

Reavaliação Toxicológica da Metamidofós

Gerência Geral de Toxicologia/ANVISA
FIOCRUZ



Agência Nacional
de Vigilância Sanitária

www.anvisa.gov.br

Constituição Federal

- Art. 225. Todos tem direito ao meio ambiente **ecologicamente equilibrado**, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as **presentes e futuras gerações**.
- Parágrafo 1º Para assegurar a efetividade desse direito, incumbe ao Poder Público:
- **V - controlar a produção, a comercialização e o emprego de técnicas, métodos e substâncias que comportem risco para a vida, a qualidade de vida e o meio ambiente.**



Constituição Federal

- **Art. 196.** *A saúde é direito de todos e dever do Estado, garantido mediante políticas sociais e econômicas que visem à redução do risco de doença e de outros agravos e ao acesso universal e igualitário às ações e serviços para sua promoção, proteção e recuperação.*



Art. 200. Ao sistema único de saúde compete, além de outras atribuições, nos termos da lei:

II - **executar as ações de vigilância sanitária e epidemiológica**, bem como as de **saúde do trabalhador**;

VI - **fiscalizar e inspecionar alimentos**, compreendido o controle de seu teor nutricional, bem como bebidas e águas para consumo humano;

VII - **participar do controle e fiscalização da produção, transporte, guarda e utilização de substâncias e produtos psicoativos, tóxicos e radioativos**;

VIII - **colaborar na proteção do meio ambiente**, nele compreendido o do trabalho.

Proibições de registro

- Lei 7.802/89, Art. 3º, § 6º
- Fica proibido o registro de agrotóxicos, seus componentes e afins:
 - a) para os quais o Brasil não disponha de métodos para desativação de seus componentes, de modo a impedir que os seus resíduos remanescentes provoquem riscos ao meio ambiente e à saúde pública;

Proibições de registro

- b) para os quais **não haja antídoto** ou tratamento eficaz no Brasil;
- c) que **revelem características teratogênicas**, carcinogênicas ou mutagênicas, de acordo com os resultados atualizados de experiências da comunidade científica;
- d) que **provoquem distúrbios hormonais**, danos ao aparelho reprodutor, de acordo com procedimentos e experiências atualizadas na comunidade científica;

Proibições de registro

- e) que **se revelem mais perigosos** para o homem do que os testes de laboratório, com animais, tenham podido demonstrar, segundo critérios técnicos e científicos atualizados;
- f) cujas **características causem** danos ao meio ambiente.



Bases para a Reavaliação

- Lei 7.802/89

Quando **organizações internacionais** responsáveis pela saúde, alimentação ou meio ambiente, das quais o Brasil seja membro integrante ou signatário de acordos e convênios, **alertarem para riscos ou desaconselharem o uso de agrotóxicos**, seus componentes e afins, caberá à autoridade competente tomar imediatas providências, sob pena de responsabilidade

Bases para a Reavaliação

- Decreto 4074/02, Art. 2o, VI
- Cabe aos Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Saúde e do Meio Ambiente, no âmbito de suas respectivas áreas de competências:
- promover a reavaliação de registro de agrotóxicos, seus componentes e afins quando surgirem indícios da ocorrência de riscos que desaconselhem o uso de produtos registrados ou quando o País for alertado nesse sentido, por organizações internacionais responsáveis pela saúde, alimentação ou meio ambiente, das quais o Brasil seja membro integrante ou signatário de acordos;



REAVALIAÇÃO dos AGROTÓXICOS

- Resultados do PARA e dados epidemiológicos da RENACIAT
- Suspeita de carcinogenicidade, teratogenicidade, mutagenicidade, neurotoxicidade e desregulação endócrina
- Decisões internacionais de restrições ou banimento de produtos
- Alertas de organizações internacionais...



Resultados da Reavaliação

- Dec. 4074/02, Art. 19, Parágrafo único e incisos:

Como resultado das reavaliações pode-se :

- manter o registro sem alterações;
- manter o registro, mediante a necessária adequação;
- propor a mudança da formulação, dose ou método de aplicação;
- restringir a comercialização;
- proibir, suspender ou restringir a produção ou importação;
- proibir, suspender ou restringir o uso; e
- cancelar ou suspender o registro.



RDC 10, de 26 de fevereiro de 2008

Ingredientes ativos a serem reavaliados em 2008

- **Metamidofós** - para o qual estudos demonstram a alta toxicidade aguda e neurotoxicidade e sua inclusão na lista de substâncias perigosas da Convenção de Roterdã, que trata do controle internacional de seu trânsito, somente podendo ser exportado de um país a outro mediante o consentimento prévio informado do país importador, da qual o Brasil é signatário desde 1997, tendo-a ratificado em 2003



Situação Regulatória do Metamidofós



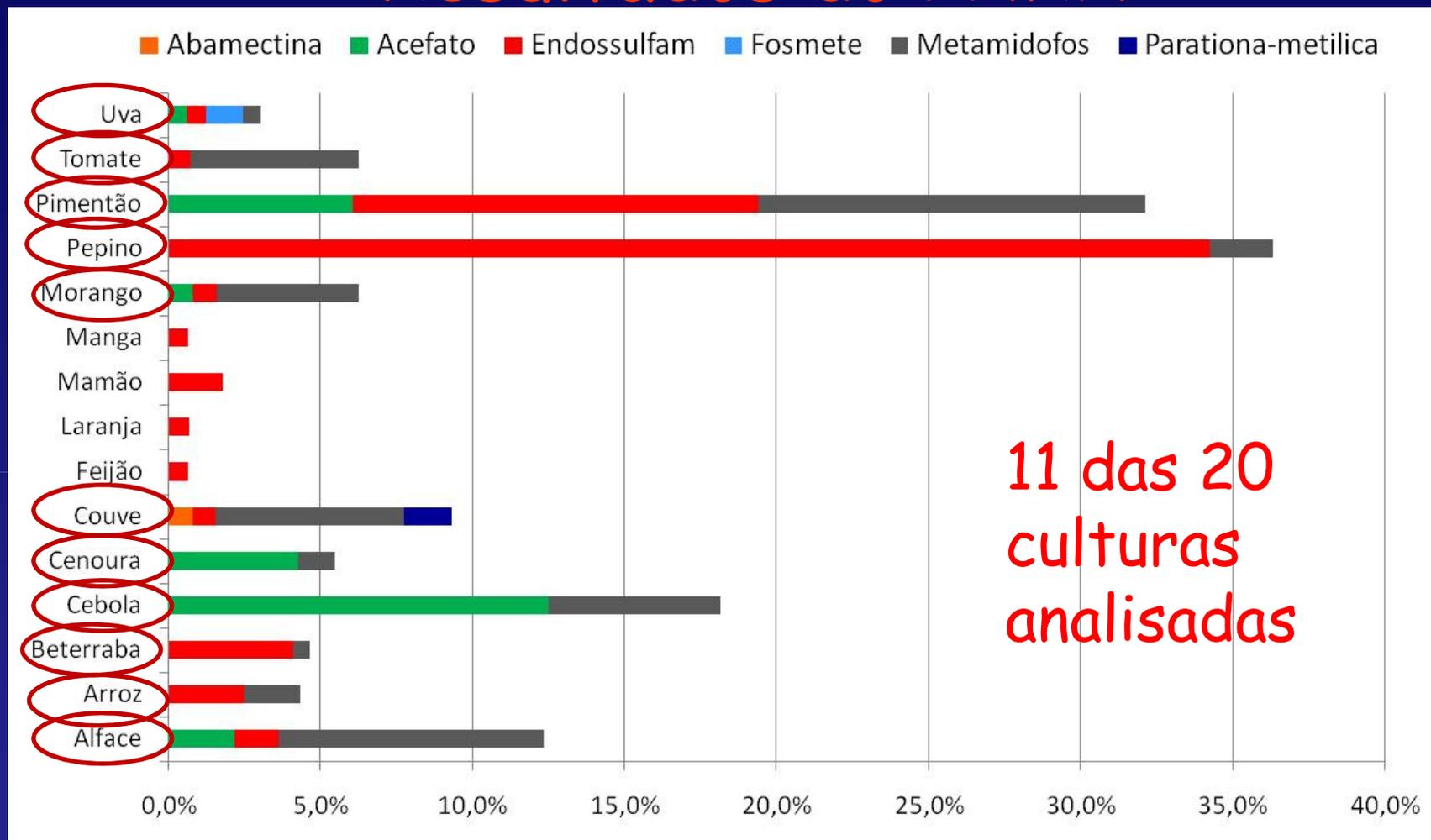
Situação regulatória do Metamidofós

Tabela 9: Situação Internacional do registro dos produtos a base de metamidofós

País	Status Regulatório
Austrália	Uso restrito
Canadá	Uso restrito
China	Banido
Paquistão	Banido
EUA	Uso restrito → <i>Phase out: 2010</i>
Costa do Marfim	Banido
Indonésia	Proibido
Índia	Proibido
Japão	Banido
Kuwait	Banido
Panamá	Uso restrito
Samoa	Proibido
Sri Lanka	Proibido
Tailândia	Uso restrito
Outros	Incluído na lista PIC (Convenção de Roterdam), pela alta toxicidade aguda e preocupação relativa ao impacto à saúde humana, principalmente, nos cenários de exposição dos países em desenvolvimento Fora do Anexo I da Diretiva 91/414/EEC da União Européia.



Resultados do PARA



11 das 20
culturas
analisadas

Produtos Técnicos registrados no Brasil

Marca Comercial	Titular de Registro	Nº Registro	Fabricantes
Metamidofós Técnico Fersol	Fersol Indústria e Comércio S.A.	4196	- Fersol Indústria e Comércio S.A. – Brasil. - BAYER S.A. - Belford Roxo – Brasil.
Metamidofós Técnico Milênia	Milênia Agrociências S.A.	108902	Pillarquim Corporation – Taiwan (Formosa)
Metamidophos Técnico Agripec	Nufarm Indústria Química e Farmacêutica S.A.	648902	Fujian Sannong Chemisty CO. LTD. – China.
Tamaron Técnico BR	Bayer S.A.	02328393	- Fersol Indústria e Comércio S.A. – Brasil. - BAYER S.A. - Belford Roxo – Brasil.
Tamaron Técnico USA	Bayer S.A.	1518398	Bayer Co. – Estados Unidos

Produtos Formulados registrados no Brasil

Marca comercial	Titular de registro	Nº registro	Culturas
Gladiador	Bayer S.A.	1805	Algodão, amendoim, batata, feijão, soja, tomate e trigo.
Glent	Bayer S.A.	1296	Algodão, batata, feijão, soja, e tomate.
Hamidop 600	Arysta Lifescience do Brasil – Indústria Química e Agropecuária.	3508203	Algodão, amendoim, batata, feijão, soja, tomate e trigo.
Metafós	Milênia Agrociências S.A.	98905	Algodão, amendoim, batata, feijão, soja e tomate.
Metamidofós Fersol 600	Fersol Indústria e Comércio S.A.	4296	Algodão, amendoim, batata, feijão, soja e tomate.
Metasip	Sipcam Isagro Brasil S.A.	1288404	Algodão, amendoim, batata, feijão, soja e tomate.
Nocaute	Bayer S.A.	1496	Feijão e soja.
Quasar	Bayer S.A.	1705	Algodão, amendoim, batata, feijão, soja, tomate e trigo.
Rivat	Bayer S.A.	6904	Algodão, amendoim, batata, feijão, soja, tomate e trigo.
Stron	Nufarm Indústria Química e Farmacêutica S.A.	6389	Algodão, amendoim, batata, feijão, melão, soja, tomate e trigo.
Stron 600 SL	Nufarm Indústria Química e Farmacêutica S.A.	8109	Algodão, amendoim, batata, feijão, soja, tomate, tomate rasteiro e trigo.
Tamaron BR	Bayer S.A.	498393	Algodão, amendoim, batata, feijão, soja, tomate e trigo.

Consulta Pública 89, de 27 de novembro de 2009



Agência Nacional de Vigilância Sanitária

www.anvisa.gov.br

Consulta Pública nº 89, de 27 de novembro de 2009.

D.O.U de 30/11/09

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso das atribuições que lhe confere o inciso IV do art. 11 e o art. 35 do Regulamento da ANVISA aprovado pelo Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999, e tendo em vista o disposto no inciso V e nos §§ 1º e 3º do art. 54 do Regimento Interno aprovado nos termos do Anexo I da Portaria nº 354 da ANVISA, de 11 de agosto de 2006, republicada no DOU de 21 de agosto de 2006, em reunião realizada em 24 de novembro de 2009,

adota a seguinte Consulta Pública e eu, Diretor Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Fica aberto, a contar da data de publicação desta Consulta Pública, o prazo de 30 (trinta) dias para que sejam apresentadas críticas e sugestões relativas à proposta de Regulamento Técnico, para o ingrediente ativo Metamidofós, contido na Relação de Monografias dos Ingredientes Ativos de Agrotóxicos, Domissanitários e Preservantes de Madeira, em anexo.

30 dias (28/12/2009), mas por problemas no site da ANVISA, prorrogada por mais 45 dias, resultando em prazo final de 12/02/2010



Agência Nacional
de Vigilância Sanitária

www.anvisa.gov.br

Encaminhamento na CP nº 89, de 27/11/2009

Art. 1º Cancelar os informes de avaliação toxicológica de todos os produtos técnicos e formulados à base do ingrediente ativo metamidofós a partir da data de publicação desta Resolução.

Art. 2º Manter a monografia do ingrediente ativo metamidofós até a data de janeiro de 2010 para fins de programas de monitoramento de resíduos de agrotóxicos nos alimentos.

Art. 3º Indeferir os pleitos de avaliação toxicológica, em tramitação nesta Agência, de produtos técnicos e formulados à base de metamidofós, com vistas à obtenção de registro de produtos, devido ao enquadramento do ingrediente ativo dentre as proibições de registro do art. 3º, § 6º, alíneas "c", "d" e "e", da Lei 7.802, de 11 de julho de 1989.

Art.4º Solicitar ao Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento que suspenda as importações de produtos técnicos e formulados à base de metamidofós a partir da publicação desta Resolução.



Consulta Pública

- Número de manifestações: 56 manifestações
- Contrários ao banimento: 22
- Favoráveis ao banimento: 34

Reavaliação Toxicológica do Metamidofós

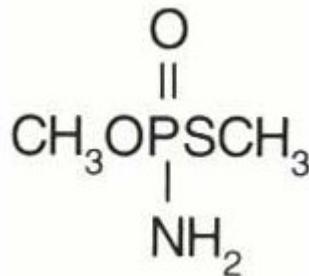
Gerência Geral de Toxicologia/ANVISA
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/ FIOCRUZ



Agência Nacional
de Vigilância Sanitária

www.anvisa.gov.br

Caracterização química



Nome químico: O, S - dimetil fosforamidato (IUPAC/CA apud ANVISA, 2002)

Grupo químico: Organofosforado

Uso: Inseticida, acaricida

Classe Toxicológica I - EXTREMAMENTE TÓXICO

IDA: 0,004 mg/kg p.c.



Agência Nacional
de Vigilância Sanitária

www.anvisa.gov.br

Toxicocinética

Vias de absorção:

- oral, inalatória e dérmica

Distribuição:

- rapidamente distribuído
- alvo primário: sistema nervoso
- maiores concentrações no fígado (IPCS, 1993)
- atravessam facilmente a barreira hematoencefálica e placentária (VILLENEUVE et al, 1972; ABU-QARE et al, 2000)



Toxicocinética

Biotransformação:

- Reações de hidrólise e desmetilação formam metil de dihidrogênio fosfato e ácido fosfórico (CROSSLEY; TUTASS, 1969)
- Metabólitos urina: O,S-dimetil ácido fosforotióico, S-ácido fosforotióico, O-metil ácido fosfórico amido, S-metil ácido fosforamidotióico, metil mercaptano e ácido fosfórico (FAKHR et al., 1982)

→ Na gravidez ocorrem alterações metabólicas umentando os efeitos anticolinesterásicos na mãe e no feto (ABU-QARE et al, 2000).

Diversos metabólitos do metamidofós foram encontrados no fígado, rins, útero, pulmões e plasma de filhotes de ratos (SALAMA, 1990)



Toxicocinética

Excreção

- metabólitos ácidos são eliminados pela urina e através do ar exalado como CO₂ e em menor proporção pelas fezes (IPCS, 1993; HSDB, 2003)



Mecanismo de ação

Fosforilação da AChE → bloqueio da atividade catalítica da enzima, interrompendo a transmissão do impulso nervoso

Baixa seletividade quanto à ação tóxica, reduzindo a atividade da AChE em insetos e mamíferos de modo semelhante (KHASAWINAH; MARCH; FUKUTO, 1978; HUSSAIN, 1987)

Mecanismo de fosforilação envolve clivagem da ligação P-S da molécula do metamidofós, levando à inibição da AChE (THOMPSON; FUKUTO, 1982)



Mecanismo de ação

Apesar de não ser um bom agente fosforilador, o metamidofós apresenta alta toxicidade in vivo (QUISTAD; FUKUTO; METCALF, 1970; KHASAWINAH; MARCH; FUKUTO, 1978; ROBINSON; BEIERGROHSLEIN, 1980)

O fato de o metamidofós ser um fraco inibidor da AChE in vitro sugere bioativação do composto através da sua conversão a um potente inibidor (ETO et al, 1977; THOMPSON; CASTELLINO; FUKUTO, 1984; MAHAJNA; QUISTAD; CASIDA, 1997; MAHAJNA; CASIDA, 1998)

Outros mecanismos: inibição da NTE



Toxicidade Aguda

A toxicidade aguda do ingrediente ativo metamidofós foi avaliada com base nos estudos encaminhados à ANVISA, com o objetivo de suportar os registros dos produtos técnicos e formulados à base de metamidofós

Estudos experimentais com exposição pelas vias oral, inalatória, dérmica e ocular

Principais alterações observadas nos estudos de DL50 oral: sialorréia, piloereção, tremores, convulsões, depressão aguda na atividade colinesterásica, exoftalmia com aumento de secreção e sangramento ocular e nasal, lacrimejamento, hiperreflexia, convulsão clônica, entre outras



Toxicidade Aguda - via inalatória

Tremores, apatia, dispnéia (moderada a intensa), diminuição da mobilidade, opacidade da córnea, dificuldades respiratórias, exoftalmia, hiperreflexia, sialorréia, aumento de secreção nasal e ocular. A necropsia revelou ainda os seguintes achados: pulmões distendidos e congestos, corrimento nasal seroso, pulmões levemente hiperêmico e com áreas hemorrágicas, edema pulmonar, pelve renal avermelhada, fígado, baço e rins pálidos, pontos hemorrágicos e focos de úlceras no estômago, mucosa intestinal avermelhada e com presença de sangue no lúmen



Toxicidade Aguda – via dérmica

Síndrome colinérgica com tremores musculares generalizados, salivação, exoftalmia, motilidade parcialmente reduzida, apnéia e dispnéia intensa, ataques convulsivos, miose, taquipnéia, redução da atividade geral e da vivacidade, fasciculação, hiperreflexia, convulsão clônica, sialorréia, epistaxe, sangramento ocular bilateral, falta de coordenação motora, lacrimejamento com lágrimas sanguinolentas e edema nas extremidades (somente em machos)



Toxicidade Aguda - via dérmica

Dados da necropsia dos animais mortos durante o estudo revelaram: pulmões distendidos (provável edema pulmonar), congestão hepática, presença de muco escuro no intestino delgado, úlceras estomacais, alterações estruturais no fígado, aspecto de palidez no baço e rins. Em alguns machos foi observado intenso rubor e endurecimento dos testículos e epidídimos

Toxicidade Aguda - via ocular

Altamente irritante para os olhos de coelhos



Toxicidade Aguda

Nos estudos de toxicidade aguda os sintomas de intoxicação observados foram típicos de depressão na atividade da acetilcolinesterase. Houve morte de animais onde foram afetados fígado, baço, rins, órgãos genitais e pulmões. Manifestações de discrasia sanguínea e efeitos colinérgicos, nicotínicos e no SNC foram observados em praticamente todos os estudos apontados



Toxicidade Subcrônica

Após exposições agudas ou crônicas a organofosforados podem ser desencadeadas três tipos de seqüelas neurológicas: a síndrome intermediária, a polineuropatia retardada e efeitos neurocomportamentais (FALK et al., 1999; RAY, 1998; RAY; RICHARDS, 2001).



Toxicidade Subcrônica

Síndrome Intermediária

Resulta da dessensibilização dos receptores colinérgicos em virtude da persistência da acetilcolina na junção neuromuscular (KAMEL; HOPPIN, 2004; JAYAWARDANE et al., 2008)

Principal sintoma é a paralisia que afeta principalmente músculos flexores do pescoço, músculos proximais dos membros superiores ou inferiores e músculos respiratórios

Devido à depressão respiratória associada, esta síndrome é a principal causa de morte por falência respiratória decorrente de intoxicação aguda por organofosforados (JAYAWARDANE et al., 2008; FALK et al., 1999; RAY, 1998; SENANAYAKE; KARALLIEDDE, 1987; KAMANYIRE; KARALLIEDDE, 2004; KAMEL; HOPPIN, 2004; PELEGRINO et al., 2006)



Toxicidade Subcrônica

Síndrome Intermediária

Metamidofós

Vários estudos têm demonstrado efeitos biológicos decorrentes de exposição a baixas doses, mas que não foram ainda completamente elucidados

Chama a atenção dois efeitos relacionados às conseqüências da inibição da acetilcolinesterase que determinam o aparecimento de quadros compatíveis com a síndrome intermediária: tolerância colinérgica e degeneração da placa motora (RAY; RICHARDS, 2001)



Toxicidade Subcrônica

Polineuropatia Retardada Induzida por Organofosforados (OPIDP)

(Organophosphate-induced Delayed Polyneuropathy)

Neuropatia motora distal decorrente da exposição a organofosforados e caracterizada pela degeneração de axônios com desmielinização secundária nos sistemas nervosos central e periférico

(SHEETS et al, 1997; RAY, 1998; KELLNER; SANBORN; WILSON, 2000; VIDAIR, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005; DOHERTY, 2006; PELEGRINO et al, 2006; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008)

Este quadro parece estar associada à inibição de uma carboxiesterase neuronal, a esterase neuropática alvo (NTE - neuropathy target esterase)

(SHEETS et al, 1997; RAY, 1998; McCONNELL et al, 1999; VIDAIR, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005; DOHERTY, 2006; PELEGRINO et al, 2006; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008)



Toxicidade Subcrônica

Polineuropatia Retardada Induzida por Organofosforados (OPIDP)

(Organophosphate-induced Delayed Polyneuropathy)

A exposição humana excessiva ao metamidofós pode causar a polineuropatia retardada (SENANAYAKE; JOHNSON, 1982; IPCS)

Nos últimos anos o metamidofós tem sido causa frequente dessa neuropatia (SENANAYAKE; JOHNSON, 1982; SENANAYAKE; KARALLIEDE, 1987; SUN et al, 1998; McCONNELL et al, 1999)

Elevada incidência da polineuropatia retardada em decorrência da exposição ao metamidofós e que o risco de desenvolvimento de polineuropatia retardada foi positivamente associado com a severidade da intoxicação. (SUN; ZHOU; XUE, 1998)



Toxicidade Subcrônica

Para os efeitos sub-agudos ou subcrônicos nos estudos apontados observou-se alteração do peso absoluto dos órgãos dos animais testados, tais como tireóide, coração, pulmão, pâncreas, fígado, rins, adrenais, baço, timo, testículos e ovários

A queda na concentração da AChE foi observada em todos os grupos tratados com as diferentes doses do produto



Neurotoxicidade

Intoxicação aguda: Estudos epidemiológicos

Síndrome colinérgica: Relatos de **epidemias**

- McCONNELL; HRUSKA, 1993: 548 casos de intoxicação; 77% metamidofós ou carbofuranos; 91% casos por exposição ocupacional; Intoxicações no sexo masculino (96%) e em fazendas de pequeno ou médio porte (82%)
- Casos após ingestão de alimentos contaminados:
 - SUMI; OODE; TANAKA, 2008: ao menos 10 casos; 1 parada respiratória + coma
 - LUNG, 1990: 179 casos
 - CHAN, 2001: 64 casos
 - CHAN et al., 1996: 329 casos em 47 episódios diferentes em 1992
 - GOH et al., 1990: 105 casos (metamidofós, profenofós e um ditiocarbamato)
- WU et al., 2001: 4 casos (3 episódios) após ingestão de alimentos



Neurotoxicidade

Estudos epidemiológicos

- CORNWALL et al., 1995: aproximadamente 34 agricultores com sintomas de intoxicação por metamidofós (usado em 96% das fazendas)
- PIRES; CALDAS; RECENA, 2005: intoxicações no MS, microrregião de Dourados (1992-2002)
 - prevalência de intoxicações e de tentativas de suicídio pela exposição a agrotóxicos, principalmente nas culturas de algodão e feijão, onde o metamidofós tem seu uso autorizado
- POLINEUROPATIA TARDIA (OPIDP)
 - Inibição da NTE
 - 1-4 semanas após exposição
- Sun; Zhou; Xue (1998): 14 casos
- McConnell et al., 1999; Hsieh et al., 1999



Neurotoxicidade

Estudos epidemiológicos

- PARKINSONISMO
- HSIEH et al., 2001:
 - Mulher, 20 anos, ingestão intencional
 - Síndrome colinérgica com parada respiratória
 - Início dos sintomas extrapiramidais no 2º dia

- Parkinsonismo e exposição a OP: (DAVIS; YESAVAGE; BERGER, 1978; BHATT; ELIAS; MANKODI, 1999; MÜLLER-VAHL; KOLBE; DENGLER, 1999; ARIMA et al., 2003; KAMEL; HOPPIN, 2004; HANCOCK et al., 2008)



Neurotoxicidade

Estudos em animais

- Ratos:

Distúrbios neurológicos agudos como necrose neuronal e atrofia do cortex parietal sem perda neuronal em animais expostos a 2,5 e 5,0 mg/kg de metamidofós (PELEGRINO et al., 2006)

Achados neuro-comportamentais relacionados ao tratamento e atribuídos à **toxicidade colinérgica**, ocorrendo somente em níveis que produziram mais de 20% de inibição da atividade ChE plasmática, RBC e **CEREBRAL** (SHEETS, 1997)



NeuroToxicidade

Estudos em animais

- Ratos:

Diminuição dose dependente da atividade colinesterásica plasmática, eritrocitária e **CEREBRAL**. O teste comportamental revelou redução da atividade e outros sinais de envenenamento colinérgico em todos os ratos tratados (0, 1, 3 ou 9 mg/kg)

Análise bioquímica mostrou aumento da atividade de aminotransferase aspartato sérica, alanina aminotransferase e da concentração de colesterol, além de diminuição da concentração de triglicérides no soro

O NOAEL para a inibição da atividade colinesterásica eritrocitária e cerebral foi fixado em 0,3 mg/kg e para neurotoxicidade foi fixado em 9 mg/kg (SHEETS, 1993)



NeuroToxicidade

Estudos em animais

- Ratos:

Testes comportamentais e as observações clínicas revelaram redução da atividade dose relacionada e outros sinais de envenenamento colinérgico em ratos nos animais expostos a 12 e 59 ppm (0,79 e 4,3 mg/kg/dia)

Diminuição significativa dose-dependente (>20%) da atividade colinesterásica foi vista em todos os tecidos nas duas maiores concentrações

O NOAEL para inibição da atividade colinesterásica **CEREBRAL** e eritrocitária foi fixado em 1 ppm (0,067 mg/kg) e para neurotoxicidade foi fixado em 59 ppm (4,3 mg/kg) (SHEETS, 1994)



Neurotoxicidade

Estudos em animais – Neurotoxicidade do desenvolvimento

- Ratas:

Atividade da colinesterase foi avaliada em fêmeas da geração F0 no 21º dia de lactação, observando-se inibição na maior dose em 77%, 84% e 83% para plasma, eritrócito e **CÉREBRO**, respectivamente

Notou-se que nas doses de 10 e 30 ppm (0,9 e 2,5 mg/kg) ocorreu a redução do desempenho das atividades no “labirinto em forma de oito”, para ambos os sexos.

A atividade da colinesterase foi diminuída nas doses 0,9 e 2,5 mg/kg, nas avaliações realizadas no dia 4 e 21 de lactação, sendo na primeira análise (dia 4 de lactação) observado o decréscimo de 20% no eritrócito para a dose 0,9 mg/kg; e de (12%) plasma, (41%) eritrócitos e (14%) **CÉREBRO** na maior dose (SHEETS; LAKE, 2002)



Neurotoxicidade

Estudos em animais

- Galinhas:

Sinais e sintomas observados:

Flucke, 1990; Flucke; Eben, 1990: As aves apresentaram sinais de toxicidade aguda colinérgica, neurotoxicidade tardia, andar anormal e inibição da NTE (200 ou 400 mg/kg)

Sachsse et al., 1987: Sonolência, emagrecimento, inibição da atividades de colinesterase plasmática, inibição da atividade NTE (0, 0.3, 1 ou 3 mg/kg) – Neurotoxicidade tardia – na dose de 3 mg/kg

Flucke; Kaliner, 1985: 10 galinhas morreram. Animais tratados apresentaram sinais de toxicidade colinérgica aguda e perda de peso (200 mg/kg). Neurotoxicidade tardia – na dose de 200mg/kg



Neurotoxicidade

Estudos em animais

- Galinhas:

Sinais e sintomas observados:

Flucke; Eben, 1988: Perda de peso e inibição máxima da atividade de NTE **CEREBRAL** na dose de 20 mg/kg

Bomann et al., 1992: Alguns animais foram sacrificados em condições moribundas. Mortes, sinais colinérgicos agudos, diminuição do peso e inibição da atividade colinesterásica plasmática. Neurotoxicidade tardia – na dose de 4,5 mg/kg.



Genotoxicidade

Estudos de
mutagenicidade
e genotoxicidade
do metamidofós
aportados na ANVISA

Tipo do teste	Microrganismo/animal/ linhagem celular	Pureza	Dose	Resultados	Referência
Ames	<i>Salmonella typhimurium</i> Cepas: TA98, TA100, TA1535 e TA1537	62,60%	20, 100, 500, 2500, 12500 µL/placa*	Controverso (resultados conflitantes, não repetitivos e sem apresentação de análise estatística)	Herbold, 1980
	<i>Salmonella typhimurium</i> Cepas: TA97a, TA98, TA100 e TA102	70,00%	11, 20, 35, 60 e 110 µL/placa	Negativo	Veiga, 1994a
	<i>Salmonella typhimurium</i> Cepas: TA97a, TA98, TA100 e TA1535	70,00%	1, 10, 100, 1000 e 5000 nL/placa*	Negativo	Vargas, 1994a
	<i>Salmonella typhimurium</i> cepas TA100, TA98, TA97a, TA1535	73,00%	1; 10; 100; 1000 e 5000 µ*	Controverso	Vargas; Toledo, 1994
Micronúcleo (MN)	Camundongos (3/sexo) para cada dose testada	70,00%	3,73; 7,46; 14,93 mg/kg (machos); 3,25; 6,50; 13,00 mg/kg (fêmeas). Aplicação: 2 doses ip. no período de 24h	Negativo	Veiga, 1994b
	Camundongos (5/sexo), para cada dose testada e controles positivo e negativo	62,60%	5,0 e 10,0 mg/kg administrados via oral em 2 doses no intervalo de 24h	Negativo	Herbold, 1981
	Camundongos (5/sexo) para cada dose testada	70,00%	2,50; 1,66 e 0,832 µL/kg, Aplicação: 2 doses ip. no período de 24h	Negativo	Vargas, 1994b
	Camundongos cinco machos e cinco fêmeas	73,00%	0,4 e 0,5 ml/animal	Negativo	Vargas et al, 1994

* Com e sem ativação metabólica.
IP: Via Intraperitoneal.



Genotoxicidade

Dados do IPCS de 2002 mostram a avaliação de 19 estudos em bactérias e mamíferos.

Dos 10 estudos in vitro (mutação pontual, aberrações cromossômicas e alterações no DNA) um foi positivo para troca de cromátides irmãs e outro para aberrações cromossômicas.

Nos 9 estudos in vivo, um apresentou troca entre cromátides irmãs e outro apresentou positividade para micronúcleos, ambos em células da medula óssea de camundongos suíços.

Para a Califórnia Environmental Protection Agency (2005) o metamidofós tem baixo potencial genotóxico para humanos, o que por sua vez mostra que a própria agência não descarta esse potencial.



Genotoxicidade: Estudos na literatura

Karabay; Oguz (2005):

Teste de aberrações cromossômicas e indução de micronúcleos em ratos Wistar; Teste de Ames para avaliar mutação em bactérias (*Salmonella typhimurium* TA98, TA100).

Nos animais foram administradas as dosagens de 2.5 e 5 mg/kg metamidofós e 2,5 e 5 mg/kg imidacloprido misturado com metamidofós, por 90 dias

Todos os testes foram positivos e realizados na presença de mistura de ativação metabólica (S9)



Genotoxicidade: Estudos na literatura

Naturforsch (1987):

- Teste in vivo: indução de micronúcleos e troca entre cromátides irmãs em células da medula óssea de camundongos
- Teste in vitro: indução de aberrações cromossômicas e troca entre cromátides irmãs em células esplênicas de ratos

Administração intra-peritoneal única e múltiplas de 6 e 4,5 mg/Kg de metamidofós; administração oral por 14 dias consecutivos (100 ppm) e múltiplos tratamentos via derme (24 mg/Kg) induziram o aumento da frequência de eritrócitos policromáticos com micronúcleo. Além disso, a baixa dosagem de 0,25 µg/ml induziu uma alta porcentagem de metáfase com aberrações cromossômicas. O metamidofós induziu também a troca de cromátides irmãs in vitro e in vivo



Genotoxicidade: Estudos na literatura

Foi observado um aumento dose-relacionado (3,75; 5,0 e 7,5 mg/kg) do percentual de espermatozóides com morfologia anormal (BURRUEL et al, 2000).



A análise da morfologia dos espermatozóides é realizada como medida do potencial sobre o componente genético da espermatogênese, ou seja, determinando efeitos genotóxicos



Carcinogenicidade

A toxicidade crônica e o potencial de carcinogenicidade do metamidofós foram avaliados em 03 estudos aportados na ANVISA, conduzidos com ratos, camundongos e cães.

A substância testada não foi considerada carcinogênica.

O metamidofós segundo estudos da literatura tem potencial mutagênico, que é a alteração genuína do processo de carcinogenicidade



Imunotoxicidade

Resultados dos estudos aportados na Anvisa

Cães Beagle tratados com as doses de 0,038; 0,13; 0,38 mg/kg apresentaram alteração do peso absoluto do baço (LÖSER, 1970^a; Estudo 1 – toxicidade subcrônica).

Em ratos tratados com quatro doses (0,2; 0,6; 2 e 6 mg/kg) foi observada a diminuição dos pesos do timo e baço (LÖSER, 1970^b; Estudo 2 – toxicidade subcrônica)

Cães Beagle tratados com as doses de 2,0; 8,0 e 32 ppm apresentaram aumento dos gânglios linfáticos (HAYES et al, 1984^c; Estudo 2 – toxicidade crônica)

Camundongos tratados com 1; 5 e 25 ppm, aumento do peso relativo do baço dos machos foi encontrado (LÖSER, 1970^b; Estudo 3 - toxicidade crônica)



Imunotoxicidade

Efeitos imunossupressores - estudos disponíveis na literatura científica

As células extraídas de timo e baço de camundongos e de linfócitos do sangue periférico de seres humanos foram expostas ao metamidofós em concentrações variando de 10^{-7} mol/l a 10^{-3} mol/l

Diminuição dose-dependente da proliferação de linfócitos T do timo e da capacidade de formação de anticorpos pelos linfócitos B de camundongos e de seres humanos (TIEFENBACH; HENNINGHAUSEN; WICHNER, 1990)



Imunotoxicidade

Efeitos imunossupressores - estudos disponíveis na literatura científica

Camundongos CBA receberam por via intraperitoneal as doses 0,6; 1,2 ou 6 mg/kg, apresentando diminuição do número de linfócitos e monócitos, aumento do número de granulócitos dos neutrófilos, diminuição da proliferação celular no timo, aumento da proliferação celular na medula óssea e diminuição da formação de anticorpos (TIEFENBACH; WICHNER, 1985).

O NOAEL em camundongos foi de 0,6 mg/kg de peso corpóreo.



Imunotoxicidade

Considerações

O metamidofós é imunossupressor uma vez que provoca a **diminuição** de diversas populações linfocitárias e **inibe a formação de anticorpos**. Dessa maneira, a resposta imunológica inata e adquirida pode ser prejudicada e, conseqüentemente, indivíduos expostos ao metamidofós poderiam ser mais susceptíveis a infecções por patógenos e ao desenvolvimento de cânceres.



Toxicidade Endócrina

DESREGULADORES ENDÓCRINOS

Quaisquer substâncias (ou misturas) exógenas que alteram funções do sistema endócrino e, conseqüentemente causam efeitos adversos em um organismo, sua prole ou (sub) populações (GOLDMAN ET AL., 2000; IPCS, 2002).



**processos nutricionais,
comportamentais,
reprodutivos, funções
cardiovasculares, renais,
intestinais, neurológicas e
imunológicas**



Toxicidade Endócrina

Resultados dos estudos aportados na Anvisa

Estudos de toxicidade aguda, subcrônica e crônica identificaram alterações relacionadas ao sistema endócrino e também ao sistema reprodutivo.

Ratos machos tratados por via dérmica apresentaram endurecimento de testículos e epidídimos (HEIMANN, 1981; Estudo 4 - toxicidade aguda).

Cães Beagle apresentaram alteração dos pesos absolutos de tireóide, adrenais, testículos e ovários (LÖSER, 1970^a; Estudo 1 - toxicidade subcrônica)

Ratos apresentaram diminuição dos pesos das adrenais e gônadas (LÖSER, 1970b - Estudo 2; toxicidade subcrônica)



Toxicidade Endócrina

Resultados dos estudos aportados na Anvisa

Ratos apresentaram diminuição do peso relativo dos testículos (HAYES ET AL, 1984; HAYES 1994; Estudo 1 - toxicidade crônica)

Cães Beagle apresentaram alterações macroscópicas como cistos, manchas e aumento da tireóide e do útero e aumento dos pesos absolutos e relativos da tireóide e peso relativo da pituitária (HAYES ET AL, 1984; JONES, 1994; Estudo 2 - toxicidade crônica)

Camundongos apresentaram aumento do peso relativo das adrenais em fêmeas (HAYES ET AL, 1984; HAYES, 1994; Estudo 3 - toxicidade crônica)



Toxicidade Endócrina

Resultados dos estudos disponíveis na literatura científica

Efeitos sobre os eixos de regulação endócrina Hipotálamo-Pituitária-Tireóide (HPT) e Hipotálamo-Pituitária-Adrenais (HPA)

Ratos machos adultos expostos a dose única por entubação gástrica apresentaram diminuição dos níveis de T3, T4 e TSH (SATAR et al, 2005).

Os efeitos observados provavelmente ocorreram pela ação colinérgica do organofosforado, uma vez que a acetilcolina está envolvida na regulação das funções da pituitária (TUOMISTO; MÄNNISTÖ, 1985)

Alterações ultraestruturais da tireóide foram observadas em outro estudo com ratos machos adultos expostos a dose única por entubação gástrica (SATAR et al, 2008)

Efeito sobre o eixo de regulação hormonal HPT



Toxicidade Endócrina

Resultados dos estudos disponíveis na literatura científica

Ratas tratadas com metamidofós (5mg/kg) por via intraperitoneal apresentaram aumento dos níveis de ACTH, corticosterona e aldosterona (SPASSOVA; WHITE; SINGH, 2000).

Efeito sobre o eixo de regulação hormonal HPA



Toxicidade Endócrina - Considerações

Os estudos realizados com diferentes espécies, por diferentes vias de exposição, mostraram alterações no ovário, útero, testículos e epidídimo, tireóide e hormônios tireoideanos, glândulas adrenais e hormônios corticóides, demonstrando que o metamidofós interage com os principais eixos de regulação hormonal , principalmente HPT e HPA

Eixo HPT - está envolvido no desenvolvimento do cérebro, funções cardiovasculares, respiratórias, crescimento ósseo, produção e metabolismo de hormônios esteróides, metabolismo de **açúcares, lipídios e proteínas e** alguns processos **imunológicos**

Eixo HPA - também está associado à síntese de **açúcares, lipídios e proteínas** para manutenção da reserva energética e ainda à inibição de processos inflamatórios e supressão de **respostas imunológicas**



Toxicidade Reprodutiva

Estudos de toxicidade reprodutiva: multigeração

- Ratos:

Foi observada redução do peso corporal dos pais, dos filhotes e da ninhada, diminuição da viabilidade dos filhotes e redução da proporção de fêmeas férteis que deram a luz quando expostas à concentração de 33 ppm (1,6 mg/kg) (HIXSON, 1984a)

Foi observada redução do peso corporal das fêmeas F0 e F1 durante a lactação, diminuição do peso dos filhotes durante a lactação e redução das atividades colinesterásicas plasmáticas, eritrocitária e cerebral (EIGENBERG et al, 1998)



Toxicidade Reprodutiva

Estudos de toxicidade reprodutiva: danos sobre os sistemas reprodutivos

- Estudos em camundongos CD1 machos

Foi observado um aumento dose-relacionado (3,75; 5,0 e 7,5 mg/kg) do percentual de espermatozóides com morfologia anormal (BURRUEL et al, 2000).



A análise da morfologia dos espermatozóides é realizada como medida do potencial sobre o componente genético da espermatogênese, ou seja, determinando efeitos genotóxicos



Toxicidade Reprodutiva

Toxicidade sobre o desenvolvimento pré e pós-natal

- Camundongos:

O sobressalto auditivo, a habilidade para nadar, reflexos suspensos e a habilidade de aprendizado no labirinto estavam afetados na menor dose e as duas maiores doses (2,2 e 4 mg/kg) afetaram a extensão da gestação, a abertura dos olhos e endireitamento postural

A densidade neuronal do córtex cerebral dos filhotes estava aumentada nas duas maiores doses e a espessura neuronal estava diminuída na maior dose

O NOAEL para atraso no desenvolvimento não pode ser fixado, mas o LOAEL desse estudo foi 0,4 mg/kg de metamidofós (WANG; HUANG, 1987)



Toxicidade Reprodutiva

Toxicidade sobre o desenvolvimento

- Ratos (n=5):

Foram observados efeitos tóxicos sobre os marcos físicos do desenvolvimento e de maturação de acordo com a idade, apresentando efeitos sobre o desenvolvimento físico e comportamental (1mg/kg) (CASTRO; CHIORATO; PINTO, 2000a).

Foram observados sinais típicos de toxicidade colinérgica nas mães (3mg/kg), diminuição do consumo de alimentos e do ganho de peso corporal e redução do peso médio dos filhotes e peso total das ninhadas. O NOAEL foi fixado em 1 mg/kg para ambas as toxicidades, maternal e sobre o desenvolvimento, baseado nos sinais clínicos e diminuição da ingestão de comida e do ganho de peso corporal e na redução do peso fetal e das ninhadas na dose de 3 mg/kg (Hixson, 1984b)



Toxicidade Reprodutiva

Toxicidade sobre o desenvolvimento

- Ratos:

Foi observada redução na média do peso fetal, número de implantações e fetos viáveis em ambas as doses. Aumento na embriofetividade e na incidência de malformações (anencefalia, anotia) (2 mg/kg). O NOAEL para toxicidade sobre o desenvolvimento não pode ser fixado, mas o LOAEL para esse estudo foi de 1 mg/kg de metamidofós (Hanafy et al, 1986)

Foi observado efeito adverso sobre os marcos físicos do desenvolvimento (erupção de incisivos, descolamento de orelhas, aparecimento de pelos e abertura de olhos) no final do período de observação . No teste de campo aberto (open-field) o tempo de imobilidade estava diminuído nos animais expostos ao metamidofós quando comparado com o controle indicando possível efeito neuro-comportamental (1 mg/kg) (CASTRO; CHIORATO; PINTO, 2000b)



Toxicidade Reprodutiva

Toxicidade sobre o desenvolvimento

- Ratos:

Efeitos observados:

- A viabilidade dos filhotes estava afetada (4 mg/kg).
- Redução do peso materno e dos filhotes nos dias 7 e 14 pós-natal (4mg/kg)
- Redução do peso dos filhotes no dia 7 pós-natal (2 mg/kg);
- Atraso no descolamento de orelha (2 e 4 mg/kg), abertura dos olhos (1, 2 e 4 mg/kg), erupção de incisivos (2 mg/kg) e descida de testículos (1 e 2 mg/kg) (CASTRO; CHIORATO, 2000)



Toxicidade Reprodutiva

Toxicidade sobre o desenvolvimento

- Coelhos:

Foi observada redução no ganho de peso corporal materno durante o tratamento em todas as doses.

NOAEL = 0,5 mg/kg/dia para toxicidade materna (MACHEMER, 1979)



Conclusões

- O principal mecanismo de neurotoxicidade do metamidofós decorre da inibição da acetilcolinesterase. A inibição da acetilcolinesterase foi observada em estudos experimentais com diferentes espécies animais (aves e mamíferos) e em estudos em humanos
- Manifestações clínicas, mesmo sem alteração da atividade enzimática, ratificam seus efeitos neurotóxicos
- Esses fatos ratificam os perigos da exposição ao metamidofós para humanos e animais, tanto no nível individual (clínico) como epidemiológico (saúde pública)



Conclusões

TOXICIDADE AGUDA

- Em seres humanos e animais, a intoxicação aguda por metamidofós induz: vômito, diarreia, broncoconstrição, cólicas abdominais, bradicardia, taquicardia, dor de cabeça etc. E outros efeitos mais graves: convulsão, depressão do centro respiratório, fasciculação dos músculos respiratórios com paralisia muscular, parada respiratória, coma e morte
- Efeitos observados em indivíduos expostos através da ingestão de alimentos contaminados com metamidofós, em exposições ocupacionais, acidentais e intencionais são corroborados por estudos experimentais realizados *in vitro* e *in vivo*

(estudos da literatura científica e estudos aportados na ANVISA)



Conclusões

NEUROTOXICIDADE

- Inibe a enzima AChE
- Varios casos de surtos por ingestão de alimentos contaminados
- Casos de exposição ocupacional e intoxicação em áreas de cultivo de soja e algodão no Brasil
- Positivamente correlacionado a desordens psiquiátricas como depressão, que pode levar ao suicídio, déficit cognitivo, e parkinsonismo
- Efeitos neurotóxicos crônicos manifestam-se principalmente através da polineuropatia tardia. Recuperação do quadro neuropático pode levar anos, podendo haver dano residual permanente



Conclusões

GENOTOXICIDADE

- É genotóxico pois induz micronúcleos e troca entre cromátides irmãs em células de camundongos e ratos, assim como induz aberrações cromossômicas (ratos), inclusive em baixas doses
- O metamidofós também causou alterações morfológicas em espermatozóides (marcador de genotoxicidade)
- Segundo esses estudos da literatura, o metamidofós tem potencial mutagênico (alteração genuína do processo de carcinogenicidade)

Substâncias genotóxicas não apresentam limiares seguros de exposição (PITOT; DRAGAN, 2001)



Conclusões

IMUNOTOXICIDADE

- O metamidofós possui elevado potencial de imunossupressão uma vez que provoca a diminuição de diversas populações linfocitárias e inibe a formação de anticorpos
- A imunossupressão pode aumentar a susceptibilidade a doenças infecciosas e o risco de desenvolvimento de câncer mesmo durante a exposição a substâncias cujo potencial carcinogênico não parecia muito relevante isoladamente
- Os efeitos genotóxicos que iniciam a produção de células tumorais, podem não ser devidamente reparados nas condições de imunossupressão **TAMBÉM** provocadas pelo metamidofós



Conclusões

IMUNOTOXICIDADE

- Considerando os efeitos encontrados sobre os eixos HPT e HPA e suas respectivas funções sobre funções imunológicas, os efeitos imunossupressores evidenciados após a exposição *in vitro* e *in vivo*, o metamidofós pode modular efeitos tóxicos através da tríade dos sistemas neuroimunoendócrino



Conclusões

TOXICIDADE ENDÓCRINA

- Os eixos de regulação hormonal Hipotálamo-Pituitária-Tireóide (HPT) e Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) são claramente modulados durante a exposição ao metamidofós, como evidenciado em estudos experimentais com diferentes espécies animais nos estudos aportados e estudos da literatura
- Esses dois eixos regulam funções fisiológicas importantes como o desenvolvimento do cérebro, funções cardiovasculares, respiratórias, crescimento ósseo, produção e metabolismo de hormônios esteróides, metabolismo de açúcares, lipídios e proteínas, inibição de processos inflamatórios e alguns processos imunológicos



Conclusões

TOXICIDADE ENDÓCRINA

- Os estudos realizados em animais de laboratório (ratos e cães) expostos ao metamidofós mostraram alterações em órgãos do sistema reprodutivo masculino e feminino que podem repercutir em alterações funcionais da reprodução
- Esses achados foram corroborados em estudos específicos de toxicidade reprodutiva



Conclusões

TOXICIDADE REPRODUTIVA

- Os diversos estudos realizados em animais (ratos, camundongos e coelhos) estão de acordo com os padrões atuais internacionalmente reconhecidos ou de acordo com alguma de suas variações também aceitas pelas agências regulatórias.
- Os principais efeitos adversos encontrados nesses estudos foram danos na morfologia dos espermatozóides o que pode interferir com a fertilidade, toxicidade multigeração, embriotoxicidade, embriofetividade, aparecimento de malformações, alteração nos marcos físicos do desenvolvimento e sobre o comportamento dos filhotes.

Juntos, esses efeitos indicam que o ingrediente ativo metamidofós causa efeitos tóxicos reprodutivos e sobre o desenvolvimento



Conclusões

- Considerando o disposto na lei N° 7.802, de 11 de julho de 1989;
- Pelo conjunto de efeitos nocivos do metamidofós à saúde humana, especialmente relacionado à neurotoxicidade, imunotoxicidade e sobre o sistema endócrino, reprodutor e desenvolvimento embriofetal

O metamidofós deve ser proibido na atividade agrícola e em outras que possibilitem a exposição humana

