasional desprendimento da mucosa adjacente (Figura 5-A). Os demais pré-estômagos e o abomaso estavam congestionados, com acentuado espessamento por edema da camada submucosa (Figura 5-B), hemorragia e avermelhamento multifocal das lâminas omasais (Bovinos C, D e F) e da mucosa do abomaso (Bovino F), além de hemorragia multifocal nas serosas (Figura 5-C, D). Nos intestinos grosso e delgado foram observados variados graus de congestão da serosa e mucosa, e lúmen repleto por conteúdo liquefeito, principalmente nos bovinos A e B. Em todos os casos, os rins apresentavam variados graus de congestão da região medular. As mucosas palpebral, oral e nasal estavam difusamente avermelhadas, de forma mais acentuada no Bovino F. Nesse também foram observados focos de hemorragia nas conchas nasais. Nos demais órgãos não foram visualizadas alterações macroscópicas significativas.



Figura 4 - Capim-annoni severamente dessecado, transcorridos 10 dias da primeira aplicação de MSMA sobre a pastagem.

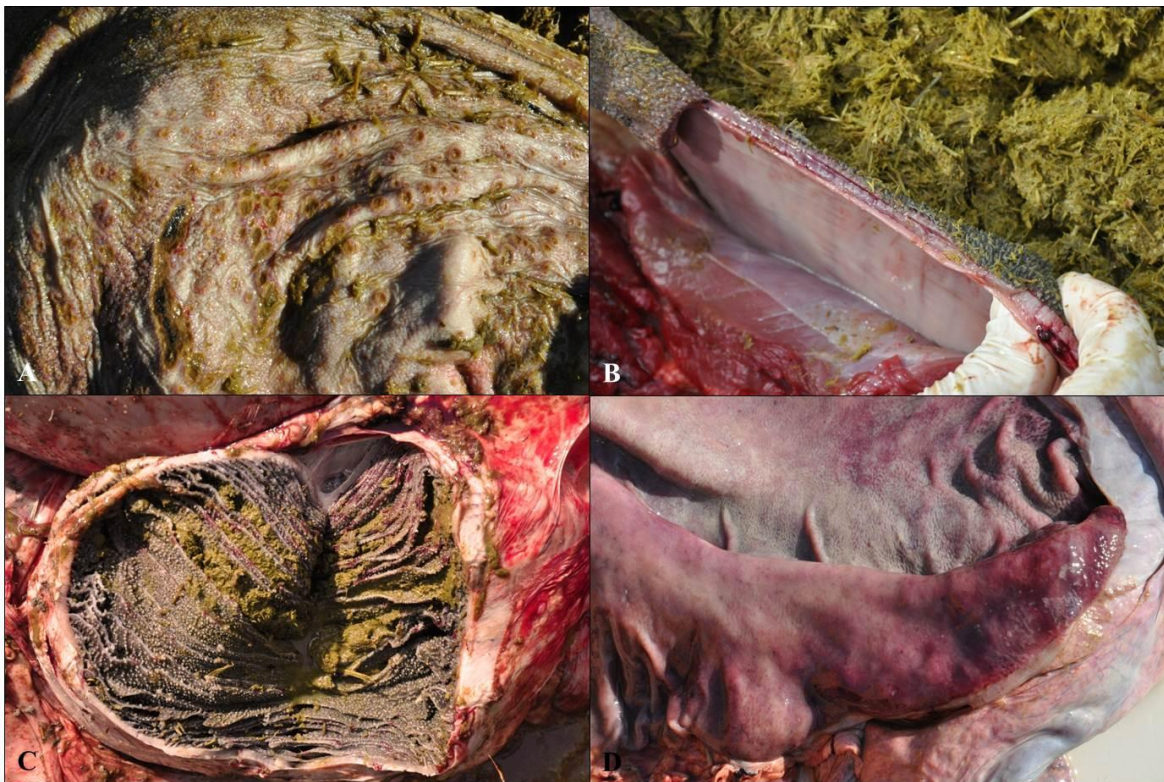


Figura 5 - Bovino. **A.** Rúmen. Observam-se úlceras multifocais a coalescentes, com área central deprimida, bem demarcadas por margem avermelhada na mucosa e recobertas por material amarelado (fibrina). Há ainda extensas áreas de desprendimento do epitélio da mucosa. **B.** Edema difuso da submucosa do rúmen. **C.** Omaso. Observam-se áreas multifocais de avermelhamento nas lâminas omasais. **D.** avermelhamento difuso da mucosa do abomaso.

A avaliação microscópica revelou, principalmente, necrose de arteríolas e capilares de pré-estômagos e trombose, associada a múltiplas áreas de infarto da mucosa e submucosa (Figura 6-A, B).

Na submucosa do rúmen e retículo dos Bovinos A e B, os vasos continham leve a moderado infiltrado intramural de neutrófilos degenerados e por vezes, necrose fibrinoide moderada, com extravasamento de fibrina e infiltrado inflamatório discreto a moderado de neutrófilos, macrófagos e plasmócitos, predominantemente no espaço perivascular. Ocasionalmente a vasculite e necrose vascular estavam associadas a pequenos focos de infarto em submucosa (Figura 7-A). Em ambos os animais evidenciou-se difuso e acentuado edema de submucosa. No epitélio estratificado de revestimento, eventualmente

havia formações de pequenas pústulas com deposição de neutrófilos degenerados (Figura 7-B). No omaso foi observada degeneração hidrópica discreta e multifocal do epitélio estratificado, além de congestão acentuada da mucosa e submucosa.

Nos bovinos C, D e F a necrose vascular no rúmen, retículo e omaso foi observada de forma mais intensa, na maioria das vezes associada à trombose e áreas mais extensas de infarto na mucosa e submucosa (Figura 7-C, D), sendo observado de forma mais branda, infiltrado inflamatório intramural, perivascular e edema de submucosa. Os vasos com necrose fibrinoide da parede apresentavam depósito hialino evidenciado pela coloração de ácido periódico de Schiff, além de acúmulo de material fibrilar, hemácias e células inflamatórias degeneradas em seu lúmen (trombo) (Figura 7-E,F).

No abomaso, em todos os casos, foi observada acentuada congestão e dilatação de capilares, assim como nos pré-estômagos. No Bovino F a mucosa do órgão continha discretas áreas de necrose com formação de discretas úlceras. Necrose vascular e trombose também foram observadas na mucosa nasal do bovino, associada a áreas de necrose, além de acentuada congestão e múltiplos focos de hemorragia, visualizada em todos os casos. Na bexiga do bovino B havia uma área focal de necrose e hemorragia abrangendo mucosa e submucosa. Os rins apresentaram congestão acentuada da região medular, com ocasional hemorragia e infiltrado inflamatório intersticial discreto de plasmócitos e linfócitos. No fígado havia congestão multifocal acentuada, por vezes associada à hemorragia discreta. Os linfonodos mesentéricos continham moderada quantidade de macrófagos com pigmento acastanhado e granular no citoplasma (hemossiderose). No pulmão de todos os bovinos foram observados variados graus de congestão e edema alveolar. Nos demais órgãos avaliados havia congestão difusa de capilares, por vezes associada a pequenos focos de hemorragia, principalmente no intestino delgado e grosso. A coloração de Grocott foi negativa para estruturas fúngicas nos órgãos avaliados (abomaso e pré-estômagos).

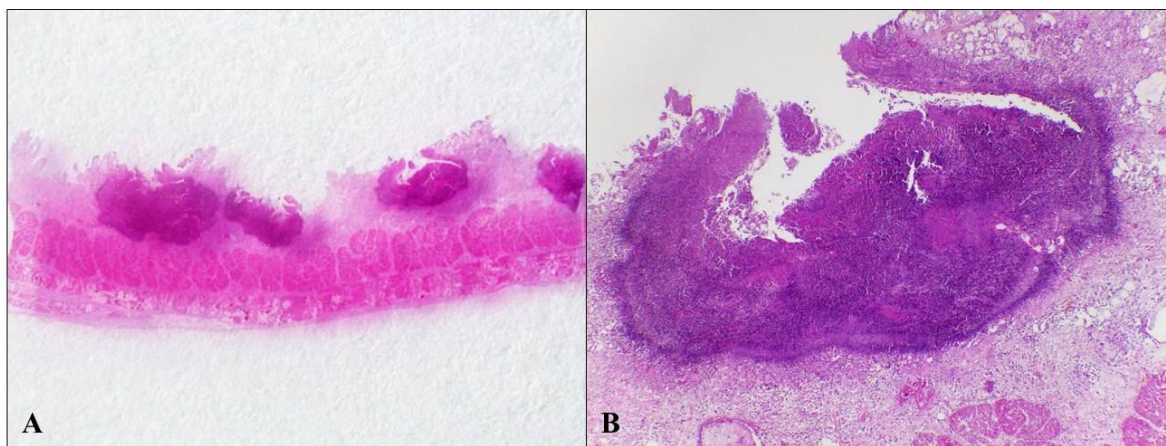


Figura 6 - Bovino. A. Rúmen. Aspecto submacroscópico. Nota-se infarto isquêmico multifocal estendendo-se da mucosa até a camada muscular externa do órgão. HE. B. Rúmen. Há área focal bem demarcada de necrose isquêmica abrangendo mucosa e submucosa do órgão. No centro da lesão há abundante quantidade de debris necróticos e deposição de fibrina. HE, 4x.

4.2 Avaliação toxicológica

A quantificação de arsênio nas amostras de tecido e urina demonstraram valores acima do limite de referência para bovinos (acima de 0,5 ppm ou $\mu\text{m.g}$) segundo Buck et al. (1976), Bahri & Romdane (1991) e Monies (1999). A concentração do elemento em amostras de urina de animais expostos por até 6 dias demonstraram valores significativos em relação aos demais tecidos, bem como o fígado e o músculo esquelético dos bovinos D e E. Valores abaixo do limite de referência foram somente evidenciados no bovino F. Os resultados estão descritos na Tabela 3.

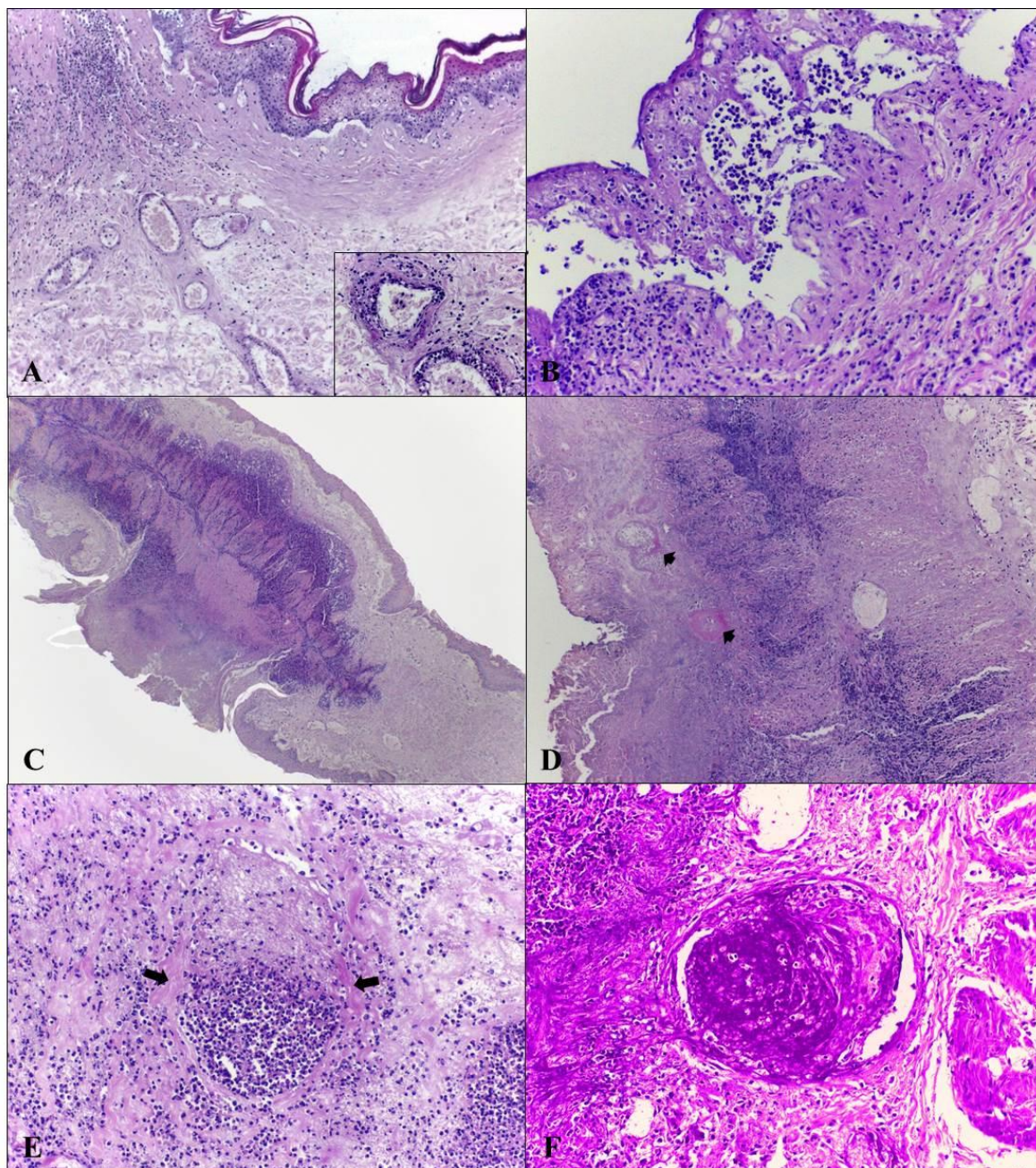


Figura 7 - Bovino. **A.** Rúmen. Na submucosa observa-se vasculite e necrose fibrinoide de arteríolas associada a foco de necrose e infiltrado inflamatório discreto a moderado de neutrófilos, macrófagos e plasmócitos. Há ainda acentuado edema na submucosa. No detalhe (canto inferior direito), evidencia-se moderado infiltrado de neutrófilos degenerados na parede dos vasos e moderada necrose fibrinoide. HE, 4x. **B.** Rúmen. Desprendimento epitelial focalmente extenso com formação de pústula preenchida por neutrófilos, além de leve vacuolização do epitélio estratificado e infiltrado neutrofílico moderado na lâmina própria. HE, 20x. **C.** Omaso. Área focalmente extensa de necrose isquêmica na lâmina omasal, abrangendo significativamente o epitélio de revestimento da mucosa, estendendo-se à submucosa, muscular da mucosa e muscular externa. HE, 4x. **D.** Omaso. A fotomicrografia anterior está ampliada e visualiza-se alguns vasos na submucosa com necrose fibrinoide da parede e trombose (setas). O tecido epitelial, conjuntivo e muscular estão substituídos por debris necróticos e deposição de fibrina. HE, 10x. **E.** Retículo. Vaso com marcada necrose fibrinoide da parede, com perda da estrutura (setas). Observa-se acentuado infiltrado inflamatório composto por neutrófilos íntegros e degenerados, no espaço perivascular e na parede

vascular. No lúmen há moderado agregado de fibrina, debris celulares e leucócitos. HE, 40x. **F.** Vaso com necrose fibrinoide da parede, com depósito hialino evidenciado pela coloração de ácido periódico de Schiff (PAS), e acúmulo de material fibrilar e detritos necróticos em seu lúmen (trombo). PAS, 40x.

Tabela 3. Quantificação de arsênio total nas amostras de tecido e urina de bovinos necropsiados e da pastagem em três períodos de tempo distintos.

Exposição ao herbicida	4 Dias		6 Dias			
	Bovino	Bovino	Bovino	Bovino	Bovino	Bovino
Material	A	B	C	D	E	F
Fígado	5, 5 µm.g	2, 2 µm.g	16, 0 µm.g	1, 5 µm.g	*	< 0, 5 µm.g
Rim	4, 6 µm.g	3, 3 µm.g	7, 2 µm.g	2, 8 µm.g	*	< 0, 5 µm.g
Músculo esquelético	*	*	< 0, 5 µm.g	7, 4 µm.g	7, 6 µm.g	< 0, 5 µm.g
Urina	15, 9 µm.g	6, 9 µm.g	57, 8 µm.g	*	*	*
	4 Dias		6 Dias		10 Dias	
Pastagem	29, 2 µm.g		46,9 µm.g		< 0, 5 µm.g	

Legenda: *Material não avaliado

5. DISCUSSÃO

O diagnóstico de intoxicação por arsênio orgânico MSMA neste surto foi baseado nos dados epidemiológicos, achados clinicopatológicos e na análise toxicológica. A apresentação subaguda foi caracterizada pelo desenvolvimento do quadro clínico em até 20 dias, neste período houve a recuperação de cerca de 90% dos bovinos, além da morte de 16 animais entre vacas, novilhas e terneiros, principalmente nos primeiros 10 dias após exposição inicial ao produto.

Os sinais clínicos de diarreia e intensa desidratação provavelmente contribuíram para a morte dos bovinos. Em seu levantamento, Bertin et al. (2013) sugeriram que o prognóstico estava mais associado à intensidade da desidratação do que às lesões teciduais observadas.

Semelhante ao quadro clínico de humanos, que desenvolvem choque hipovolêmico devido à transudação gastrointestinal de líquidos e dano capilar generalizado (KATZUNG et al., 2014). Apesar da afirmação de Bertin et al. (2013), em casos de acometimento grave da mucosa gástrica, como observado no bovino F, uma possível septicemia bacteriana também deve ser considerada, já que esta pode ocorrer secundariamente a ruminite (RADOSTITS et al., 2007).

Osweiler (1998) descreve que os efeitos clínicos dependem da forma química e do estado de oxidação (trivalente ou pentavalente) do arsênio. Em geral, as formas orgânica e inorgânica afetam primariamente o trato digestivo, fígado e rim. O estado pentavalente pode acumular-se no sistema nervoso, pela facilidade de atravessar membranas biológicas importantes, tais como barreiras hematoencefálica e placentária. Entretanto, os bovinos examinados neste surto não apresentaram sinais clínicos nervosos ou alterações anatomopatológicas no sistema nervoso central.

Com exceção do bovino F, os níveis de arsênio em todos os demais estavam acima do limite de referência para a espécie, de 0,5 µg/g ou ppm (BUCK et al., 1976; BAHRI & ROMDANE, 1991; MONIES, 1999).

Os valores encontrados no fígado variaram entre >0,5 à 16,0 ppm, no rim >0,5 à 7,2 ppm, no músculo esquelético >0,5 à 7,6 ppm e na urina entre 6,9 à 57,8 ppm. Corroborando com a afirmação de alguns autores, de que a concentração varia de acordo com o tecido ou material analisado. Além deste fator, também há correlação com o tempo de exposição e a dose ingerida (HUMPHREYS, 1988; MONIES, 1999; NEIGER, 2004; BERTIN et al., 2013).

Bovinos submetidos ao exame de necropsia logo após a primeira exposição ao MSMA continham níveis mais altos de arsênio na urina (Bovinos A e C – necropsiados um dia após exposição) e, o bovino que morreu no 10º dia (cinco dias após exposição) apresentou níveis dentro da normalidade (Bovino F). A rápida eliminação do metaloide do organismo pode ter sido responsável por esse resultado.

Após a biotransformação do arsênio, principalmente no fígado, os compostos metilados são rapidamente excretados por via urinária (HUEZA et al., 2008). E quanto mais agudo o quadro clínico maior é a quantificação do metaloide na urina e em tecidos, do contrário a

deteção fica prejudicada (HATCH & FUNNELL, 1969; BARTÍK & PISKACĚ, 1981; BERA et al., 2010; DATTA et al., 2010).

Na pastagem, uma maior concentração de arsênio foi detectada após a segunda aplicação do herbicida, e a concentração foi reduzida após transcorridos cinco dias. A diminuição do nível do metaloide na pastagem pode ter sido influenciada pela ocorrência de chuva no período entre a segunda aplicação e a determinação de arsênio no dia 10.

Em dois bovinos deste surto concentrações acima do limiar tóxico foram detectadas na musculatura esquelética. Este resultado denota uma importante preocupação em relação ao consumo da carne de animais de rebanho intoxicados por arsênio. McClanahan (2003) cita que a carne e leite de bovinos que ingeriram quantidades tóxicas de arsênio pode ser considerada imprópria para consumo humano. Datta et al. (2010) detectaram quantidades significativas de arsênio em produtos derivados do leite de vacas expostas cronicamente e a longo prazo ao metaloide e concluíram que esse pode ser um fator de risco para carcinogênese em humanos expostos continuamente a produtos contaminados.

Em relação às alterações macroscópicas e microscópicas, observou-se que os bovinos que morreram agudamente, dois dias após exposição ao MSMA, apresentavam de forma mais significativa edema de submucosa e vasculite de capilares e arteríolas em pré-estômagos, enquanto que nos bovinos expostos por mais de uma vez, que morreram após seis dias, observou-se ainda, necrose fibrinoide acentuada de arteríolas e capilares, na maioria das vezes associada à trombose com múltiplas áreas de infarto. No entanto, o edema de submucosa foi menos frequente. Lesões vasculares semelhantes também foram observadas no intestino de equinos intoxicados por arsênio pentavalente inorgânico. Os autores sugeriram, neste caso, a vasculite necrotizante como mecanismo patogênico para necrose da mucosa. (PACE et al., 1997).

Considerando a rápida excreção de arsênio do organismo (HUEZA et al., 2008), pode-se inferir que o contato com o metaloide ao longo de alguns dias em repetidas exposições pode ter contribuído para o cronicidade das lesões nos bovinos C, D e F deste surto, quando comparado ao curso agudo da doença.

Diferentemente da enterite e tiflo-colite em bovinos e equinos intoxicados por arsênio, como descrito por Bertin et al. (2013) e Pace et al. (1997), respectivamente, não foram

observadas lesões ulcerativas no intestino dos bovinos deste surto, apesar da diarreia ter sido o principal sinal clínico observado. A diarreia observada nos bovinos pode ocorrer devido a severa transudação plasmática, secundária ao aumento da permeabilidade capilar (OSWEILER, 1998).

Pace et al. (1997) concluíram que há uma associação entre lesão direta na mucosa e injúria vascular sistêmica do arsênio, e que as duas coisas contribuem para as alterações observadas na mucosa gastrointestinal. Anteriormente a ação sistêmica era unicamente considerada. Isto porque estudos demonstraram que a injeção parenteral de arsênio promoveu no intestino as mesmas lesões observadas quando da ingestão do metaloide (BARTÍK & PISKAČ, 1981). No entanto, as alterações degenerativas no epitélio gástrico em bovinos indicam que também há ação direta do arsênio (VALENTINE et al., 2007; BERTIN et al., 2013). Isso explica parcialmente o fato dos órgãos digestivos, principalmente pré-estômagos, nos bovinos desse surto serem mais afetados que os demais, uma vez que, o contato inicial do arsênio ocorre com a mucosa gástrica, devido ingestão do MSMA na pastagem.

Apesar das alterações vasculares serem incriminadas como fator desencadeante para as alterações degenerativas e necróticas, as mesmas são pouco mencionadas nas descrições dos surtos por arsênio inorgânico em bovinos (OSWEILER, 1998; DANTAS et al., 2012; BERTIN et al., 2013). Como na maioria dos casos descritos a intoxicação ocorreu em curso agudo, é possível que as lesões vasculares observadas se restringissem a congestão de capilares com edema adjacente devido ao aumento da permeabilidade.

O mecanismo específico do arsênio sobre as células endoteliais de pequenos e grandes vasos é pouco conhecido. A patogênese da necrose vascular nestes bovinos pode ser semelhante à lesão vascular dermal promovida por arsênio inorgânico em humanos, na enfermidade chamada de *Blackfoot disease*. Essa doença é caracterizada por alteração vascular periférica, que em estágios iniciais cursa com espessamento, necrose fibrinoide da parede de arteríolas subcutâneas e trombose, evoluindo para gangrena de extremidades (mãos e pés) (HUGHES, 2002; YU et al., 2002). Sabe-se que há ação sistêmica sobre os capilares, promovendo aumento da permeabilidade e comprometimento da integridade capilar (OSWEILER, 1998; MONIES, 1999). Os capilares afetados perdem a sua capacidade de contratilidade e dilatação, que é reversível em estágios iniciais, causando diminuição da pressão sanguínea, o que pode contribuir para o processo de trombose

desencadeado, além de congestão e transudação de plasma e soro. Enquanto a ingestão de altas doses promove paralisia da parede dos capilares, havendo colapso, devido à queda na pressão sanguínea e choque circulatório (BARTÍK & PISKAČ, 1981). Além disso, os mesmos autores referiram o fato de que danos à membrana de células endoteliais parecem ser o efeito primário da ação tóxica do arsênio, levando a aumento da permeabilidade e exsudação de plasma.

É possível que a redução da capacidade de contratilidade capilar ocorra devido interferência na produção de energia oxidativa celular (HUEZA et al., 2008). Essa interferência é produzida pelo arsênio devido sua ligação a algumas macromoléculas, especialmente as enzimas sulfidrílicas, tais como o piruvato desidrogenase, cuja inibição compromete a formação da acetilcoenzima A e, conseqüentemente, a diminuição na produção do ATP (HUEZA et al., 2008). Além deste fator, sugere-se que os efeitos tóxicos possam dever-se a sua redução para a forma trivalente durante metabolização (HUGHES, 2002).

Como foi descrito anteriormente, o As^V é reduzido à sua forma trivalente, que posteriormente sofre metilação e gera compostos que podem ser excretados mais facilmente na urina (ATSDR, 2007). No entanto, em determinada etapa deste processo são formados metabólitos tóxicos altamente reativos, seriam as formas metiladas trivalentes, que parecem atuar de forma semelhante ao As^{III} nos tecidos (SILVA, 2014).

Os intermediários reativos MMA^{III} e DMA^{III} foram detectados na urina de seres humanos cronicamente expostos ao arsênio, e estudos *in vitro* demonstraram que essas formas são mais tóxicas do que o arsenito ou arseniato (que são formas trivalentes inorgânicas) sobre hepatócitos, ceratinócitos epidérmicos e células epiteliais brônquicas. (ATSDR, 2007). Apesar do arsênio ser rapidamente excretado, a meia vida biológica dos compostos arsenicais metilados em humanos pode ser de aproximadamente 30 dias (SILVA, 2014). Contudo essa afirmação não está disponível em relação aos bovinos.

Portanto, nos casos de intoxicação por arsenicais pentavalentes, é possível que as lesões sejam desencadeadas por metabólitos intermediários trivalentes (MMA^{III} E DMA^{III}). Esse fato não corrobora a idéia de que os arsenicais orgânicos são “menos tóxicos” em relação a

forma inorgânica trivalente (HUGHES, 2002). Isso explicaria de certa forma a semelhança entre as lesões promovidas pelo arsênio orgânico e inorgânico, observadas neste estudo.

Entre os diagnósticos diferenciais da intoxicação por MSMA foram considerados principalmente neste surto a enterite por *Salmonella* sp., devido a diarreia profusa observada em todo o rebanho (MONIES, 1999; BROWN et al., 2007). No entanto, microscopicamente as alterações intestinais foram pouco significativas e a ruminite, reticulite e omasite ulcerativa não eram compatíveis com o diagnóstico de salmonelose. A alta taxa de morbidade do rebanho e o rápido desenvolvimento de diarreia após contato com o MSMA na pastagem foi fortemente sugestivo de enterite tóxica. Apesar disso, é provável que lesões subagudas causadas pelo arsênio possam pré-dispor infecções bacterianas secundárias no intestino. A infecção secundária por *Aspergillus* sp. e zigomicetos também pode ser considerada como diagnóstico diferencial, devido a trombose e vasculite observadas, sobretudo no rúmex e omaso (RADOSTITS et al., 2007). Entretanto não foram evidenciadas estruturas fúngicas nas colorações de PAS e Grocott.

6. CONCLUSÕES

Com base nas lesões observadas neste estudo é possível concluir que o arsênio orgânico MSMA promove predominantemente necrose isquêmica multifocal, da mucosa de pré-estômagos, devido a danos na vasculatura, caracterizados por necrose fibrinoide da parede de arteríolas e capilares e trombose. A patogênese dessas lesões vasculares, desencadeadas pela toxicodinâmica do metaloide, necessita ser melhor elucidada em estudos futuros.

As lesões macroscópicas e microscópicas em curso subagudo são semelhantes às alterações promovidas na forma aguda da enfermidade em bovinos, porém de maior cronicidade.

A lesões observadas nesse surto, promovidas por MSMA, são similares àquelas das intoxicações por formas trivalentes inorgânicas do arsênio em bovinos.

A urina é um bom material para determinação do arsênio em até 48h em bovinos intoxicados.

A utilização de agrotóxicos que contém arsênio orgânico em sua composição deve ser cautelosa, evitando-se o contato de animais em pastagens recém-pulverizadas.

REFERÊNCIAS

ALBO, G., NEBBIA, C. Incidence of Poisonings in Domestic Carnivores in Italy. **Vet. Res. Comm.**, v.28, p.83–88, 2004.

ANDERSON, R.K., THOMPSON, M., CULBARD, E. Selective reduction of arsenic species by continuous hydride generation. Part I. Reaction media. **Analyst**, v.10, n.111, p.1143-1152, 1986.

ARMAS, E.D.D., MONTERO, R.T.R., ANTUMES, P.M., SANTOS, M.A.P.F.D., CAMARGO, P.B.D., ABAKERLI, R.B. Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do Rio Corumbataí e principais afluentes. **Quím. Nov.**, v.30, n.5, p.1119-1127, 2007.

ASHRAFIHELAN, J., AMOLI, J.S., ALAMDARI, M., ESFAHANI, T.A., MOZAFARI, M., NOURIAN, A.R., BAHARI, A.A. Arsenic toxicosis in sheep: The first report from Iran. **Interdiscip. Toxicol.**, v.6, n.2, p.93–98, jun. 2013.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxicological profile for arsenic**. 2007. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp2.pdf>> Acesso em: 14 jun. 2014.

BAHRI, L.E, ROMDANE, S.B. Arsenic poisoning in livestock. **Vet. Human Toxicol.**, v.33, n.3, p. 259-264, 1991.

BARRA, C.M, SANTELLI, R.E., ABRÃO, J.J., DE LA GUARDIA, M. Especificação de arsênio – uma revisão. **Quím. Nov.** v.23, n.1, p.58–70, 2000.

BARROS, C.S.L., DRIEMEIER, D. Intoxicação por organofosforados e carbamatos. In: RIET- CORREA, F., SCHILD, A.L., LEMOS, R.A.A., BORGES, J.R.J. (Orgs.). **Doenças de ruminantes e equinos**. 3th ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. p.80-85.

BARROS, C.S.L., DRIEMEIER, D., DUTRA, I.S., LEMOS, R.A.A. **Doenças do Sistema Nervoso de Bovinos no Brasil**. São Paulo: AGNS, 2006. 207p. (Coleção Vallée).

BARTÍK, M., PISKAČ, A. **Veterinary Toxicology**. 7.ed. New York: Elsevier, 1981. 346p.

BENITE, A.M.C., MACHADO, S.P., BARREIRO, E.J. Uma visão da química bioinorgânica medicinal. **Quím. Nova**, v.30, n.8, p.2062-2067, nov. 2007.

BERA, A.K., RANA, T., DAS, S., BHATTACHARYA, D., BANDYOPADHYAY, S., PAN, D., DE, S., SAMANTA, S., CHOWDHURY, A.N., MONDAL, T.K., DAS, S.K. Ground water arsenic contamination in West Bengal, India: A risk of sub-clinical toxicity in cattle as evident by correlation between arsenic exposure, excretion and deposition. **Toxicol. Ind. Health**, v.26, n.x, p.709–716, 2010.

BERGELAND, M.E., RUTH, G.R., STACK, R.L., EMERICK, R.J. **Arsenic toxicosis in cattle associated with soil and water contamination from mining operations**. Annual Proceedings American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians. 19 th. 1976. Disponível em: <http://www.researchgate.net/publication/236515595_Arsenic_toxicosis_in_cattle_associated_with_soil_and_water_contamination_from_mining_operations>. Acesso em: 02 out. 2015.

BERTIN, F.R., BASELER, L.J., WILSON, C.R., KRITCHEVSKY, J.E., TAYLOR, S.D. Arsenic Toxicosis in Cattle: Meta-Analysis of 156 Cases. **J. Vet. Intern. Med.**, v.27, p.977–981, maio 2013.

BRASIL. Agência Nacional de vigilância Sanitária. **Monografias Autorizadas. MSMA**. Brasília, DF, 2015. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Monografias+de+Agrotoxicos/Monografias>>. Acesso em: 03 set. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa nº 42, de 20 de dezembro de 1999**. Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCR e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel – PCRM, Leite – PCRL e Pescado – PCRP. Brasília, 1999, 61p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Portaria nº 31, de 29 de janeiro de 2002**. Brasília, 2002.

BROWN, C.C., BAKER, D.C., BARKER, I.K. Alimentary system. In: MAXIE M.G. (Org.). **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 5th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. p.1-296.

BUCK, W.M., OSWEILER, G.D. Arsenic I: Inorganic, Aliphatic, and Trivalent Organic Arsenicals. **Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology**. 2th ed. Dubuque: Kendall-Hunt, 1976. p.281-288.

BURGAT, V., KECK, G., GUERRE, P., BIGORRE, V., PINEAU, X. Glyphosate toxicosis in domestic animals: a survey from the data of the Centre National d'Informations Toxicologiques Veterinaires (CNITV). **Vet. Human Toxicol.**, v.40, n.6, p.363-367, 1998.

BURGUERA, M., BURGUERA, J.L., BRUNETTO, M.R., DE LA GUARDIA, M., SALVADOR, A. Flow-injection atomic spectrometric determination of inorganic arsenic(III) and arsenic(V) species by use of an aluminium-column arsine generator and cold-trapping arsine collection. **Anal. Chim. Acta**, v.261, n.1/2, p.105-113, maio 1991.

CAI, Q.A., MEI-LI, L.B., MING, Z.A., QING-ZHEN, Z.B., LING, Z.A., JIE, L. Food chain transfer of cadmium and lead to cattle in a lead-zinc smelter in Guizhou, China. **Environment. Pollution**, v.157, n.11, p.3078-3082, nov. 2009.

CALVERT, C.C., SMITH, L.W. Arsenic in tissues of sheep and milk of dairy cows fed Arsanilic Acid and 3-Nitro-4-Hydroxyphenylarsonic Acid, **J. Anim. Sci.**, v.51, n.2, p.414-421, 1981.

CANTONI, M. **Arsênio em solos do estado de São Paulo: método analítico, concentração de base e absorção.** 86 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico de Pós-graduação, Campinas, 2010.

CARVALHO, J.A., WERLANG, R.C., PARO, P.H.Z., FINOTTI NETO, E. Controle químico de *Brachiaria decumbens* em pastagem de *Cynodon dactylon* híbridos Coast-cross e Tifton 85. **Rev. Bras. de Herbicidas**, v.4, n.1, p.105-111, 2005.

DANTAS, G.N, SANTA ROSA, B.P., CAGNINI, D.Q., CAVALCANTI, R.M., CHIACCHIO, S.B., GONÇALVES, R.C., RIET-CORREA, F., BORGES, A.S. Intoxicação aguda por metano arsonato ácido monossódico em bovinos. **Pesq. Vet. Bras.**, v.32, n.12, p.1239-1245, dez. 2012.

DATTA, B.K., MISHRA, A., SINGH, A., SAR, T.K., SARKAR, S., BHATACHARYA, A., CHAKRABORTY, A.K., TAPAN, K.M. Chronic arsenicosis in cattle with special reference to its metabolism in arsenic endemic village of Nadia district West Bengal India. **Scien. Tot. Environ.**, v.409, n.2, p.284-288, nov. 2010.

DAVEY, D.C. Arsenic Poisoning in Cattle. **Can. J. Comp. Med.**, v.5, n.9., p.268-269, set. 1941.

DICKINSON, J.O. Toxicity of the arsenical herbicide monosodium acid methanarsonate in cattle. **Am. J. Vet. Res.**, v.33, p.1889-1893, 1972.

DÖBEREINER, J., CAMARGO, W.V.A., VALENTE, F.A.T., ALENCAR FILHO, R.A., CANELLA, C.F.C., TOKARNIA, C.H.. Perfuração do abomaso e da parede abdominal na intoxicação de bovinos por arsênio. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.2, n. 1, p.293-299, jan.1967.

FAGNANI, R., BELOTI, V., BATTAGLINI, A. P.P., DUNGA, K.S., TAMANINI, R. Organophosphorus and carbamates residues in milk and feedstuff supplied to dairy cattle. **Pesq. Vet. Bras.**, v.31, n.7, p.598-602, jul. 2011.

FAGUNDES, M.Z., GONÇALVES, M.A., SOARES, M.P., MARTINS, M.L., ZANELLA, R., RIET-CORREIA, F., ANJOS, B.L. Clinicopathological and toxicological aspects of poisoning by the clomazone herbicide in sheep. **Small Rumin. Res.**, v.124, p.120-126, mar. 2015.

FAIRES, M.C. Inorganic arsenic toxicosis in a beef herd. **Can. Vet. J.**, v.45, n.4, p.329-331, abril 2004.

FERREIRA, F.A.G. **Toxicidade e remoção de arsênio pela cianobactéria *Microcystis novacekii***. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

FLORIAN, A. Preservativos de madeira e suas características. **Revista da Madeira, Santa Catarina, mar. de 2013**. Preservantes, p.32-37. Disponível em: <http://www.remade.com.br/br/revistadamadeira_materia.php?num=1652&subject=Preservante&title=Principais%20agentes%20deterioradores%20de%20madeiras>. Acesso em: 28 out. 2015.

GONTIJO, B., BITTENCOURT, F. Arsênio - Uma revisão histórica. **An. Bras. Dermatol.**, v.80, n.1, p.91-5, jan./fev. 2005.

GRAEME, K.A., POLLACK, JR.C.V. Heavy metal toxicity. Part 1. Arsenic and mercury. **J. Emerg. Med.**, v.16, n.1, p.45-56, jan./fev. 1998.

GWALTNEY-BRANT, S.M. Heavy Metals. In: HASCHEK, W.M., ROUSSEAU, C.G., WALLIG, M.A. **Handbook of Toxicologic Pathology**. 2th et. California: Elsevier Science, 2002. p.700- 730.

HATCH, R.C., FUNNELL H.S. Inorganic arsenic levels in tissues and ingesta of poisoned cattle: an eight-year survey. **Can. Vet. J.** v.10, n.5, mai. 1969.

HUEZA, I.M., SANT´ANA, M.G., PALEMO-NETO, J. Toxicologia do chumbo, mercúrio, arsênio e de outros metais. In: SPINOSA, H.S., GÓRNIK, S.L., PALERMO-NETO, J. (Orgs.). **Toxicologia aplicada à Medicina Veterinária**. São Paulo: Manole, 2008. p.641-662.

HUGHES, M.F. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. **Toxicol. Lett.**, v.133, n.1, p.1–16, jul. 2002.

HUGHES, M.F., BECK, B.D., CHEN, Y., LEWIS, A.S., THOMAS, D.J. Arsenic exposure and toxicology: a historical perspective. **Toxicol. Scienc.**, v.123, n.2, p.305-332, jun 2011.

HUMPHREYS, D.J. **Veterinary Toxicology**. 3th ed. England: Bailliere Tindall, 1988. 356p.

JENSEN, H.E., OLSENA, S.N., AALBEK, N.D.B. Gastrointestinal Aspergillosis and Zygomycosis of Cattle. **Vet. Pathol.**, v.31, n.1, p:28-36, jan. 1994.

KANG, J.Y. Respostas tóxicas do coração e do sistema cardiovascular. In: KLASSEN, C. D., WATKINS III, J.B. (Orgs.). **Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull**. 2th ed. São Paulo: Artmed, 2012. p.250-267.

KAPP, R. Arsenic. In: ANDERSON, B., PEYSTER, A., GAD, S.C., HAKKINEN, P.J.B., KAMRIN, M., LOCEY, B., MEHENDADE, H.M., POPE, C., SHUGART, L., WEXLER, P. (Orgs.). **Encyclopedia of Toxicology**. San Diego: Academic Press, 2005. p.168-171.

KATZUNG, B.G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, J.A. **Farmacologia Básica e Clínica**. 14 ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

KEENAN, D.M. OE, R.D. Acute arsanilic acid intoxication in pigs. **Aust. Vet. J.**, v.49, p.229-231, 1973.

LIU, J., GOYER, R.A., WAALKES, M.P. Efeitos Tóxicos dos Metais. In: KLASSEN, C. D., WATKINS III, J.B. (Orgs.). **Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull**. 2th ed. São Paulo: Artmed, 2012. p.325-336.

LÓPEZ ALONSO, M., BENEDITO, J.L., MIRANDA, M., CASTILLO. C, HERNÁNDEZ, J., SHORER, R.F. Arsenic, cadmium, lead, copper and zinc in cattle from Galicia, NW Spain. **Sci. Total Environment.**, v.246, n.x, p.237-248, nov. 2000.

LUCCHESI, G. Biblioteca Digital da Câmara dos Deputados. **Agrotóxicos: construção da legislação**. 2005. Disponível em: http://www.sifloresta.ufv.br/bitstream/handle/123456789/3885/texto_Agrot%C3%B3xicos-Constru%C3%A7%C3%A3o-da-Legisla%C3%A7%C3%A3o_Camara-Deputados.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 23 out. 2015.

MARÇAL, W.S., VILLEGAS-NAVARRO, A., NASCIMENTO, M.R.L., GUERRA, A. P., FUJIHARA, C.J., BRUSCHI, A.B.M. Bovinos e equinos como bioindicadores da poluição ambiental. **R. bras. Ci. Vet.**, v.1, n.1, p.16-20, jan./abr. 2003.

McCLANAHAN, S., AMESA, T., MURPHY, M. Arsenic poisoning of beef cattle herd. **Minnesota Beef Cow/Calf Days**, v.4, p.83-87, 2003.

MÉNDEZ, M.C., RIET-CORREA, F. Intoxicação por cobre. In: RIET-CORREA, F., SCHILD, A.L., LEMOS, R.A.A., BORGES, J.R.J. (Orgs.). **Doenças de ruminantes e equinos**. 3th ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. p.62-68.

MERWIN I., PRUYNE P.T., EBEL, J.G., MANZELL, K.L., LISK, D.J. Persistence, phytotoxicity, and management of arsenic, lead and mercury residues in old orchard soils of New York State. **Chemosphere**, v.29, n.6, p.1361-1367, set. 1994.

MINERVINO, A.H.H.; BARRÊTO JÚNIOR, R.A., FERREIRA, R.N.F., SAUT, J.P.E., MEIRA JÚNIOR, E.B.S., RODRIGUES, F.A.M.L., NAKAGAWA, T.L.D.R., HEADLEY, S.A., ORTOLANI, E.L. Intoxicação cúprica acumulativa em búfalos. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v.30, n.2, p.407-416, abr./jun. 2009.

MONIES, B. Arsenic poisoning in cattle. **In Pract.**, v.21, n.10, p.602-607, 1999.

NEIGER, R., NELSON, N., MISKIMINS, D., CASTER, J., CASTER, L. Bovine arsenic toxicosis. **J. Vet. Diagn. Invest.**, v.16, n.5, p.436-438, set. 2004.

NELSON, H.A., CRANE, M.R. TOMSON, K. Inorganic arsenic poisoning in pastured feeder lambs. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.158, p.1943-1945, 1971.

OLIVER, W.T., ROE, C.K. Arsanilic acid poisoning in swine. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.130, p.177-178, 1957.

OSWEILER, G.D. **Toxicologia Veterinária**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1998. 526p.

PACE L.W., TURNQUIST, S.E., CASTEEL, S.W., JOHNSON, P.J. FRANKENY, R.L. Acute Arsenic Toxicosis in Five Horses. **Vet. Pathol.**, v.34, n.x, p.160-164, mar. 1997.

PAN, D., DE, S., SAMANTA, S., CHOWDHURY, A.N., MONDAL, T. K., KUMAR DAS, S. Ground water arsenic contamination in West Bengal, India: A risk of sub-clinical toxicity in cattle as evident by correlation between arsenic exposure, excretion and deposition. **Toxicol. Ind. Health**, v.26, n.10, p.709-716, jul. 2010.

PAULINO, C.A. Toxicologia dos herbicidas, fungicidas e acaricidas. In: SPINOSA, H.S., GÓRNIK, S.L., PALERMO-NETO, J. (Orgs.). **Toxicologia aplicada à Medicina Veterinária**. São Paulo: Manole, 2008. p.641-662.

PERES, J.A. **Bovinos como bioindicadores da poluição ambiental por chumbo na região de Guarapuava – PR**. 88 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

RADOSTITS, O.M., GAY, C.C., BLOOD, D.C., HINCHCLIFF, K.W. **Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats**. 10th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. 1737p.

RAIKWAR, M., KUMAR, P., SINGH, M., SINGH, A. Toxic effect of heavy metals in livestock health. **Vet. World**, v.1, n.1, p.28-30, jan. 2008.

REVIERE, J.E., BOOSINGER, T.R., EVERSON, R.J. Inorganic arsenic toxicosis in cattle. **Mod. Vet. Pract.**, v.62, p.313-314, 1981.

RICE, D.A., McMURRAY, C.H., McCracken, R.M., BRYSON, D.G., MAYBIN, R. A field case of poisoning caused by 3-nitro-4-hydroxy phenyl arsenic acid in pigs. **Vet. Rec.** v.106, n.14, p.312-313, abr. 1980.

RIET-CORREA, F. Intoxicação por arsênio. In: RIET-CORREA, F., SCHILD, A.L., LEMOS, R.A.A., BORGES, J.R.J. (Orgs.). **Doenças de ruminantes e equinos**. 3th ed. Santa Maria: Pallotti, 2007a. p.50-51

RIET-CORREA, F. Plantas que afetam o sistema digestivo. In: RIET-CORREA, F., SCHILD, A.L., LEMOS, R.A.A., BORGES, J.R.J. (Orgs.). **Doenças de ruminantes e equinos**. 3th ed. Santa Maria: Pallotti, 2007b. p.161-172.

ROSSMAN, T.G., KLEIN, C.B. Genetic and epigenetic effects of environmental arsenicals. **Metallomics**, v.3, n.1, p.1135-41, nov. 2011.

SANCHES FILHO, P.J., FONSECA, V.K., HOLBIG, L. Avaliação de metais em pescado da região do Pontal da Barra, Laguna dos Patos, Pelotas-RS. **Ecotoxicol. Environ. Contam.**, v.8, n.1, p.105-111, nov. 2013.

SANOK, W.J, EBEL, J.G, JR, MANZELL, K.L, GUTENMANN, W.H., LISK, D.J. Residues of arsenic and lead in potato soils on long island. **Chemosphere**, v.30, n.4, p.803-806, fev 1995.

SELBY, L.A., CASE, A.A., OSWEILER, G.D., HAYES, J. H.M. Epidemiology and toxicology of arsenic poisoning in domestic animals. **Environ. Health Perspect.**, v.19, p.183-189, 1977.

SERODIO, P.S. **Identificação do dano causado pelo uso agrícola do ingrediente ativo metano - arseniato ácido monossódico (MSMA): uma reavaliação toxicológica.** 61 f. Dissertação (mestrado em Vigilância Sanitária) Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014.

SILVA, J.M.B., BARRIO, R.J., MOREIRA, J.C. Arsênico – saúde: uma relação que exige vigilância. **Vigil. Sanit. Debate**, v.2, n.1, p.57-63, fev 2014.

SUN, G. Arsenic contamination and arsenicosis in China. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v.198, n.3, p.268–271, Ago. 2004.

THATCHER, C.D., MELDRUM, J.B., WIKSE, S.E. WHITTIER, W.D. Arsenic toxicosis and suspected chromium toxicosis in a herd of cattle. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.187, p.179-182, 1985.

TRISENOX ®: solução injetável. Responsável técnico Marcia da Costa Pereira. Wales-Reino Unido: **Wockhardt UK Ltd**, 2015. Bula de remédio.

VALENTINE, B.A., RUMBEIHA, W.K., HENSLEY, T.S., HALSE, R.R. Arsenic and metaldehyde toxicosis in a beef herd. **J. Vet. Diagn. Invest.**, v.19, n.2, p.212-215, mar. 2007.

VINODHINI, R., NARAYANAN, M. Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). **Int. J. Environ. Sci. Tech.**, v.5, n.2, p.179-182, mar. 2008.

VORHIES, M.W., SLEIGHT, S.D. WHITEHAIR, C.K. Toxicity of arsanilic acid in swine as influenced by water intake. **Cornell Vet.**, v.59, p.3-9, 1969.

WESSELING, C., JOODE, B.V.W., RUEPERT, C., LEÓN, C., MONGE, P., HERMOSILLO, H., PARTANEN, T.J. Paraquat in Developing Countries. **Int. J. Occup. Environ. Health**, v.7, n.4, p.275-286, out. 2001.

YU, H., LEE, C., CHEN, G. Peripheral vascular diseases resulting from chronic arsenical poisoning. **J. Derm.**, v.29, n.3, p.123–130, mar. 2002.

APÊNDICE A**SPONTANEOUS SUBACUTE POISONING BY ORGANIC ARSENIC IN CATTLE**

Maiara Aline Gonçalves, Raquel Aparecida Sales da Cruz, Matheus de Oliveira Reis,

Saulo P. Pavarini, Luciana Sonne e David Driemeier

ARTIGO A SER SUBMETIDO PARA
JOURNAL OF VETERINARY DIAGNOSTIC INVESTIGATION

Spontaneous subacute poisoning by organic arsenic in cattle

Maiara A. Gonçalves, Raquel A. S. da Cruz, Matheus de O. Reis, Saulo P. Pavarini,
Luciana Sonne, David Driemeier

From the Department of Veterinary Pathology, College of Veterinary Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves 9090, 91540-000 Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail davetpat@ufrgs.br (Gonçalves, Cruz, Reis, Pavarini, Sonne and Driemeier).

Corresponding author- David Driemeier

F: 0055 51 33166107

FAX: 0055 51 33167305

E-mail: davetpat@ufrgs.br

Correspondence address:

Departamento de Patologia Clínica Veterinária

Faculdade de Veterinária.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Avenida Bento Gonçalves, n ° 9090.

91540-000 Porto Alegre RS, Brazil.

Abstract. O arsênio orgânico tem sido utilizado na formulação de alguns herbicidas e a intoxicação por esse metaloide envolvendo bovinos pode ser causada mediante ingestão acidental de pastagem contaminada por esse elemento. Duzentos bovinos (vacas e novilhas) que estavam sobre uma área pulverizada apresentaram intensa diarreia e desidratação e 16 animais morreram. Nível tóxico de arsênio ($>1,5 \mu\text{m.g}$) foi detectado no rim, fígado, urina e músculo esquelético. Lesões macroscópicas e microscópicas foram caracterizadas predominantemente por alterações vasculares com trombose associada à necrose da mucosa e submucosa de pré-estômagos, de forma semelhante ao observado na intoxicação por arsenicais inorgânicos em animais e humanos.

Keywords – Organic arsenicals, Herbicide poisoning, Vascular necrosis, Toxicity, Bovine.

O arsênio é um metaloide ou semimetal encontrado nas formas orgânica e inorgânica em estado de oxidação trivalente (As^{III}) ou pentavalente (As^{V}).¹ Em animais a exposição a esse elemento dá-se através de pastagem contaminada com herbicidas que contém arsênio, pilhas e baterias incineradas e cinzas de madeiras tratadas com conservante a base do metaloide, ou ainda contaminação ambiental em regiões com altos níveis de arsênio veiculado pela água ou solo.^{4,10} A intoxicação ocorre com maior frequência em bovinos e está geralmente associada ao arsênio inorgânico trivalente.⁵ Animais intoxicados agudamente apresentam diarreia, desidratação, dor abdominal, atonia ruminal, depressão e morrem três a quatro horas após início dos sinais clínicos.¹⁷ Na necropsia há ulceração e/ou erosões multifocais nas mucosas gástricas, congestão, hemorragia, e proeminente edema de submucosas em casos agudos e subagudos.^{16,17} Este estudo apresenta os aspectos clínicos e patológicos observados em um surto espontâneo subagudo de intoxicação por arsênio orgânico em bovinos de corte.

Duzentas vacas adultas e novilhas de uma propriedade rural no sul do Brasil ingeriram acidentalmente pastagem contaminada com herbicida contendo metanoarseniato ácido monossódico (MSMA) aplicado em dois momentos para controle de capim-annoni (*Eragrostis plana*), com intervalo de cinco dias. Dois dias após a primeira aplicação todos os bovinos apresentaram diarreia, anorexia e severa desidratação. Cinco dias após a pulverização, uma segunda aplicação do herbicida foi realizada e os bovinos apresentaram piora do quadro clínico. Após esse episódio todos foram removidos do local. No total, 16 bovinos morreram e os demais apresentaram melhora clínica em até 20 dias. Após a primeira aplicação seis bovinos foram necropsiados. Dois bovinos foram necropsiados no dia quatro após exposição (Bovino 1 e 2), três no dia seis (Bovino 3, 4 e 5) e um bovino no dia dez (Bovino 6). Para análise histopatológica amostras de diversos tecidos foram coletadas e fixadas em solução de formol tamponado a 10%, embebidas em parafina, seccionadas em secções com 3µm e coradas com hematoxilina e eosina (HE) e ácido periódico de Shiff (PAS). Determinação do metaloide tóxico em fígado, rim, músculo esquelético, urina, além de pastagem coletada em diferentes momentos foi realizada por meio de espectrofotometria de absorção atômica com gerador de hidretos. Para isto, após mineralização de amostras em microondas (Provecto Analítica Ltda. Modelo DGT 100 plus), foi realizada leitura em espectrofotômetro de absorção atômica otimizado para arsênio (GBC modelo 932 AA) com feixe de 193,7 nm e limite de detecção em 0,5 ppm (ug/ml ou g).

Na necropsia, havia congestão de mucosas e focos de hemorragia nas conchas nasais e serosas dos pré-estômagos. O rúmen, em todos os casos, estava repleto de conteúdo não digerido, com a mucosa difusamente avermelhada. O Bovino 5 apresentou grandes úlceras multifocais a coalescentes com centro deprimido e bordos necróticos (Figura 1). Os demais pré-estômagos e o abomaso estavam congestionados, com espessamento acentuado da camada

submucosa por edema e, em todos os bovinos, havia hemorragia multifocal. Os rins apresentavam variado grau de avermelhamento da região medular. Nos demais órgãos não foram observadas alterações macroscópicas significativas.

A avaliação microscópica revelou principalmente, necrose de capilares e arteríolas de pré-estômagos. A mucosa e submucosa do rúmen, retículo e omaso apresentavam edema difuso moderado a acentuado, moderada vasculite de arteríolas e capilares na mucosa e submucosa, com infiltrado mural de neutrófilos degenerados e congestão acentuada. Os vasos com necrose fibrinoide da parede apresentavam depósito hialino evidenciado pela coloração de ácido periódico de Schiff, além de acúmulo de material fibrilar, hemácias e células inflamatórias degeneradas em seu lúmen (trombo). Além disso, observou-se nessas áreas abundante exsudação de fibrina, hemorragia e, por vezes, infiltrado inflamatório perivascular acentuado de neutrófilos íntegros e degenerados, macrófagos e plasmócitos associado a áreas multifocais de necrose na mucosa e submucosa (áreas de infarto) (Figura 2 e 3). Nos bovinos 3,4 e 6 a necrose fibrinoide de vasos e as áreas de infarto eram visualizadas de forma mais intensa. Ocasionalmente, nos casos mais agudos (bovino 1 e 2) haviam formações de pequenas pústulas com deposição de neutrófilos degenerados, vacuolização discreta e multifocal do epitélio da mucosa. Nos rins foi observada congestão leve a acentuada da região medular. As conchas nasais apresentavam congestão acentuada e hemorragia multifocal, bem como áreas de necrose da mucosa associadas à trombose. Os resultados para determinação de arsênio nas amostras de tecido, urina e pastagem podem ser visualizados na Tabela 1 respectivamente.

O diagnóstico de intoxicação por arsênio orgânico (MSMA) neste surto foi baseado nos achados epidemiológicos, clínicos, patológicos e análise toxicológica. A apresentação subaguda foi caracterizada pelo desenvolvimento do quadro clínico em até 20 dias, período

em que houve recuperação de cerca de 90% dos bovinos, e morte de 16 vacas, principalmente nos primeiros 10 dias após exposição ao produto. Os sinais clínicos aqui observados foram semelhantes aos descritos por outros autores na intoxicação por arsênio orgânico^{5,6,15,20}, e similares aos descritos na intoxicação aguda por arsênio inorgânico, com diarreia e intensa desidratação.^{8,13,14}

Com exceção do bovino 6, os níveis de arsênio em todos os bovinos estavam acima do limite de referência para a espécie, de 0,5 µg/g ou ppm.¹⁴ Há na literatura uma ampla faixa de valores teciduais para arsênio em bovinos intoxicados.^{5,12,15} Níveis variam entre 0,5 à 800 ppm em tecidos, e podem ser inferiores a 10 ppm passados alguns dias da exposição.¹⁵ Bovinos necropsiados logo após a primeira exposição ao MSMA continham níveis mais altos (bovinos 1 e 3), aqueles que morreram no 4º dia após exposição continham níveis mais brandos e, o bovino que morreu no 10º dia apresentou níveis dentro da normalidade. A rápida eliminação do metaloide do organismo pode ter sido responsável por esse resultado. Em humanos o MSMA é excretado em 24h após exposição e experimentalmente em ratos, camundongos e hamsters foi excretado em até 48h.¹ A pastagem apresentou maior concentração de arsênio após a segunda aplicação do herbicida, e menor concentração passados 10 dias da primeira aplicação. A diminuição do nível do metaloide na pastagem pode ter sido influenciado pela ocorrência de chuva no período entre a segunda aplicação e a determinação de arsênio na pastagem no dia 10.

Em relação às alterações macroscópicas e microscópicas, observou-se que os bovinos que morreram agudamente, dois dias após exposição ao MSMA, apresentavam de forma mais significativa edema de submucosa e vasculite de capilares e arteríolas em pré-estômagos, enquanto que nos bovinos expostos por mais de uma vez, que morreram após seis dias, observou-se ainda, necrose fibrinoide acentuada de arteríolas e capilares, na

maioria das vezes associada à trombose com múltiplas áreas de infarto. No entanto, o edema de submucosa foi menos frequente.

Considerando a rápida excreção de arsênio do organismo (HUEZA et al., 2008), pode-se inferir que o contato com o metaloide ao longo de alguns dias em repetidas exposições pode ter contribuído para o cronicidade das lesões nos bovinos 3, 4 e 6 deste surto quando comparado ao curso agudo da doença.

A necrose vascular em órgãos digestórios, bexiga e conchas nasais histologicamente assemelha-se à lesão vascular dermal descrita em humanos expostos cronicamente a altas doses de arsênio inorgânico, em uma enfermidade chamada de *Blackfoot disease*. A doença é caracterizada por alteração vascular periférica, que em estágios iniciais cursa com espessamento, necrose fibrinoide da parede de arteríolas subcutâneas e trombose, evoluindo para gangrena de extremidades (mãos e pés).^{11,21} O mecanismo do arsênio sobre as células endoteliais de pequenos e grandes vasos é pouco conhecido. Sabe-se que há ação sistêmica sobre os capilares, promovendo aumento da permeabilidade e comprometimento da integridade capilar.^{14,16} Capilares afetados perdem a sua capacidade de contratilidade e dilatação, causando diminuição da pressão sanguínea, o que pode contribuir para o processo de trombose desencadeado³. Além disso, os mesmos autores referiram o fato de que danos à membrana de células endoteliais parecem ser o efeito primário da ação tóxica do arsênio, levando a aumento da permeabilidade e exsudação de plasma. É possível que a redução da capacidade de contratilidade ocorra devido interferência na produção de energia oxidativa celular.¹⁰

Essa interferência é produzida pelo arsênio orgânico devido sua ligação a algumas macromoléculas, especialmente as enzimas sulfidrílicas, tais como o piruvato desidrogenase, cuja inibição compromete a formação da acetilcoenzima A e,

consequentemente, a diminuição na produção do ATP.¹⁰ Sabe-se que tecidos com maior necessidade de energia oxidativa são mais afetados pelo arsênio (células dividindo-se ativamente), como o epitélio gastrointestinal.¹⁶

Durante seu processo de metabolização no organismo, denominado em alguns estudos como biotransformação, o As^V (arseniato) é reduzido à sua forma trivalente (As^{III}), que posteriormente sofre metilação e gera compostos que podem ser excretados mais facilmente na urina.¹ No entanto, em determinada etapa deste processo são formados metabólitos tóxicos altamente reativos, as formas metiladas trivalentes, que parecem atuar de forma semelhante ao As^{III} nos tecidos. Os intermediários reativos MMA^{III} e DMA^{III} foram detectados na urina de seres humanos cronicamente expostos ao arsênio, e estudos *in vitro* demonstraram que essas formas são mais tóxicas do que o arsenito ou arseniato (que são formas trivalentes inorgânicas) sobre hepatócitos, ceratinócitos epidérmicos e células epiteliais brônquicas.¹

Portanto, nos casos de intoxicação por arsenicais pentavalentes, é possível que as lesões também possam ser desencadeadas por metabólitos intermediários trivalentes (MMA^{III} e DMA^{III}). Esse fato não corrobora com a idéia de que os arsenicais orgânicos são “menos tóxicos” em relação a forma inorgânica trivalente (HUGHES, 2002).

Entre os diagnósticos diferenciais da intoxicação por MSMA foram considerados principalmente neste surto a enterite por *Salmonella* sp., já que a ocorrência de lesão intestinal é considerado um diagnóstico diferencial para a salmonelose, além da diarreia profusa observada em todo o rebanho (BROWN et al., 2007; MONIES, 1999). No entanto, microscopicamente as alterações intestinais foram pouco significativas e a ruminite e omasite ulcerativa não eram compatíveis com o diagnóstico de salmonelose. A alta taxa de morbidade do rebanho e rápido desenvolvimento de diarreia após contato com o MSMA na

pastagem foi fortemente sugestivo de enterite tóxica. Apesar disso, é provável que lesões subagudas causadas pelo arsênio possam pré-dispor infecções bacterianas secundárias no intestino. A infecção secundária por *Aspergillus* sp. e zigomicetos foi levada em consideração, devido a trombose e vasculite observadas, sobretudo no rúmen e omaso, porém nas colorações de PAS e Grocott não foram evidenciadas estruturas fúngicas.

Com base nas lesões observadas neste estudo é possível concluir que o arsênio orgânico MSMA promove predominantemente necrose isquêmica multifocal, da mucosa de pré-estômagos, devido a danos na vasculatura caracterizados por necrose fibrinoide da parede de arteríolas e capilares e trombose. A patogênese dessas lesões necessita ser melhor elucidada em estudos futuros. As lesões macroscópicas e microscópicas em curso subagudo são semelhantes às alterações promovidas na forma aguda da enfermidade em bovinos, porém de maior cronicidade.

A utilização de defensivos agrícolas que contém arsênio em sua composição deve ser cautelosa, evitando-se o contato de animais em pastagens recém-pulverizadas.

Acknowledgements. To Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel-CAPES for the scholarship of the first author.

Referências

- ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for arsenic. 2007 [Internet]. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. [cited 2014 Set 15]. Available from: <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp2.pdf>.
- Barra CM, et al. Especificação de arsênio – uma revisão [Speciation of arsenic - a review]. *Quím Nov* 2000; 23:58–70. Portuguese.
- Bartík M, Piskač A. *Veterinary Toxicology*. 7th ed. New York, Elsevier, 1981.
- Bera AK, et al. Ground water arsenic contamination in West Bengal, India: A risk of sub-clinical toxicity in cattle as evident by correlation between arsenic exposure, excretion and deposition. *Toxicol Ind Health* 2010; 26:709–716.
- Bertin FR, et al. Arsenic Toxicosis in Cattle: Meta-Analysis of 156 Cases. *J Vet Intern Med* 2013; 27:977–981.
- Dantas GN, et al. Intoxicação aguda por metano arsonato ácido monossódico em bovinos [Acute poisoning by monosodium methanearsonic acid in cattle]. *Pesq Vet Bras* 2012; 32:1239–1245. Portuguese.
- Datta BK, et al. Chronic arsenicosis in cattle with special reference to its metabolism in arsenic endemic village of Nadia district West Bengal India. *Scien Tot Environ* 2010; 409:284–288.
- Faires MC. Inorganic arsenic toxicosis in a beef herd. *Can Vet J* 2004; 45:329–331.
- Ferreira MB, et al. Intoxicação por cobre, selênio, zinco e cloreto de sódio. In: Spinosa HS, Górnaiak SL, Palermo-Neto J, *Toxicologia aplicada à Medicina Veterinária*. 1th ed. São Paulo, Manole, 2008:666–668.
- Hueza IM, et al. Toxicologia do chumbo, mercúrio, arsênio e de outros metais. In: Spinosa HS, Górnaiak SL, Palermo-Neto J, *Toxicologia aplicada à Medicina Veterinária*. 1th ed. São Paulo, Manole, 2008:641–663.
- Hughes MF. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. *Toxicol Lett* 2002; 133: 1–16.

- Humphreys DJ. *Veterinary Toxicology*. 1th ed. England, Bailliere Tindall, 1988.
- McClanahan S, et al. Arsenic poisoning of beef cattle herd. *Minnesota Beef Cow/Calf Days* 2003; 4:83–87.
- Monies B. Arsenic poisoning in cattle. *In Pract* 1999; 21:602-607.
- Neiger R, et al. Bovine arsenic toxicosis. *J Vet Diagn Invest* 2004; 16:436–438.
- Osweiler GD. *Toxicologia Veterinária*. 1th ed. Porto Alegre, Artes Médicas, 1998.
- Riet-Correa F, et al. *Doenças de Ruminantes e Eqüídeos*. 2th ed. Santa Maria, Pallotti Gráfica e Editora, 2007.
- Silva JMB, et al. Arsênico – saúde: uma relação que exige vigilância. *Rev Visa Deb* 2014; 2:57-63.
- Simeonova PP, et al. Arsenic Mediates Cell Proliferation and Gene Expression in the Bladder Epithelium: Association with Activating Protein-1 Transactivation. *Cancer Res* 2000; 60:3445–3453.
- Valentine BA, et al. Arsenic and metaldehyde toxicosis in a beef herd. *J Vet Diagn Invest* 2007; 19:212–215.
- Yu H, et al. Peripheral vascular diseases resulting from chronic arsenical poisoning. *J Derm* 2002; 29:123–130.

Table 1. Determinação de arsênio total nas amostras de tecido e urina de bovinos necropsiados e da pastagem em três períodos de tempo distintos.

Exposição ao herbicida	4 Dias		6 Dias			
	Bovino	Bovino	Bovino	Bovino	Bovino	Bovino
Material	1	2	3	4	5	6
Fígado	5, 5 µm.g	2, 2 µm.g	16, 0 µm.g	1, 5 µm.g	*	< 0, 5 µm.g
Rim	4, 6 µm.g	3, 3 µm.g	7, 2 µm.g	2, 8 µm.g	*	< 0, 5 µm.g
Músculo esquelético	*	*	< 0, 5 µm.g	7, 4 µm.g	7, 6 µm.g	< 0, 5 µm.g
Urina	15, 9 µm.g	6, 9 µm.g	57, 8 µm.g	*	*	*
	4 Dias		6 Dias		10 Dias	
Pastagem	29, 2 µm.g		46,9 µm.g		< 0, 5 µm.g	

*Ausência de material

Figura 1. Bovino. Rúmen. Observam-se múltiplas úlceras coalescentes com até 5,0 cm na mucosa, recobertas por material amarelado (membrana diftérica), demarcadas por margem avermelhada proeminente e área central deprimida. Há extensas áreas de desprendimento do epitélio e a submucosa evidente está multifocalmente hiperêmica.

Figura 2. Bovino. Rúmen. Aspecto submacroscópico. Nota-se infarto isquêmico multifocal estendendo-se da mucosa até a camada muscular externa do órgão. Hematoxilina e eosina.

Figura 3. Bovino. Retículo. Vaso com marcada necrose fibrinoide da parede com perda da estrutura. Observa-se ainda acentuado infiltrado inflamatório composto por neutrófilos íntegros e degenerados, no espaço perivascular e na parede vascular. No lúmen evidencia-se moderado agregado de fibrina e debris celulares e leucócitos. HE, 40x.

