

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**BOVINOS COMO BIOINDICADORES DA POLUIÇÃO AMBIENTAL POR
CHUMBO NA REGIÃO DE GUARAPUAVA – PR**

JAYME AUGUSTO PERES

Botucatu – SP

2009

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**BOVINOS COMO BIOINDICADORES DA POLUIÇÃO AMBIENTAL POR
CHUMBO NA REGIÃO DE GUARAPUAVA – PR**

JAYME AUGUSTO PERES

**Tese apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para obtenção
do título de Doutor.**

**Orientador: Prof.^a Dr^a Michiko Sakate
Co-orientadora: Prof.^a Dr^a Marta Chagas Monteiro**

Botucatu – SP

2009

Catálogo na Publicação
Biblioteca Central da UNICENTRO, Campus Guarapuava

Peres, Jayme Augusto

P437u Bovinos como bioindicadores da poluição ambiental por chumbo na região de Guarapuava - PR / Jayme Augusto Peres. – – Botucatu, 2009
57p, 89 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia "Julio de Mesquita Filho", área de concentração em Toxicologia, 2009

Orientadora: Michiko Sakate

Co-orientadora: Marta Chagas Monteiro

Banca examinadora: SAKATE, M.; ROCHA, N.S.; GONÇALVES, R.C.; HATAYDE, M.R.; MARÇAL, W.S.

Bibliografia

1. Toxicologia Ambiental. 2. Chumbo. 3. Bovinos . 4. Bioindicadores ambientais. 5. Metais pesados. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária.

CDD 636.089

Nome do Autor: Jayme Augusto Peres

**Titulo: BOVINOS COMO BIOINDICADORES DA POLUIÇÃO AMBIENTAL
POR CHUMBO NA REGIÃO DE GUARAPUAVA - PR**

COMISSÃO EXAMINADORA

**Profª Drª Michiko Sakate
Presidente e Orientadora
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu - SP**

**Profª Drª Noeme Sousa Rocha
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu - SP**

**Prof Dr Roberto Calderon Gonçalves
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu - SP**

**Prof Dr Mário Roberto Hatayde
Membro
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária
FCAV - UNESP – Jaboticabal - SP**

**Prof Dr Wilmar Sachetin Marçal
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
UEL – Londrina - PR**

Data da Defesa: 16 de novembro de 2009

NAS COISAS PEQUENAS, MAIS QUE NAS GRANDES, MUITAS VÉZES RECONHECEMOS O VALOR DOS HOMENS. TALVÉZ EU REPRESENTE APENAS MAIS UM QUE PARTE, MAS NA PARTIDA LEVAREI SAUDADES, DEIXANDO O MEU AGRADECIMENTO A TODOS PELA AJUDA E DEDICAÇÃO.

DESPEDIDA

EU NÃO PODIA IMAGINAR AS COISAS QUE ME ACONTECERIAM, O INÍCIO FOI INCERTO, CONFUSO E INCOMUM, ONDE TODOS OS ESTRANHOS FARIAM PARTE DA MINHA VIDA, ONDE TODOS OS CANTOS TERIAM HISTÓRIAS ESCONDIDAS. AQUI PASSEI OS MELHORES ANOS DE MINHA VIDA, FIZ AMIGOS, MUITOS DOS QUAIS, ME ACOMPANHARÃO PARA SEMPRE. POR ISSO TENHO QUE COMEMORAR!

ESSE É UM MOMENTO ESPECIAL! É HORA DE OLHAR PARA TRÁS E VER POR TUDO O QUE JÁ PASSEI. SEM DÚVIDA, MUITAS TRISTEZAS E CONFLITOS MAS, FELIZMENTE, POR INÚMEROS BONS MOMENTOS, DE ALEGRIA, DE VITÓRIAS E DE CUMPLICIDADE.

DEVO ESQUECER AQUELES QUE ME IMPUSERAM OBSTÁCULOS INFUNDADOS E AGRADECER ÀQUELES QUE ME IMPULSIONARAM ADIANTE. É HORA, MAIS DO QUE NUNCA, DE VALORIZAR AS AMIZADES E OS CONHECIMENTOS ADQUIRIDOS AQUI.

NAS COISAS PEQUENAS, MAIS QUE NAS GRANDES, MUITAS VÉZES RECONHECEMOS O VALOR DOS HOMENS. TALVÉZ EU REPRESENTE APENAS MAIS UM QUE PARTE, MAS NA PARTIDA LEVAREI SAUDADES, DEIXANDO O MEU AGRADECIMENTO A TODOS PELA AJUDA E DEDICAÇÃO.

*NÃO É UM ADEUS...APENAS UMA PARTIDA
NA VIDA PRECISAMOS INOVAR NOVOS CAMINHOS...
E EU AINDA SOU UM MERO APRENDIZ....*

DEDICATÓRIA DE UMA GRANDE AMIGA

DEDICATÓRIA

Ao Grande Arquiteto do Universo, nosso senhor **Deus**, edificador de todo resplendor que configura este planeta em seus simplórios e belos detalhes os quais, em equilíbrio nos fornece o todo necessário para alimentar o corpo físico e espiritual.

Ao meu pai **Jayme Vieira Peres**, *in memorian*, e meu irmão **Luiz Sanches Peres**, *in memorian*, os quais estão felizes por eu ter subido mais um degrau da escada de Jacó ganhando conhecimento técnico - científico e o mais importante experiência profissional.

A minha mãe **Vilma da Conceição Sanches Peres** e tia **Fátima Sanches**, mulheres batalhadoras, amigas e autoritárias, pois sempre que necessário souberam se impor com a finalidade de amparar e indicar o caminho para eu ser um homem de bons costumes.

Ao senhor **João Elias**, *in memorian*, grande amigo e pessoa a qual sempre serei grato por estar onde estou, pois seu exemplo profissional me direcionou para bons caminhos, como também meu tio **Mario Passareli**, *in memorian*, sempre próximo, alegre e disposto a doar-se quando necessário.

Ao grande responsável por eu ter escolhido Anatomia Patológica, homem que para minha pessoa foi quem abriu a primeira porta, o qual sabendo de suas limitações físicas por sua saúde um pouco comprometida, conduziu-me ao estágio na UNESP de Botucatu para eu ter o que ele não poderia mais me oferecer, Doutor **Luiz Zezza Neto**, *in memorian*, e também ao Doutor **João Basile**, *in memorian*, professor, parceiro de trabalho e orientador nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

A orientadora, Professora Doutora **Michiko Sakate**, pois sem saber num momento difícil da trajetória de minha vida, abriu uma porta, a qual já tinha perdido as esperanças de conquistar, pois foram degraus difíceis de serem ultrapassados; a esta amiga, orientadora e exemplo profissional, expressei minha eterna gratidão, não somente por ter permitido esta conquista, mas pela acolhida quando tudo já parecia distante demais.

A possibilidade de desbastar a Pedra Bruta, ato que permite ao homem conhecer seu interior, superar as fraquezas e encontrar forças para continuar sua trajetória, essa capacidade estou conquistado a cada dia que passa, e esse presente foi dado pelo amigo e irmão Doutor **Wilmar Sachetin Marçal**, ato este que permitiu iluminar meu caminho.

A professora Doutora **Noeme Sousa Rocha**, pessoa que sempre ao me cobrar pontualidade, dedicação e esforço para superar minhas dificuldades, me causou no momento sentimentos de tristezas, mas hoje sei o quanto essas atitudes serviram para que atualmente eu possa ter a certeza que tenha me tornado uma pessoa melhor. Sempre ao cobrar soube acima de tudo orientar.

Agradeço ao meu aluno, amigo e companheiro na batalha durante o desenvolvimento deste trabalho **Luiz Michel dos Santos**, também ao técnico do Laboratório de Anatomia Patológica e Reprodução Animal da Universidade Estadual do Centro Oeste - UNICENTRO, pelo auxílio sempre que precisei **Antônio Carlos de Oliveira**.

Ao amigo, e inestimável conselheiro e orientador, Doutor **Alaor Aparecido de Almeida** do CEATOX do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu, pelo carinho na execução das análises e orientação técnica.

A amiga **Patrícia Marques Munhoz**, companheira de Pós-Graduação, sempre auxiliando no desenvolvimento do trabalho e sanando as dúvidas que momentaneamente impedissem o desenvolvimento deste trabalho.

Aos companheiros de trabalho na atividade de docente da UNICENTRO, **Guilherme, Paulo, Mikael, Margarete, Eunice, Maria Luiza, Juliano(s), Marcos, Cacilda, Sônia e Sebastião** e todos que tiveram paciência e tolerância para entender os momentos que não pude estar trabalhando ao lado deles nas atividades diárias e mesmo distante sempre estiveram torcendo e auxiliando.

Aos irmãos que objetivando lapidar suas pedras brutas sempre me receberam com sorrisos e o tríplice e fraternal abraço quando eu retornava após tempos de ausência, permitindo que eu renovasse as forças para continuar meu caminho. Sinto falta dos meus irmãos.

Aos inúmeros amigos, funcionários da UNESP e da UNICENTRO. Não me atreverei citar nomes, para que não seja injusto ao esquecer de alguém. O mesmo reitero referente aos companheiros de Pós-Graduação.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

A conquista do Título de Doutor, me é muito importante, possibilitando a busca de novos recursos em órgãos de fomento, fora a experiência técnica e científica conquistada, a qual devo na qualidade de professor, passar aos meus alunos, porém agradeço especialmente a Doutora **Michiko Sakate** que mais do que este título, juntamente com a **Secretaria de Estado da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior - SETI** me deu a estrutura física e equipamentos básicos necessários para o início de minhas atividades na disciplina de Anatomia Patológica da UNICENTRO, esta tese além do título de doutor, me deu o primeiro projeto aprovado como ilustrado nas fotos abaixo.



**Laboratório de Anatomia Patológica (A), Sala de Necropsia (B),
Laboratório de Histopatologia (C) e Sala Professor (D) Projeto - SETI 18/06.**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais ramos de atividade segundo CNAE – Classificação Nacional das Atividades Econômicas.....	32
Tabela 2 - Distribuição das propriedades rurais com atividades predominantes na região.....	33

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Principais agentes patogênicos e sinais clínicos relacionados a lesões neurológicas em ruminantes.....	11
Quadro 2 - Fontes de chumbo e exposição ocupacional.....	20
Quadro 3 - Fontes e formas de absorção do elemento chumbo.....	21
Quadro 4 - Descrição das alterações clínicas nos sistemas do organismo animal.....	25
Quadro 6 - Principais ramos de atividade segundo CNAE – Classificação Nacional das Atividades Econômicas.....	45
Quadro 7 - Distribuição das propriedades rurais com atividades predominantes na região.....	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização geográfica de Guarapuava – Paraná.....	31
Figura 2 - Pista de rodagem veicular cortando a Serra da Esperança e fábrica de papel higiênico em sua extremidade.....	35
Figura 3 - Relação de pequenos produtores com animais	35
Figura 4 - Moradias distribuídas de forma não uniforme pela Serra da Esperança e vilas na área limítrofe entre a Serra da Esperança e área urbana.....	36
Figura 5 - Propriedade rural modesta com bovinos.....	37
Figura 6 - Amostra de água, capim, sal mineral e solo.....	41
Figura 7 - Equipamentos utilizados para Espectrofotometria de Absorção Atômica.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS

PVC.....	Policloreto de vinila
a. C.....	Antes de Cristo
d. C.....	Depois de Cristo
°C.....	Graus centígrados
QI.....	Quociente de Inteligência
Na.....	Sódio
K.....	Potássio
Ca.....	Cálcio
P.....	Fósforo
Zn.....	Zinco
Cu.....	Cobre
Mn.....	Manganês
Al.....	Alumínio
DNA.....	Acido desoxirribonucleico
RNA.....	Acido ribonucleico
B ₁	Tiamina
PP.....	Acido nicotínico
B ₁₂	Cobalamina
pH.....	Potencial hidrogeniônico
SH.....	Grupamento sulfidril
H ₃ PO ₃	Acido fosforoso
NH ₂	Radical amino
OH.....	Radical hidroxido
ALAD.....	Gama aminovulínico desidratase
NAD.....	Nicotinamida adenina dinucleotideo
NADP.....	Nicotinamida adenina dinucleotideo-fosfatase
CH ₃	Grupo metila
CH ₂ CH ₃	3-etil-pentano
Pb(CH ₃) ₄	Chumbo tetrametila
Pb(C ₂ H ₅) ₄	Chumbo tetraetila
PbBrCl.....	Di-haleta misto
PbBr ₂ +.....	Brometo de chumbo
PbCl ₂ +.....	Cloreto de chumbo
PbO.....	Oxido de chumbo
PbR ₄ +.....	Metal alquilideno de base quatro
PbR ₃ +.....	Metal alquilideno de base três
PbS.....	Sulfeto iônico
Pb ²⁺ S ²⁻	Sulfeto de enxofre
PbO ₂	Oxido de chumbo reduzido
PbSO ₄ ⁺	Sulfato insolúvel
Pb ²⁺	Íons de chumbo
Ca ²⁺	Íons de cálcio
EDTA.....	Acido etilenodiamino tetra-acético
Ht.....	Hematócrito
Linfócitos NK.....	Linfócitos <i>Natural Killer</i>
Km ²	Quilometro quadrado

Ppm.....	Partes por milhão
g/Dl.....	Gramas por decilitro
mg/kg ⁻¹	Miligramas por quilograma
Km ²	Quilometro quadrado
mL	Mililitro
mm.....	Milimetro
µg/m ³	Micrograma por metro cúbico
µg/L.....	Micrograma por litro
µg/g.....	Micrograma por grama

SUMÁRIO

RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Contexto histórico e identificação do metal pesado: chumbo (Pb)...	3
2.2. História e ações do chumbo no organismo.....	5
2.3. Aspecto, forma e ocorrência.....	5
2.4. Toxicocinética e mecanismo de ação.....	6.
2.5. Toxicodinâmica.....	7
2.6. Intoxicação aguda.....	9
2.7. Intoxicação crônica.....	9
2.8. Diagnóstico e diagnóstico diferencial.....	10
3. BIOMONITORES E BIOMARCADORES.....	12
3.1. Fontes de exposição.....	14
3.2. Níveis de chumbo sanguíneo e alterações sanguíneas.....	21
3.3. Níveis de chumbo urinário e alterações urinárias.....	22
3.4. Distribuição do chumbo.....	23
4. IDENTIFICAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO MUNICÍPIO DE GUARAPUAVA – PARANÁ.....	31
4.1 RIO DAS PEDRAS.....	33
5. OBJETIVOS.....	38
6. MATERIAL E METODOS.....	39
6.1. AMOSTRAS.....	39
6.1.1 Água.....	39
6.1.2 Solo.....	40
6.1.3 Sal Mineral.....	40
6.1.4 Capim.....	40
6.1.5 Sangue Total.....	41
6.2 Procedimento metodológico de análise pela Espectrofotometria de Absorção Atômica.....	42
7. AVALIAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL....	44
8. RESULTADOS.....	45
8.1 Análise Estatística.....	45
8.2 Água.....	45
8.3 Solo.....	45
8.4 Sal Mineral.....	46
8.5 Capim.....	46
8.6 Sangue Total.....	46

8.7 Resultados segundo a distribuição geográfica dentro do limite da Serra da Esperança, quadro 7.....	46
9. DISCUSSAO	47
9.1 Quanto à coleta de amostra de sangue.....	47
9.2. Quanto aos resultados individuais das análises das amostras de sangue.....	47
9.3. Quanto às amostras de Sal Mineral.....	48
9.4 Quanto às amostras de Solo.....	49
9.5 Limites mensuráveis de acordo com as localidades próximas ou distantes de áreas habitadas.....	50
9.6 Quanto às amostras de água.....	51
9.7 Formação de Ponteados Basofílicos.....	51
10. CONCLUSAO.....	52
REFERÊNCIAS.....	53

PERES, J.A. BOVINOS COMO BIOINDICADORES DA POLUIÇÃO AMBIENTAL POR CHUMBO NA REGIÃO DE GUARAPUAVA - PR. Botucatu, 2009. 57p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, *Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.*

O chumbo (Pb) é um metal pesado naturalmente encontrado na natureza, principalmente sob a forma de galena. Suas concentrações consideradas toleráveis são suplantadas pela ação antropogênica, associada à exploração agropecuária inadequada e/ou deposição de resíduos químicos gerados por indústrias poluidoras do meio ambiente. Este elemento pode ser veiculado aos animais que utilizam dos recursos presentes no meio ambiente para sua subsistência comprometendo consequentemente o Bem Estar do Homem. O objetivo deste projeto é monitorar o meio ambiente utilizando amostras de sangue de bovinos que servirão como bioindicadores, além da quantificação do Pb por intermédio da técnica de Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (GBC932AA) em amostras de água, capim e solo na região do Rio das Pedras na Serra da Esperança no município de Guarapuava – Paraná. As amostras foram coletadas em quatro sub-coletas: 1) área próxima à indústria de papel e celulose; 2) área distante da indústria e próxima a atividade de pequenos produtores rurais; 3) área de lazer e próxima a atividade de pequenos produtores rurais; 4) área limítrofe entre a Serra da Esperança e à região urbana do município de Guarapuava. As amostras de água, solo e capim foram coletadas com sacos e garrafas plásticas, identificadas, refrigeradas a menos 4°C. As amostras de sangue foram coletadas por venopunção jugular na quantidade de 5mL em frasco vacutainer. As análises foram realizadas no CEATOX/IB, UNESP – Botucatu, SP, utilizando a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica (GBC932AA) obtendo os seguintes resultados: no primeiro ponto de coleta, as concentrações encontradas de Pb foram: solo no interior do rio igual a 0,72µg/g e solo na margem igual a 3,53µg/g, porém não foi detectado para capim. No segundo ponto de coleta a concentração no solo foi de 0,75µg/g e de 6,14µg/g no interior do rio e na margem, respectivamente, e para o capim foi de 5,33µg/g. No terceiro ponto de coleta, a concentração de Pb no solo foi de 10,36µg/g e não detectado nas amostras de capim. Na quarta área não foi detectado Pb em nenhuma das amostras coletadas. Em nenhum dos quatro pontos de coleta foi detectado a concentração de Pb em água. A quantidade de Pb foi superior nas amostras das regiões de maior atividade de pequenos produtores e de movimentação de pessoas, visto que as atividades antropogênicas contribuem para a mobilização do Pb já presente no meio ambiente e principalmente por favorecer a deposição deste com as explorações extrativistas realizadas de forma inapropriada. A média de Pb encontrada nas amostras de sangue dos bovinos foram de 0,23µg/mL estando o nível abaixo dos limites considerados toleráveis, porém este resultado comprova que os bovinos podem ser utilizados como bioindicadores principalmente pelo fato dos animais mais afetados também estarem presente nas regiões onde foram encontrados o elemento Pb nas amostras ambientais. Não foi detectado Pb nas amostras de água por estas possuírem uma concentração elevada de gorduras e óleos, o que favorece a adsorção do elemento e a conseqüente deposição no solo no fundo e nas margens do rio.

Apoio técnico financeiro – SETI/PR 18/06.

Palavras-chave: Bioindicadores Ambientais; Poluição Ambiental; Chumbo; Bovinos; Guarapuava - PR.

PERES, J.A. BOVINES AS BIOINDICADOTORS OF LEAD ENVIRONMENTAL POLLUTION IN THE GUARAPUAVA-PR AREA. Botucatu, 2009. 57p. Thesis (Doctorate) – School of Veterinary and Animal Science, Botucatu Campus, São Paulo State University.

Lead (Pb) is a heavy metal naturally found in nature, especially in the form of galena. Its concentrations considered tolerable are surpassed by anthropogenic action associated to inadequate agricultural exploration and/or deposition of chemical waste produced by environment polluting industries. This element can be vehiculated to the animals that utilize environmental resources for survival and in consequence affects human well being. The purpose of this study was to monitor the environment using bovine blood samples as bioindicators, as well as quantify Pb by Flame Atomic Absorption Spectrometry (GBC932AA) in water, grass, and soil samples in the Rio das Pedras area in Serra da Esperança, municipal district of Guarapuava – Paraná. Samples were collected from four collection sites: 1) area surrounding a paper and cellulose industry; 2) area distant from the industry and close to the activity of small rural producers; 3) recreational area close to the activity of small rural producers; 4) border area between Serra da Esperança and the city of Guarapuava. Water, soil and grass samples were collected in labeled plastic bottles and bags refrigerated at -4°C. Blood samples were collected by jugular venipuncture (5mL) into a vacutainer tube. Analyses were performed at CEATOX/IB, UNESP – Botucatu, SP, using Atomic Absorption Spectrometry, and yielded the following results: 1) in the first collection site, Pb concentrations were 0.72µg/g in river soil and 3.53µg/g in river-margin soil while no Pb was detected in grass; 2) in the second collection site, Pb concentration was 0.75µg/g in the soil, 6.14µg/g in river and river-margin soil, and 5.33µg/g in grass; 3) in the third collection site, Pb soil concentration was 10.36µg/g, and no Pb was detected in grass samples; 4) in the fourth site, no Pb was detected in any of the samples. Pb was undetected in the water in all collection sites. Pb amount was the highest in the samples collected in the areas where the activity of people and small rural producers was greater given that anthropogenic activities contribute to the mobilization of environmental Pb and favor its deposition via inappropriate extractivism. In bovine blood samples, mean Pb was 0.23µg/mL, which is below the limits considered tolerable. However, this finding confirms that bovines can be used as bioindicators, especially due to the fact that the most affected animals were also present in the areas where Pb was found in environmental samples. No Pb was detected in water samples because water shows a high concentration of fats and oils that favor Pb adsorption and the consequent deposition of soil on the bottom and margins of the river.

Technical and financial support – SETI/PR 18/06.

Key-words: Environmental Bioindicators; Environmental pollution; Lead; Bovines; Guarapuava - PR.

BOVINOS COMO BIOINDICADORES NA POLUIÇÃO AMBIENTAL POR CHUMBO NA REGIÃO DE GUARAPUAVA – PR

1. INTRODUÇÃO

O chumbo (Pb) é considerado um metal pesado encontrado na natureza sob a forma de galena como o sulfeto de chumbo (PbS) o que permite sua exploração em minerações. Sua procedência nesta forma são as erupções vulcânicas. As concentrações consideradas toleráveis são suplantadas pela ação antropogênica, associada à exploração agropecuária inadequada e/ou deposição de resíduos químicos gerados por indústrias poluidoras do meio ambiente. O metal pode ser veiculado ao homem e aos animais que utilizam dos recursos naturais para sua subsistência. Este elemento não possui função fisiológica no organismo, acumulando-se nos eritrócitos em casos agudos, e em órgãos como vísceras, ossos e dentes pela vida média de 30 anos (VANZ *et al*, 2003; MOREIRA *et al*, 2004).

As consequências do chumbo no organismo estão associadas às alterações relacionadas à bioquímica celular, como a inativação de enzimas as ATPases de cálcio, sódio e potássio, ácido aminolevulínico desidratase (ALAD), ácido 5-aminolevulínico (ALA) e principalmente as enzimas com atividades relacionadas a detoxicação hepática como a citocromo P₄₅₀. A ação mais significativa do chumbo é o processo degenerativo dos sistemas nervosos central e periférico favorecido pela desmielinização e degenerações axonais porém, todos os sistemas do organismo são comprometidos pela alterações bioquímicas celulares favorecidas pelo chumbo (VANZ *et al*, 2003; MOREIRA *et al*, 2004).

O objetivo deste projeto é monitorar o meio ambiente utilizando amostras de sangue de bovinos que servirão como bioindicadores, além da quantificação do Pb por intermédio da técnica de Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (GBC932AA) em amostras de água, capim e solo na região do Rio das Pedras na Serra da Esperança no Município de Guarapuava – Paraná, dividindo a área de coleta em quatro sub-coletas: 1) área próxima à indústria de

papel e celulose; 2) área distante da indústria e próxima a atividade de pequenos produtores rurais; 3) área de lazer e próxima a atividade de pequenos produtores rurais; 4) área limítrofe entre a Serra da Esperança e à Região Urbana do Município de Guarapuava.

Serão coletas amostras de água, solo e capim sendo acondicionadas em sacos e frascos plásticos, identificadas e refrigeradas a menos 4°C, objetivando verificar a contaminação ambiental. As amostras de sangue serão coletadas de bovinos por venopunção jugular na quantidade de 5mL em frasco vacutainer com a finalidade de bioindicação ambiental. Estas amostras foram analisadas no Centro de Atendimento Toxicológico CEATOX/IB, UNESP – Botucatu, SP, utilizando a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica (GBC932AA).

A utilização de animais pecuários como bioindicadores ambientais na intoxicação por chumbo tem como objetivo proporcionar precocemente a saúde e o bem estar dos animais e do homem, evitando consequências que comprometam a saúde e o Bem Estar do homem e dos animais (MARÇAL *et al*, 2004; MARÇAL *et al*, 2005).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Contexto histórico e identificação do metal pesado: chumbo (Pb)

O chumbo é um metal pesado que por possuir boa maleabilidade foi utilizado pelos Romanos desde o início da civilização em XII e XIII em construções, nas estruturas das edificações, em tubulações para o abastecimento hídrico, em residências e na confecção de utensílios domésticos. O chumbo comprometendo a saúde do homem, foi descrito por Hipócrates, em 370 a.C., referindo-se à ocorrência de cólica abdominal em trabalhadores da área de mineração, e, mais de mil anos depois, Avicena, discípulo de Aristóteles recomendou a utilização de purgativo em quadros clínicos de cólica com o objetivo de eliminar os compostos de chumbo retidos no sistema gastroentérico. Desde aquela época até os dias atuais, os homens são expostos à contaminação por chumbo, quando as residências com abastecimento hídrico proveniente de tubulações com canos compostos por chumbo, os quais reagem quimicamente com a acidez da água sendo mobilizados e distribuídos para a população. Isto foi descrito em edificações antigas por pesquisadores da Universidade Federal da Bahia (UFB), do Curso de Medicina, com destaque a estas descrições que persistem até os dias atuais. A mobilização do chumbo de tubulações em construções ainda pode ocorrer hoje, pois este elemento entra na composição de tubo de policloreto de vinila (PVC) com a finalidade de fornecer moderada capacidade de maleabilidade ao material. Assim, o metal pesado é mobilizado quando reage com substâncias ácidas no interior das tubulações e até mesmo quando produtos líquidos quentes são veiculados por estas tubulações. O chumbo é reconhecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um dos elementos químicos mais perigosos à saúde pública (VANZ *et al*, 2003; MOREIRA *et al*, 2004). O chumbo é o metal mais antigo utilizado pelo homem, isto comprovado pela existência de documentos que relatam a sua utilização pelos egípcios na produção de moedas, artefatos para decoração e produtos utilizados com finalidade bélica, desde 5000 a.C. (VANZ *et al*, 2003; MOREIRA *et al*, 2004).

Com a Revolução Industrial, ocorreu acentuada emissão de chumbo, para o meio ambiente. Entretanto, a dispersão descontrolada do chumbo vem sendo bastante reduzida nas últimas duas décadas em muitos países ocidentais, e, como consequência, sua concentração ambiental tem diminuído substancialmente (NRIAGU, 1996). Exemplos disso são pesquisas arqueológicas que permitiram obter informações relativas às exposições ao chumbo, em diferentes períodos da história, como, por exemplo, estudos realizados na Inglaterra, baseados em análises de amostras de ossos provenientes de escavações. O nível de exposição observado no período neolítico, o estudo constatou que, na Idade do Ferro, a exposição relativa era de 3,5; no período Romano, de 7,0; na Era Medieval, de 13,0; nos séculos XVIII e XIX, de 10,0; e nos dias atuais, de 4,0. Portanto, nos tempos modernos, o nível de exposição ao chumbo é praticamente a metade do observado no período Romano (OGA *et al*, 2008).

Entre 1985 e 1989, o *National Animal Poison Control Center*, dos Estados Unidos da América, registrou a participação do chumbo em 0,5% dos relatos de intoxicação em animais de companhia, porém, os animais de produção são mais suscetíveis à exposição, especialmente os ruminantes. Bovinos com deficiências nutricionais, principalmente de fósforo, por não serem seletivos em sua dieta e na tentativa de equilibrar esta deficiência, adquirem o hábito de ingerir compostos metálicos, ao lamberem cercas e paredes pintadas com tintas que contém, em sua composição, o carbonato de chumbo. Há relatos de intoxicação por este metal em animais colocados para pastar em propriedades onde anteriormente funcionavam fábricas de baterias e indústrias de tintas (SPINOSA *et al*, 2008).

Quadros de intoxicação por chumbo foram descritos na Medicina Veterinária por Oga *et al* (2008), quando este elemento era utilizado na confecção e pintura de comedouros disponíveis para os animais. Este elemento era mobilizado e ingerido pelos animais quando, no seu interior, eram colocadas substâncias ácidas, quentes e até mesmo por animais adquirirem o hábito de lambar e/ou morder os vasilhames.

2.2 História e ações do chumbo no organismo

Os efeitos do envenenamento causado pelo chumbo foram observados pelos Gregos, favorecido quando consumiam bebidas ácidas em recipientes revestidos com chumbo, senão quando adulteravam o vinho azedo com sais doces de chumbo para melhorar sua palatabilidade. A consequência destas atitudes era desconhecida, o que permitiu aos historiadores relacionarem o envenenamento da aristocracia Grega com o chumbo, que contribuiu com a queda deste Império, principalmente porque o chumbo afeta principalmente o sistema nervoso, favorecendo alterações degenerativas tardias e reprodutivas, ocasionando disfunções dos espermatozóides associadas à ocorrência de abortos em mulheres (BAIRD, 2002; SADAQ, 2002).

Hipócrates descreveu as alterações neurológicas, cólicas e a gota úrica no homem durante a Idade Média, porém, estas informações foram esquecidas e somente no século XVI é que reapareceram na literatura médica, quando Paracelsus descreveu a doença de homens que trabalhavam em mineração, associando suas enfermidades à intoxicação por chumbo e descrevendo, assim, as doenças de caráter ocupacional (BAIRD, 2002; SADAQ, 2002).

2.3 Aspecto, forma e ocorrência

O chumbo é um metal pesado com número atômico igual a 82, peso atômico igual a 207,21 e ponto de fusão igual a 327°C. A partir de 550°C, começa a produzir vapor, entretanto é encontrado em ebulição a 1740°C na crosta terrestre, em concentrações de aproximadamente 13 partes por milhão (ppm). As principais fontes naturais de chumbo são as emissões vulcânicas, responsáveis por volume de 6.400 toneladas/ano, pelo intemperismo geoquímico e pelas névoas aquáticas. As maiores fontes geológicas do metal são as rochas ígneas e metamórficas (WHO, 1995), sendo encontrado na forma de sulfeto de chumbo na composição do minério galena, um sulfureto que representa a principal fonte de extração de chumbo. Esta rocha é densa, com dureza 2.5, cristaliza no sistema cúbico e apresenta cristais de formas

cúbica, octaédrica e combinadas nas duas formas (ATSDR, 1999).

O chumbo apresenta-se de duas formas, a tetraetila e a tetrametila, formando compostos orgânicos sintetizados, ligados ao carbono, ambos líquidos e incolores. O ponto de ebulição do chumbo tetrametila é 110°C e o do chumbo tetraetila é 200°C (WHO, 1995), sendo que esses possuem características lipossolúveis, o que facilita sua absorção pela pele, pelo trato gastrointestinal e pelos pulmões. A toxicidade desses, todavia, deve-se à conversão deles em chumbos trietila e compostos inorgânicos (KLAARSEN, 1991; SADAIO, 2002).

2.4 Toxicocinética e mecanismo de ação

Diferentemente de outros metais – como o ferro, o zinco, o cobalto, o cromo, o manganês e o cobre, o chumbo é um elemento sem função fisiológica no metabolismo dos seres vivos. O processo de absorção do chumbo proveniente de fontes ambientais depende da quantidade do metal, do seu estado físico e químico, além da influência de fatores inerentes ao homem ou animal afetado, como idade, higiene, condição nutricional e, possivelmente, fatores genéticos. O chumbo é absorvido por todas as vias, porém, a respiratória favorece a absorção imediata, principalmente quando existe a inalação na forma de vapor. A absorção pela via oral, a principal via de exposição para os animais, depende da solubilidade do sal de chumbo ingerido. Desta forma, o chumbo metálico em sua forma sulfídrica é pouco absorvido, no entanto, apesar da absorção de chumbo ser baixa, isto entre 1% a 2%, na forma de sais de acetato, de fosfato e de óxido de carbonato, esse metal é facilmente absorvido via gastrointestinal (PAOLIELLO, 2001; SPINOSA & GÓRNIK, 2008).

Deficiências nutricionais também podem promover o aumento na taxa de absorção do chumbo no trato gastrointestinal, como, por exemplo, as deficiências de cálcio e ferro na dieta, as quais impedem a competição entre estes elementos e o chumbo para a absorção, favorecendo que o Pb se ligue aos receptores que ficam livres, permitindo, assim, a absorção deste metal

(SPINOSA & GÓRNIAK, 2008).

A absorção do chumbo proveniente da atmosfera para o sangue envolve dois processos: o primeiro é a passagem de chumbo do ar ao trato respiratório e segundo é a remoção e absorção do chumbo, transferindo-o para a circulação. As partículas são depositadas principalmente nos epitélios alveolares pulmonares, porém sua absorção depende do tamanho destas partículas, da quantidade inalada e do tempo de exposição, além das condições de saúde de quem as inalou (WHO, 1995).

Uma vez absorvido, a distribuição do chumbo ocorre independente da via de absorção (WHO, 1995; ATSDR, 1999). Sua distribuição no organismo depende inicialmente do fluxo sanguíneo para vários órgãos e tecidos. Uma redistribuição pode ocorrer baseada na afinidade relativa do elemento nos tecidos e sua toxicodinâmica (ATSDR, 1999). Nos eritrócitos o chumbo encontra-se cerca de 90% deste ligado à porção heme da hemoglobina, que posteriormente serão distribuídos pelo organismo (SPINOSA & GÓRNIAK, 2008).

O chumbo é excretado do organismo associado ao conteúdo urinário, fecal e pela bile. Todo o metal proveniente da dieta e não absorvido pelo trato gastrointestinal é excretado nas fezes (WHO, 1995). As vias com menor concentração de eliminação do chumbo são: suor, saliva, cabelo, unhas e leite materno (OGA *et al*, 2008). A correlação entre a concentração de chumbo excretado pelo leite materno varia entre 10 e 30% da concentração materna na plumbemia (ONG *et al*, 1985; OGA *et al*, 2008).

2.5 Toxicodinâmica

Por ser um metal eletropositivo, o chumbo apresenta afinidade por agrupamentos sulfidril (SH), ácido fosfórico (H_3PO_3), radical amino (NH_2), radical hidróxido (OH), formando compostos endógenos que interferem nas funções celulares. O mecanismo de ação tóxica do chumbo mais conhecido é a sua interferência na biossíntese do heme e na composição dos eritrócitos por inibir a síntese de enzimas necessárias à sua função. Os mecanismos de

neurotoxicidade não são bem conhecidos; estudos realizados demonstraram a associação da exposição ao metal e distúrbios no metabolismo dos carboidratos e de neurotransmissores, como a acetilcolina e as catecolaminas, no catabolismo de triptofano, na síntese endógena de nucleotídeos piridínicos, principal fonte de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e nicotinamida adenina dinucleotídeo-fosfatase (NADP), coenzimas importantes para o desenvolvimento cerebral. No sistema nervoso periférico, o metal promove a desmielinização e a degeneração axonal, prejudicando as funções psicomotoras e neuromusculares (PAOLIELLO, 2001, SALGADO, 2008).

No sistema renal, estudos evidenciaram que as mitocôndrias sofrem interferência dos processos de oxidação e fosforilação oxidativa, tendo como consequência a diminuição das funções de reabsorção das células epiteliais que compõem os túbulos proximais. Observa-se a presença de corpos de inclusão formados pelos complexos chumbo-proteínas, constituídos de ácidos aspártico e glutâmico e pouca cisteína. O chumbo liga-se aos grupos carboxílicos e amínico dos aminoácidos (PAOLIELLO, 2001, SALGADO, 2008).

O chumbo promove alterações inespecíficas, interferindo na homeostasia dos eletrólitos sanguíneos como sódio, potássio, cálcio e fósforo (Na, K, Ca e P); no metabolismo de minerais zinco, cobre, manganês e alumínio (Zn, Cu, Mn, Al); no metabolismo de carboidratos, lipídeos, ácido ribonucléico (RNA) e aminoácidos; na síntese de proteínas; na metabolização de complexos vitamínicos, como tiamina (B₁), ácido nicotínico (PP) e cianocobalamina (B₁₂); na produção de hormônios, como a tiroxina e os hipofisários (PAOLIELLO, 2001).

Os estudos epidemiológicos realizados com trabalhadores expostos ao chumbo não comprovaram a capacidade deste atuar como promotor na carcinogênese renal interferindo nos processos cromossômicos por induzir a estabilização da cromatina e inibir o mecanismo de reparo do ácido dextrirribonucleico (DNA) (SALGADO, 2008).

2.6 Intoxicação aguda

Em animais, existe uma correlação positiva entre o chumbo nos tecidos e as concentrações do metal provenientes da dieta, embora os níveis tissulares sejam quase sempre mais baixos (WHO, 1995). A sintomatologia manifestada pelos animais intoxicados é de origem, principalmente, neurológica e/ou gástrica. Em animais de companhia, a sintomatologia nervosa é caracterizada por alterações comportamentais, apatia, ataxia, nistagmo, opistótono, convulsões e, em alguns casos, a cegueira. As alterações produzidas no trato gastrointestinal (TGI) são vômitos, anorexia, desconforto abdominal, diarreia, apetite depravado e abdômen retraído. Os sinais clínicos classificados como demência podem abranger o comportamento de pressionar a cabeça contra objetos, bruxismo, vocalizações, corridas a esmo, andar em círculos ou andar compulsivo. Em gatos, ainda é relatada a ocorrência de poliúria e polidipsia, megaesôfago e disfagia (GFLLER, 2006).

2.7 Intoxicação crônica

É rara a ocorrência de intoxicação crônica por chumbo em animais domésticos. Quando ocorre, é em razão da ingestão de água contaminada por indústrias que utilizam o chumbo e não fazem o tratamento adequado de seus resíduos. A intoxicação crônica pode levar a alterações no sistema nervoso periférico, com sinais clínicos de polineuropatia (tetraparesia, tetraparalisia ou reflexos espinhais diminuídos) (GFLLER, 2006).

Microscopicamente se observada a presença de necrose neuronal, degeneração de células de Purkinje, proliferação astrocitária, desmielinização de nervos periféricos, corpúsculos de inclusão em células epiteliais hepáticas e renais com conseqüente necrose epitelial tubular (SPINOSA *et al*, 2008).

2.8 Diagnóstico e diagnóstico diferencial

Anamnese detalhada e histórico de evolução da sintomatologia desenvolvida, associada à presença das fontes de exposição de chumbo nas propriedades, indicam a toxicose por este metal pesado. Na abordagem diagnóstica, a cinomose nos cães deve ser o principal diagnóstico diferencial a ser considerado (PLUNKETT, 2005), seguido de outras etiologias que levem ao desenvolvimento de sintomatologias neurológicas, como a encefalomalácia, hipovitaminose A, tétano, intoxicação por arsênio, mercúrio, raiva, encefalite e alterações vertebrais (GFLLER, 2006).

O exame laboratorial mais indicado para o diagnóstico de intoxicação por chumbo é a detecção deste elemento químico nas fezes, na urina, no leite e, principalmente, no sangue, em casos agudos ou de intoxicações recorrentes (GFLLER, 2006). Outro método diagnóstico empregado é a avaliação da concentração do ácido gama-aminovulênico na urina, o qual é o substrato da enzima ácido gama-aminovulínico desidratase (ALAD), uma das enzimas envolvidas na biossíntese da heme que sofre comprometimento funcional pela ação do chumbo (ATSDR, 1999; GFLLER, 2006).

O quadro 1 enumera os principais diagnósticos diferenciais com lesões neurológicas em bovinos.

QUADRO 1: principais agentes patogênicos e sintomas clínicos relacionados a lesões neurológicas em ruminantes.

ETIOLOGIA	SINAIS CLÍNICOS
Chumbo (intoxicação aguda)	Náuseas, desconforto abdominal e vômitos
Chumbo (intoxicação crônica)	Anorexia, perda de peso, apatia ou irritabilidade, vômitos, fadiga, anemia, falta de coordenação, dores em articulações e no abdômen, irritabilidade, êmeses e distúrbios sensitivos de extremidades
Closantel (desacopla a fosforilação oxidativa)	Depressão acentuada, gemidos, perda da motilidade dos membros, decúbito lateral, dor abdominal, fraqueza dos membros, sensibilidade cutânea e nistagmo ocasional. Midríase bilateral, ausência de reflexo pupilar à luz e cegueira bilateral, degeneração aguda da retina, edema e hemorragia pupilar
Encefalite espongiforme bovina	Lesões bilaterais do tronco cerebral, densidade vacuolar em bulbo, mesencéfalo e tálamo.
Intoxicação por uréia	Desconforto abdominal intenso, tremores musculares, incoordenação, fraqueza, dispneia, timpanismo e mugidos constantes
<i>Ipomoea asarifolia</i> (salsa e batatarana) – Região Nordeste	Incoordenação, tremores musculares, movimentos pendulares de cabeça e membros anteriores, sialorreia, diminuição do tônus da língua e diminuição dos reflexos do lábio superior
<i>Ipomoea carnea e fistulata</i> (Manjorana, canudo algodão bravo, mata cabra e capa bode) – Região Nordeste	Ataxia, hipermetria, tremores musculares, sonolência e emagrecimento progressivo
Organofosforados e Carbamatos (inibidores da colinesterase)	Decúbito esternal com pescoço estendido e membros anteriores estendidos para trás. Queixo apoiado no solo e decúbito lateral, hiperexcitabilidade, agressividade, tremores musculares na região escapular, do flanco e das coxas, miose, lambem o solo com agressividade e tem hipersalivação
<i>Prosopis juliflora</i> (Algaroba) – Região Nordeste	Insuficiência dos nervos cranianos, relaxamento da mandíbula, torção da cabeça, movimentos involuntários da língua, salivação profusa, disfagia e atrofia de masseter
Herpesvirus	Meningoencefalite, sinais clínicos de depressão, tremores, opistótono, protusão da língua, salivação, bruxismo, cegueira, ataxia, convulsões
Raiva	Congestão de conjuntiva e esclerótica, ataxia, sialorreia, paralisia de mandíbula e/ou membros.

FONTE: CORREA & CORREA (1992); CARLTON & McGAVIN (1998); CANTARINO & JUNQUEIRA (2000); LORENZI (2000); BARBOSA *et al* (2005); SCHIFER *et al* (2005).

3. BIOMONITORES E BIOMARCADORES

Em 1969, Hatch e Funnel, em Ontário no Canadá, utilizaram animais como biomonitores ambientais, realizando estudos retrospectivos referentes aos últimos 15 anos da ocorrência de intoxicação por chumbo em bovinos, observando a concentração de 1,52ppm, enquanto o limite aceitável seria de 0,05 a 0,25ppm.

Como os animais pecuários estão em contato direto com fontes de recursos naturais, água, solo e plantas, que podem estar contaminados pelo acúmulo de chumbo, eles se tornam potenciais biomonitores ambientais (SHARMA & STREET (1980); AMODIO-COCCHIERI & FIORE (1987); DEY *et al*, (1996), MARÇAL, (2005). O estreito contato dos bovinos com as fontes de contaminação os tornam mais propensos às enfermidades ocasionadas pela contaminação por metais pesados. A avaliação da contaminação não se deve restringir apenas à mensuração dos resíduos químicos em amostras orgânicas dos animais, mas também associada ao quadro clínico, e as características epidemiológicas da região onde o animal se encontra, considerando a fonte e o tempo de exposição. Deve-se observar ainda as alterações bioquímicas celulares favorecidas pelos produtos químicos, como ocorre com o baixo nível da atividade colinesterásica apresentado pelos animais expostos a praguicidas, organofosforados e/ou carbamatos (VIGILÂNCIA AMBIENTAL EM SAÚDE, 2002).

O chumbo é reconhecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um dos elementos químicos mais perigosos à saúde animal e humana, colocando este elemento em dois grupos distintos: o chumbo inorgânico e o orgânico. O chumbo inorgânico favorece a intoxicação, principalmente, pelas vias respiratória e digestiva, acumulando-se inicialmente nos tecidos moles e posteriormente depositam-se nos ossos, dentes, cabelos e pêlos. Quando circulante, o chumbo inorgânico se encontra associado aos eritrócitos que irão distribuí-lo. A intoxicação pela forma orgânica ocorre principalmente por meio do chumbo na forma de tetraetila e tetrametila, apresentando características lipossolúveis e favorece assim a sua absorção pela pele, trato gastrointestinal e

pulmões (VANZ *et al*, 2003 ; SCHIFER *et al*, 2005).

A concentração sanguínea de chumbo na fase de plumbemia é o indicador biológico mais importante na prevenção da intoxicação ocupacional por este elemento, servindo para o controle da exposição em trabalhadores. Desta forma, é determinada a tolerância biológica aplicada à plumbemia nos países industrializados e por extensão em todo o mundo, variando entre 50µg/dL e 80µg/dL. No Brasil, desde 1983, por meio do Anexo II, da Norma Regulamentadora Número Sete, o Ministério do Trabalho definiu-se como 60µg/dL o limite de tolerância biológica para a plumbemia no homem, o Ministério do Trabalho complementou esta norma com a Portaria nº 24/1994, publicada em dezembro de 1994, substituindo o termo “limite de tolerância biológica” por “índice biológico máximo permitido” (IBMP) (CORDEIRO *et al*, 1996).

Para estudos de exposição é necessária a adoção dos biomarcadores, que são utilizados para vários propósitos dependendo da finalidade do estudo e do tipo da exposição. Vários também são os parâmetros biológicos que podem estar alterados como consequência da interação entre o agente químico e o organismo, entretanto, a determinação quantitativa destes parâmetros, utilizados como indicadores biológicos ou biomarcadores, só é possível se existir correlação com a intensidade da exposição e/ou o efeito biológico da substância (AMORIM, 2003).

Em relação ao chumbo, a enzima ácido delta aminolevulínico (ALA-D) presente nos eritrócitos é um biomarcador importante. Esta presente nos eritrócitos por ser sensível à inibição pelo chumbo. Com a concentração de chumbo na urina, na faixa de 5 a 40µg/dL, já é possível observar correlação negativa entre a ALA-D e o chumbo no sangue. O ALA-D acumula-se nos tecidos e é excretado em grande quantidade na urina, no entanto, este biomarcador apresenta correlação com concentrações de chumbo no sangue acima de 40µg/dL (CALDEIRA *et al* (2000); MARÇAL *et al* (2003); MOREIRA & MOREIRA (2004).

A biodisponibilidade de metais em solos está associada à adsorção de

metais na fase líquida. Na fase sólida, a biodisponibilidade é controlada pela concentração de íons metálicos e seus complexos na solução do solo, bem como exercem grande influência no seu acúmulo em plantas. A absorção específica é fortemente dependente do potencial hidrogeniônico (pH) e está relacionada à hidrólise dos metais, assim, os metais com maiores possibilidades de formar hidroxocomplexos são mais absorvíveis. Os valores de pH da reação determinam o comportamento de adsorção de diferentes metais em solos e a adsorção específica aumenta com a diminuição dos valores de pH, mas, no caso do cobre e do chumbo, que têm os mesmos valores de pH, o chumbo, com maior tamanho iônico, é mais fortemente adsorvido, com pH igual a 7,7 (ROCHA *et al*, 2004).

3.1 Fontes de exposição

Até aproximadamente o ano de 1970, o chumbo era utilizado como aditivo em combustíveis, representando, portanto, fonte de contaminação ambiental. No Brasil, ainda que sem uma legislação específica que proíba o chumbo como aditivo na gasolina, o seu emprego tornou-se totalmente dispensável quando ficou estabelecida, por meio da Lei nº 7.823/93, a obrigatoriedade de se utilizar 22% de etanol como aditivo na gasolina. Com essa porcentagem de etanol, o chumbo comprometeria o funcionamento dos motores dos veículos (UNEP, 2008).

O uso de gasolina com chumbo está declinando mais na Europa e no México porque todos os carros novos devem ter catalisadores. Mas o consumo de gasolina com chumbo continua na maior parte do restante do mundo; e quase toda gasolina ainda tem chumbo em muitas partes da África (UNEP, 2008), Ásia e América do Sul (SPIRO *et al*, 2009). Já nas Filipinas, uma política para instituir a gasolina livre de chumbo encontra-se em desenvolvimento (SHARMA *et al*, 2000).

O chumbo associado ao grupo metila (CH_3) e grupo etila (CH_2CH_3), isto é, o tetrametilchumbo ($\text{Pb}(\text{CH}_3)_4$) e o tetraetilchumbo ($\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$), quando utilizado como aditivo para gasolina, libera, pela combustão, os tetraalquil, os

quais devem ser removidos para que não formem depósitos metálicos, ocasionando danos ao motor do veículo. Para isso, são adicionadas pequenas quantidades de dibrometo de etileno e dicloreto de etileno, favorecendo a remoção dos resíduos indesejáveis, porém liberados pelo tubo de escape do carro no estado gasoso, na forma de di-haleta misto PbBrCl , e como PbBr_2 e PbCl_2 , os quais, sob a influência da luz solar, formam o composto PbO , o denominado óxido de chumbo, que permanece na atmosfera durante horas ou dias. Este, por sua vez, por ação das intempéries da natureza, chuvas e ventos, é depositado sobre vegetais e pastos utilizados para alimentação de animais. (BAIRD, 2002).

Os compostos de chumbo-tetraalquila (PbR_4), são voláteis, e que evaporam-se da gasolina em certa extensão, aportando no ambiente na forma gasosa. Eles não são solúveis em água, mas são rapidamente absorvidos pela pele e inalação. No fígado, estas moléculas são convertidas nos íons PbR_3^+ , tornando-se neurotoxinas, por terem a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. Esses compostos causam sintomas miméticos da psicose no homem, em baixas doses, mas em altas são fatais (BAIRD, 2002). Estudos epidemiológicos demonstraram que mulheres, ao exercerem a atividade ocupacional em postos de gasolina, apresentam dificuldade em engravidar, associada à formação de cistos ovarianos e até mesmo à atrofia destes órgãos, favorecida pela fibrose intensa estimulada por reação inflamatória; essa contaminação pelo chumbo seria ocasionada por sua inalação ao se abastecerem os carros (VANZ *et al*, 2003).

O ponto de fusão relativamente baixo do chumbo, 327°C , permite que ele seja prontamente trabalhado e moldado. O chumbo foi usado antigamente como metal para estruturas e na construção de edifícios à prova de intempéries. Os romanos utilizavam-no em dutos de água e recipientes para cozinhar. De fato, análises de amostras de núcleo de gelo da Groenlândia indicaram que a concentração atmosférica de chumbo atingiu um valor máximo na época dos romanos, que não foi alcançado outra vez até o Renascimento. O chumbo ainda é utilizado na indústria da construção, em matéria para telhados e chapas para cobrirem juntas, com o objetivo de isolamento acústico, e

quando combinado com estanho forma a solda, uma liga de baixo ponto de ebulição usada em eletrônica e também aplicada para auxiliar na vedação de latas de estanho (BAIRD, 2002; SADAIO, 2002; ROCHA et al, 2004; SCHIFER et al, 2008).

O chumbo elementar e o óxido de chumbo (PbO_2), são utilizados como os dois eletrodos nas baterias de quase todos os veículos, constituem as formas do elemento de uso mais generalizado. Quando a bateria funciona para fornecer eletricidade, especialmente para ligar o motor, parte do eletrodo de chumbo é convertido para Pb^{2+} na forma do sulfato insolúvel, PbSO_4 , essa reação é revertida, ocorrendo, por esse mecanismo, a regeneração dos reagentes, durante o processo de recarga que ocorre após o funcionamento do motor (BAIRD, 2002; SADAIO, 2002; ROCHA et al, 2004; SCHIFER et al, 2008).

A maior parte do chumbo que percorre o organismo está inicialmente presente nos eritrócitos, porém essa quantidade eleva-se até alcançar um platô, e o excesso deposita-se nas vísceras, entre as quais se destaca o cérebro. Finalmente, o chumbo deposita-se nos ossos e dentes, substituindo o cálcio, já que íons de Pb^{2+} e Ca^{2+} são similares em tamanho. A absorção de chumbo pelo organismo aumenta em pessoas que tem deficiência de cálcio e/ou ferro e é muito mais elevada em crianças do que em adultos, favorecido pela ação dos hormônios androgênicos que auxiliam no equilíbrio de cálcio no organismo. Em enfermos ou idosos, ocorre a remobilização do chumbo estocado, que volta para a corrente sanguínea, onde pode produzir efeitos tóxicos (BAIRD, 2002; SADAIO, 2002; ROCHA et al, 2004; SCHIFER et al, 2008).

O chumbo é relativamente abundante na crosta terrestre, apresentando uma concentração média no solo de 10 a 20mg/kg, proveniente principalmente de erupções vulcânicas. Sua concentração natural na atmosfera é estimada em cerca de $0,0005\mu\text{g}/\text{m}^3$ no ar; em águas superficiais a concentração natural está em torno de $0,02\mu\text{g}/\text{L}$. O chumbo existe naturalmente em plantas devido a uma consonância positiva entre a concentração do metal nas plantas e no solo (SCHIFER et al, 2005).

O chumbo é encontrado na composição de tintas utilizadas para pintura

de edificações, brinquedos, tintas para a elaboração de obras artísticas e também utilizadas em pintura de asfalto e cercas de propriedades rurais, os brinquedos, além da tinta, possuíam esse elemento também em sua confecção estrutural. O chumbo também está presente na confecção de pesos de cortina; chumbada para pesca; chapas metálicas, rolhas de garrafas de vinho; baterias; bolas de golfe; pratos de cerâmica esmaltados; óleo de motor que consome gasolina com chumbo; telhas e caldeiras de fundição (GFELLER, 2006).

Encontra-se chumbo na munição utilizada por caçadores de aves aquáticas. Assim muitos patos e gansos que são feridos ou mortos ou quando expostos por período prolongado ao chumbo, após ingestão de munição produzida com este elemento apresentaram níveis altos de Pb pois este metal dissolvido no organismo. Além disso, alguns patos consomem as bolinhas de chumbo abandonadas na terra ou no fundo das lagoas, confundindo-as com comida ou grãos. Quando aves predadoras capturam aves contaminadas, também tornam-se vítimas. Por essas razões, as balas têm sido proibidas em países como os Estados Unidos, Canadá, Noruega e Dinamarca. Mesmo assim na América do Norte, muitas aves morrem ao contaminarem-se quando ingerem chumbadas de linhas de pesca, utilizadas em pescarias esportivas (BAIRD, 2002).

A ingestão de suprimentos alimentares sólidos contaminados com chumbo contribuiu para a absorção de 20 a 30 microgramas e pela ingestão de água, com um a dois microgramas. Pela inalação do ar atmosférico ocorre a absorção de 10 microgramas, quando exposto ao meio urbano, e de 0,4 microgramas no meio rural. Em relação aos alimentos, os peixes, frutos do mar, os legumes e os cereais possuem significativos teores de chumbo, embora os valores destes teores possam variar de acordo com a localização geográfica (LEITE, 2005).

A poluição ambiental com chumbo é ocorrência comum nas cidades e seus arredores, significativamente próximos à fundição ou a indústrias e às grandes rodovias, onde as pastagens são contaminadas pela fumaça de descarga dos carros. Pastagens ao lado de rodovias de tráfego intenso podem conter 390ppm de chumbo, em contraste com as 10ppm encontradas em

rodovias de pouco tráfego. Em pastagens contaminadas por fundição, encontram-se 325ppm de chumbo, de matéria equivalente a uma ingestão diária de 6,4mg/kg de peso vivo. Ainda que a ingestão seja o principal meio de intoxicações de animais, a inalação pode também ser significativa na absorção, em bovinos que pastam próximos das fundições (SCHIFER *et al*, 2005).

A queima de aditivo a base de chumbos alquílicos na gasolina constituía a maior parte da exposição a chumbo. Hoje, apesar da queda de sua concentração na atmosfera, existe ainda contaminação persistente do solo. Outras fontes são descritas, como as associadas a soldas de chumbo, canos e tubos de PVC, tintas a base de chumbo, com a utilização do óxido misto, PbO_2 , denominado chumbo vermelho, e que tem sido amplamente utilizado como pigmento de tintas, especialmente nas de revestimento para ferro, formando uma camada superficial que impede a corrosão; conservantes de madeira e na composição de uísque ilegal. A maioria das exposições ocorre em artistas que utilizam técnicas de tingimento de vidro ou operárias do setor de pintura de indústrias automotivas ou de aviação (BENTUR & KOREN, 1994, BAIRD, 2002).

Porém, uma pequena quantidade do chumbo, presente nas soldas que eram usadas no passado para selar latas de estanho, pode dissolver-se no ácido diluído dos sucos de frutas e outros alimentos ácidos em presença de ar; isto, uma vez que a lata tenha sido aberta, já que o chumbo é oxidado em meio ácido, contaminando, assim, os alimentos no interior da lata. O uso de arsenato de chumbo, $Pb_3(AsO_4)_2$, como pesticida foi uma das primeiras fontes ambientais de chumbo (BAIRD, 2002).

O chumbo pode ser encontrado em concentrações consideráveis em suplementos minerais para bovinos, sendo que isto é favorecido pela baixa qualidade dos subprodutos utilizados para a elaboração dessas rações. No mercado interno, existem aproximadamente 5.500 diferentes misturas minerais, as quais são amplamente comercializadas. No estado de São Paulo, esse número pode chegar a 1.376 diferentes marcas e formulações. Esta diversidade preocupa, pois formulações podem estar contaminadas com metais pesados, comprometendo a cadeia alimentar atingindo os bovinos, e, por

consequente, o homem, oferecendo riscos à saúde pública pelo consumo de produtos e subprodutos de origem animal (MARÇAL *et al*, 2004; MARÇAL *et al*, 2005).

Como uma das fontes de contaminação em animais é a ração, e no Brasil o governo, no ano de 2000, junto com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, pela Portaria nº 20, de 06/07/1997, liberou o uso de fontes alternativas de fósforo a partir de fosfatos de rochas, reiterando a necessidade de monitorar as formulações minerais destinadas ao consumo animal vendidas em qualquer ponto do país. Suplementos minerais com restrito controle de qualidade por parte dos fabricantes podem conter chumbo suficiente para causar alterações clínicas em bovinos, principalmente reprodutivas, como degenerações testiculares em touros e acúmulo em ovários, causando aciclia em vacas e interferências no ciclo reprodutivo. Segundo o autor, o limite máximo aceitável é de 30ppm, referenciado pelo *National Research Council* (1996) e pela *Association American of Feed Control Incorporated* (2001) (MARÇAL *et al*, 2003; MARÇAL *et al*, 2004; MARÇAL *et al*, 2005).

Diferentes marcas de sal mineral foram estudadas no estado de Goiás, em 2003, observando uma variação grande na concentração de chumbo inorgânico, variando desde 2,0µg/kg a 25,1µg/kg. O mesmo foi observado, em 2001, no estado do Mato Grosso do Sul, com valores de 30 µg/kg até 460 µg/kg, e no estado de São Paulo, em 2005, onde os valores variaram de 10 µg/kg até 146 µg/kg (MARÇAL *et al*, 2003; MARÇAL *et al*, 2004; MARÇAL *et al*, 2005).

Os quadros 2 e 4 ilustram as principais fontes de exposição do homem ao chumbo caracterizando exposição ocupacional e as formas de absorção.

QUADRO 2: fontes de chumbo e exposição ocupacional

FONTES DE CHUMBO PARA O MEIO AMBIENTE
Petrolífera
Detonante em Combustível
Extração, concentração e refino de minérios
Fundição de chumbo
Produção, reforma e reciclagem de acumuladores elétricos
Fabricação e têmpera de aço chumbo
Fundições de latão e bronze
Reparo de radiadores de carro
Manuseio de sucatas de chumbo
Instrução e prática de tiro por este elemento revestir as munições
Produção de cerâmicas
Jateamento de tintas chumbo em sua composição
Soldas à base de chumbo
Produção de cristais
Corte a maçarico de chapas de chumbo ou pintadas com tintas à base de chumbo
Demolição de instalações antigas com fornos de chumbo
Produção de pigmentos contendo chumbo
Operações de lixamento, polimento de materiais contendo chumbo
Contato com solo contaminado com pesticidas contendo chumbo (arsenato de chumbo)
Ingestão de água e alimentos contendo chumbo
Presença de projéteis de arma de fogo no organismo
Utilização de vasilhames de estanho contendo chumbo
Uso de medicações que contêm chumbo
Residência nas vizinhanças de empresas que manuseiam chumbo
Fabricação de fósforo
Olaria
Fabricação de pérolas artificiais
Sucata e ferro velho
Fabricação de vidro, cristal e esmalte vitrificado
Indústria de impressão
Vulcanização de borracha
Vinhos, quando utilizados como conservante em rolhas
Fabricação de cabos elétricos, tubos e chapas
Fabricação de cerâmicas
Indústria química (sínteses de inseticidas, com arseniato de chumbo, síntese de fertilizante a base de fosfato de chumbo e de PVC a base de carbonato de chumbo)
Produção de antidetonante
FONTE: OGA <i>et al</i> (2008); SILVEIRA & FERREIRA (2003); SCHEIFER <i>et al</i> , (2005); LEITE (2005); BIZIUK & ZUKOWSKA (2008).

QUADRO 3: fontes e formas de absorção do elemento chumbo

FONTES	POTENCIAL DE ABSORÇÃO
Ingestão de água e alimentos contaminados	Bovinos com deficiência de fósforo - 2 a 10% são absorvidos
Exposição em pastos próximos a pistas de rodagem veicular	Bovinos com deficiência de fósforo - 2 a 10% são absorvidos
Resíduos de indústrias (tintas, corantes, petrolífera, acumuladores)	2 a 10% são absorvidos
Aspiração de ar contaminado	70 a 75% do inalado são absorvidos
Absorção pela pele (óleo queimado) de chumbo tetraetila	100% absorvido
Peixes	350 µg/kg
Leite e derivados	350 µg/kg
Carne bovina e suína	350 µg/kg (podem ser liberados quando a carne é cozida)

FONTE: OGA *et al* (2008); SILVEIRA & FERREIRA (2003); SCHEIFER *et al*, (2005); LEITE (2005); BIZIUK & ZUKOWSKA (2008).

3.2 Níveis de chumbo sanguíneo e alterações sanguíneas

A determinação dos níveis sanguíneos do chumbo é o teste laboratorial mais valioso. Cerca de 90% do chumbo absorvidos são carregados ligados aos eritrócitos. Portanto, a análise deve ser realizada com sangue total e não com soro e plasma. Os tubos de coleta de sangue contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) não são indicados por este quelar o chumbo e diminuir sua concentração durante a análise laboratorial (FENNER, 2003). Níveis sanguíneos iguais ou superiores a 0,6ppm são considerados diagnósticos; níveis que variam entre 0,35 – 0,6ppm são tidos como diagnósticos se acompanhados por sintomatologia clínica. Porém, os níveis de chumbo sanguíneo não correspondem fielmente à gravidade clínica, pois em casos de envenenamento crônico relata-se até 30%, de resultados falso-negativos (GFELLER, 2006). Em relação aos exames laboratoriais, podem ser vistas alterações nos esfregaços realizados com sangue periférico, tais como: aumento do ponteadado basofílico, presença de eritrócitos nucleados, anisocitose, poiquilocitose, policromasia, “hemácias em alvo” e hipocromia. No exame hematológico, o animal possui anemia moderada e muitas hemácias nucleadas no sangue periférico. Porém, se faz necessária a diferenciação destas alterações com outras enfermidades que também favorecem o que acima foi descrito, como a deficiência de cálcio, ferro e patologias medulares

ósseas (FENNER, 2003).

Consideram-se suspeitos os casos nos quais são observadas policromasia e presença de eritrócitos nucleados fora das proporções consideradas normais (15 com ponteados basofílicos em 10.000 células). São considerados quase patognomônicos os quadros que apresentam 40 hemácias com ponteados basofílicos em 10.000 células. São considerados diagnósticos os achados de 5 a 40 hemácias nucleadas a cada 100 células, na ausência de anemia ($Ht < 30\%$) (PLUNKETT, 2005).

Com relação à concentração sanguínea de chumbo, o resultado laboratorial acima de $60\mu\text{g/dL}$ é considerado diagnóstico de intoxicação por chumbo. Caso o resultado laboratorial esteja entre 25 e $60\mu\text{g/dL}$, com o paciente apresentando os sinais clínicos, a intoxicação por chumbo deve ser considerada no diagnóstico diferencial (FENNER, 2003).

3.3 Níveis de chumbo urinário e alterações urinárias

Os níveis de chumbo urinário acima de 0,75ppm são sugestivos de envenenamento. A avaliação do nível de chumbo urinário pode ser mais precisa se o paciente for tratado com quelador ácido etilenodiaminotetracético dissódico cálcico ($\text{EDTA Na}_2\text{Ca}^{++}$). O nível de chumbo urinário é determinado antes de iniciar a terapia de quelação. O EDTA Ca^{++} é administrado e uma amostra de urina de 24 horas é coletada. Os níveis de chumbo urinário acima de 0,82ppm, após 24 horas do início da terapia de quelação são diagnósticos para envenenamento por chumbo (GFELLER, 2006). A análise da urina pode ser normal ou apresentar cilindros hialinos ou granulados. Ocasionalmente, encontram-se proteínas e glicose, indicando lesão renal (PLUNKETT, 2005).

O chumbo é excretado principalmente pela urina, em 75 a 80%, e cerca de 15% pelas fezes; outras vias de excreção são: suor, descamação cutânea, cabelo, pelos e unhas, numa concentração inferior a 8%. Uma forma especial de excreção do chumbo endógeno, mas de pouca importância do ponto de vista de liberação do organismo, é através do leite materno; no entanto, este tipo de eliminação pode representar um risco para o lactente, já que existe uma

correlação entre as concentrações do chumbo no sangue e leite (MOREIRA & MOREIRA, 2004).

Baixos níveis de chumbo têm sido encontrados no sêmen de homens sem exposição específica, e os níveis no fluido seminal de trabalhadores expostos são aproximadamente um décimo daqueles encontrados no sangue (MOREIRA & MOREIRA, 2004).

Em relação ao elemento químico chumbo, Jubb e Kennedy (1970), descrevem que a contaminação por este elemento é relevante na criação pecuária, podendo ser fatal nos bovinos, incomum em ovinos, em equinos ocasiona síndromes cólicas e, a intoxicação nos suínos é rara. As lesões nem sempre são específicas. Segundo Leite (2005), a toxicodinâmica do chumbo interfere na biossíntese da porção heme e da globina dos eritrócitos e favorece a ocorrência de anemia na concentração de 80 microgramas, determinando a fase de plumbiose. No sistema nervoso central, ocorre o desenvolvimento das Síndromes Cerebrais Orgânicas, que se caracterizam por desmielinização e lesões degenerativas centrais, associadas às alterações renais com o desenvolvimento de aminoacidúria, glicosúria, fosfatúria e na cronicidade das alterações intersticiais de fibrose, com consequente diminuição da excreção renal de metabólitos. Lesões gastroentéricas estão associadas às alterações vasculares e teciduais em cavidade oral, mucosas gástrica e entérica, ocasionadas pela insuficiência renal. Em eqüinos, ocorrem alterações da contratilidade da musculatura lisa da submucosa intestinal por interferências nas concentrações de cálcio e no metabolismo enzimático celular, favorecendo a paralisia de cólon, desencadeando a cólica plúmbica. Por ação inibitória da musculatura lisa das coronárias, observa-se a ocorrência de distúrbios metabólicos em musculatura cardíaca, o que pode evoluir para insuficiência cardíaca (SHARMA & STREET (1980); AMODIO-COCCHIERI & FIORE (1987); DEY *et al* (1996), MARÇAL (2005).

3.4 Distribuição do chumbo no organismo animal

A concentração de chumbo no sangue é menor do que 2% do seu total

no corpo, deste valor, uma porção igual ou menor do que 5% encontra-se no plasma, representando a fração lábil e biologicamente ativa do chumbo, capaz de atravessar barreiras anatômicas, como, por exemplo, a placentária, e alcançar os tecidos fetais, causando danos irreversíveis ao feto. A concentração de chumbo no sangue é aceita como indicador válido de exposição total ao chumbo e, conseqüentemente, de risco à saúde, entretanto, reflete exposição ambiental recente, enquanto que o conteúdo deste, em vísceras, ossos e dentes, reflete exposição crônica (MOREIRA & MOREIRA, 2004).

A distribuição do chumbo no organismo depende da sua taxa de transferência da corrente sanguínea para os diferentes órgãos e tecidos. Uma vez absorvido, o chumbo segue uma cinética complexa no organismo, cujo modelo metabólico ainda não foi estabelecido. Por isso, tem-se um modelo de três compartimentos: sangue, vísceras e tecidos mineralizados, como ossos e dentes. Os ossos contêm cerca 90 a 95% do total do conteúdo corpóreo de chumbo em adultos e de 80 a 95% em crianças (MOREIRA & MOREIRA, 2004).

A distribuição do chumbo para os órgãos, a partir do sangue, é feita dependendo do gradiente de concentração e da afinidade com o tecido específico. Os níveis mais elevados de sua concentração visceral têm sido encontrados na artéria aorta, fígado, rins, pulmões e cérebro, e esta retenção estabiliza-se na vida adulta, podendo decrescer em alguns órgãos com a idade, porém, nos ossos e na aorta, o chumbo é acumulado por todo período que ocorrer a exposição a ele. O chumbo atravessa a barreira hematencefálica, mas sua concentração no cérebro fetal é baixa, porém o sangue fetal irá conter níveis quase equiparados aos do sangue materno. A excreção do chumbo se dá por várias vias, principalmente pelas renais e gastrointestinal, e a quantidade a ser excretada é afetada pela idade e característica da exposição (MOREIRA & MOREIRA, 2004).

O quadro 4 mostra o resumo das principais alterações clínicas pelo chumbo no organismo animal.

QUADRO 4: descrição das alterações clinica nos sistemas do organismo animal

ÓRGÃOS ALVOS	ALTERAÇÕES
Efeitos gastrintestinal	Cólica saturnica, caracterizada por espasmos intestinais, com desconforto abdominal devido à lesão em musculatura lisa. Músculos abdominais rígidos com hipersensibilidade acentuada, febre e palidez.
Efeitos neuromusculares	Desmielinização e degeneração axonal, prejudicando as funções psicomotoras e neuromusculares. Altera o metabolismo de neurotransmissores como a acetilcolina e as catecolaminas. Fraqueza muscular, fadiga e paralisia.
Efeitos neurológicos	Distúrbios no metabolismo dos carboidratos, principal fonte de NAD e NADP durante o desenvolvimento do cérebro, ácido quinolínico e no catabolismo do triptofano.
Efeitos cardiovasculares	Miocardite crônica, hipotonia ou hipertonia com hipertensão e arteriosclerose precoce, com alterações cerebrovasculares.
Efeitos renais	Distúrbio reversível dos túbulos renais e nefropatia intersticial irreversível. Síndrome com proteinúria, hematúria e cilindrúria.
Efeitos hepáticos	Inativação da biotransformação, com redução na concentração hepática do citocromo P ₄₅₀ e da atividade da glutathion-S-transferase, favorecendo o desenvolvimento de hepatite tóxica.
Efeitos hematopoéticos	Inibe a eritropoese com consequente anemia
Efeitos hematológicos	Nos eritrócitos, pode ocorrer a formação do Ponteadado Basofílico, porém, ocorre a anemia microcítica hipocrômica pela incapacidade da citocinese e pela fragilidade da membrana celular.

FONTE: SCHIFER *et al*, 2005

O chumbo no organismo não sofre metabolização, formando complexos com macromoléculas que favoreçam sua adsorção e, posteriormente, absorvido, distribuído e/ou excretado. Ele é bem absorvido por inalação em até 16% em adultos, em crianças, o percentual absorvido pela via digestória é de 50%. Uma vez absorvido, o chumbo é distribuído pelo sangue, onde a meia vida é de 37 dias em média; nos tecidos moles, a meia vida é de 40 dias; por outro lado nos ossos e dentes a meia vida é de 27 anos; constituindo-se como o maior depósito corporal do metal armazenando em 90 a 95% do chumbo total presente no corpo (SHARMA & STREET (1980); AMODIO-COCCHIERI & FIORE (1987); DEY *et al* (1996), MARÇAL (2005).

O chumbo atravessa a placenta e acumula-se no feto já na 12^a semana de gestação. Os primeiros estudos europeus, sobre a toxicidade reprodutiva do chumbo, associaram a exposição industrial às ocorrências de infertilidade,

aborto, parto prematuro, morte fetal e microcefalia. O chumbo pode afetar as gônadas masculinas, provocando alterações de motilidade, a denominada astenozoospermia, da contagem e padrões referentes à morfologia dos espermatozóides; contudo esta associação ainda não está clara. Há mais de 100 anos, foram levantadas suspeitas dos efeitos tóxicos do chumbo em mulheres gestantes que trabalhavam com sais de chumbo, tais como natimortalidade, abortos espontâneos, prematuridade, baixo peso ao nascer, reduzido crescimento pós-natal, aumento da incidência de anomalias congênitas discretas e déficits precoces no *status* neurológico ou comportamental (OLIVEIRA, 2001).

O chumbo tem a capacidade de causar prejuízo neuropsicológico em crianças, especialmente déficits de Quociente de Inteligência (QI), principalmente quando os níveis detectados deste metal no cordão umbilical excedem 10µg/dL; entretanto, em muitos casos, os danos se mostraram transitórios ou reversíveis, quando a exposição é interrompida após o nascimento e o suporte intelectual à criança foi apropriado (BAIRD, 2002; RIBEIRO, 2003). Dentre os metais de maior interesse para a teratologia, o chumbo e o mercúrio são os mais estudados. Sais de chumbo inorgânico foram associados às ocorrências fetais ligadas às más-formações do sistema nervoso central, fenda palatina em camundongos, defeitos de cauda em Hamsters, hidronefrose e defeitos esqueléticos em ratos (OLIVEIRA, 2001).

A toxicidade do chumbo em algumas estruturas é favorecida pela presença de ácidos graxos na camada hidrolipídica, permitindo combinações químicas sob a forma de sabões, lipo e hidrossolúveis, e este mecanismo é a base para a penetração de alguns fármacos e de tóxicos minerais, como ocorre com estes compostos (SPIRO E STIGLIANI, 2009).

O principal efeito imunotóxico observado em indivíduos expostos ao chumbo está relacionado à maior suscetibilidade aos processos infecciosos de origem bacteriana. Em crianças expostas ao chumbo, observou-se maior ocorrência de diarreia provocada por contágio natural por *Shigella enterites*, e, em adultos, maior suscetibilidade a desenvolver resfriados e gripes. Em estudos realizados com frangos de corte expostos ao chumbo na dieta e

infectado, experimentalmente, com *Salmonella gallinarum*, observaram que os macrófagos dessas aves eram incapazes de fagocitar esta bactéria em razão das alterações provocadas pelo chumbo nos fosfolipídios da membrana dessas células e, conseqüentemente, da fragilidade e perda da integridade do envelope citoplasmático. Isso prejudica as atividades efectoras dessas células na destruição de patógenos solúveis e na apresentação de antígenos. Dessa forma, há depleção na imunidade adquirida, o que pode resultar em deficiência nas respostas imunes humoral e celular, como observado em outros estudos com mamíferos. Nesse contexto, já foi relatado que animais expostos ao chumbo apresentam menor título de anticorpos e maior ocorrência de doenças infecciosas. No entanto, a desestabilização da membrana plasmática dos macrófagos leva a produção de prostaglandinas, e estas promovem efeito supressor sobre os linfócitos NK, podendo resultar, dessa forma, na maior suscetibilidade do indivíduo em desenvolver neoplasias (SPINOSA et al, 2009).

Referente ao solo, segundo a Norma Brasileira-NBR 10004, os Resíduos Classe I são perigosos, podendo sua periculosidade estar relacionada à reatividade, corrosividade, inflamabilidade, toxicidade e/ou patogenicidade. Os Resíduos Classe II são não-inertes, podendo ter propriedades como a combustibilidade, biodegradabilidade ou solubilidade em água, e os Resíduos Classe III são inertes, não representando maiores problemas para a saúde pública ou riscos para o meio ambiente. No caso de poluição do meio ambiente, próximo de aterros industriais, o responsável pelo empreendimento pode ter transtornos jurídicos para justificar esse passivo ambiental (ANDRADE & ABREU, 2006).

A contaminação do solo ocorre pela utilização de fertilizantes não suficientemente purificados durante o processo de produção, que contêm diversas impurezas, entre elas, os metais pesados como o chumbo, que contamina o solo pelo uso repetido e excessivo de fertilizantes. A concentração de metais pesados no solo pode ser determinada quando ocorre erosão, favorecendo a contaminação de água de córregos de microbacias e servindo estas como fontes de contaminações animal e humana. A irrigação pode favorecer a recontaminação do solo quando a água utilizada estiver com

elevadas concentrações de chumbo livre (SHARMA & STREET (1980); AMODIO-COCCHIERI & FIORE (1987); DEY *et al* (1996), MARÇAL (2005)).

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) aprovou a resolução que define critérios e procedimentos para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento sanitário e seus produtos derivados. Dessa forma, as estações de tratamento de esgoto no Brasil têm, agora, instrumento legal de controle de padrão e de monitoramento, bem como dos cuidados que se devem observar ao disponibilizar o resíduo para a agricultura. Assim sendo, tanto a Norma P 4230 da CETESB, como a resolução do CONAMA, exige uma caracterização do lodo para avaliar o seu potencial agrônomo. Os parâmetros exigidos são: carbono orgânico, fósforo total, sódio total, nitrogênio nas formas nitrato/nitrito e amoniacal, pH, potássio total, sódio total, enxofre total, cálcio total, magnésio total, umidade e sólidos voláteis e totais. As substâncias potencialmente tóxicas também devem ser determinadas, como o arsênio, bário, cádmio, cromo, mercúrio, níquel, selênio, chumbo e zinco, e respeitados os limites máximos de concentração, de acordo com o valor estabelecido para o chumbo, de 300mg/kg^{-1} de base seca, para concentração máxima permitida no lodo de esgoto (ANDRADE & ABREU, 2006).

Em condições naturais, os metais tóxicos são encontrados comumente nos solos, porém, as atividades antropogênicas ampliam as concentrações desses elementos, os quais alcançam níveis de concentração muito altos, comprometendo a qualidade do ecossistema. As principais fontes antropogênicas de metais no solo são a mineração e o beneficiamento de metais, a aplicação de defensivos agrícolas e fertilizantes, os lodos de esgotos urbano e industrial, a queima de combustíveis fósseis, as águas residuárias, os resíduos de indústrias de beneficiamento químico, a manufatura e o descarte de artigos eletrônicos, caça, pesca e de treinamento militar (CAMARGO *et al*, 2001; REICHARDT & TIMM, 2004).

A disponibilidade dos elementos para as plantas e os microrganismos depende, essencialmente, de sua presença na solução do solo. Esta presença é governada pela composição e reação do solo, pelas condições de

oxirredução e pela cinética das reações, que dependem de atributos do solo e de suas tendências para formar precipitados insolúveis e co-precipitados com outros minerais, além de formar complexos com a matéria orgânica e adsorver os minerais, a complexidade de diversas reações de natureza cinética desconhecida restringe sobremaneira a especiação dos metais na fase sólida, dificultando a operacionalidade dos procedimentos analíticos usados nesses estudos (REICHARDT & TIMM, 2004; MOREAU & SIQUEIRA, 2008).

Nas ultimas décadas, inúmeras pesquisas vêm sendo realizadas para avaliar a geobiodisponibilidade de elementos-traço para estudar a possível contribuição potencial desses contaminantes à poluição do solo. A distribuição dos elementos tóxicos em perfis de solo varia em razão das diferenças na capacidade de retenção dos componentes das diversas camadas. Quanto à origem, os metais no solo podem ser divididos em litogênicos e antropogênicos, sendo que a fração litogênica é oriunda de fontes geológicas, como resíduo de rocha, ou liberada por ocasião de intempéries. O teor natural dos elementos tóxicos no solo varia muito com o tempo de intemperismo e o material de origem do solo na delimitação da concentração dos elementos na sua solução, e com a composição química do material de origem. A composição elementar total no solo tem utilidade limitada, mas é importante conhecê-la para se ter idéia do seu teor no ambiente, em estudos tanto de contaminação e poluição, quanto pedológicos. Se um elemento pode representar um perigo iminente à cadeia alimentar, é importante avaliar seus teores disponíveis, extraíveis ou solúveis, uma vez que ambos estão relacionados com a mobilidade no ambiente e com a absorção pelas plantas. No caso do chumbo, a composição tolerável deste elemento na litosfera é de 20-500mg/kg e na forma solúvel até 20mg/kg, no estado de São Paulo; a concentração em lodo é de 119mg/kg e máxima de 835mg/kg. O chumbo é o menos disponível no solo, sendo encontrado predominantemente ligado à matéria orgânica e na forma residual (OLIVEIRA, 2000; CAMARGO *et al*, 2001, ALLEONI *et al*, 2005).

Os metais pesados, de um modo geral, têm grande afinidade por agrupamentos orgânicos contidos em frações do solo, sedimentos e tecidos

biológicos que lhes conferem as propriedades de bioacumulação e biomagnificação na cadeia alimentar, favorecendo a sua persistência no meio ambiente mesmo depois de interrompidas as emissões desses metais pesados (OSHIMA-FRANCO & MADALENO FRANCO, 2003).

4 IDENTIFICACAO DA ÁREA DE DESENVOLVIMENTO DE ESTUDO MUNICIPIO DE GUARAPUAVA – PR

O estudo foi desenvolvido no Município de Guarapuava (figura 1), no Estado do Paraná. Geograficamente localiza-se a 25°23'36" latitude sul e 51°27'19" longitude oeste, região denominada centro-sul do estado do Paraná, no terceiro planalto, também chamado de Planalto de Guarapuava. Limita-se ao norte com os Municípios de Campina Simão e Turvo, ao sul com o município de Pinhã, a leste com Prudentópolis e Inácio Martins, e a Oeste com Candoi, Cantagalo e Goioxim. Ocupa uma superfície de 3.125,852km² com altitude de 1.120 metros.

FIGURA 1: localização geografica de Guarapuava no Estado do Paraná



Fonte: BINDA & GOMES, 2007

A cidade de Guarapuava é composta por cinco distritos: Guarapuava, Entre Rios, Guairaca, Guara e Palmeirinha. A Cidade possui 22 bairros e 158 vilas. Possui uma densidade demográfica de 154.900 habitantes, destes 13.415 estão em atividade rural e 141.485 com atividades associadas às fábricas e trabalho informal com uma população economicamente ativa de 77.549 habitantes. A atividade agropecuária corresponde a 8,9% da economia, e tem como atividade agropastoril o cultivo do milho, soja e batata, e a industrial que corresponde a 15,62% distribuídas entre indústrias de papel, químicas, bebidas e madeira.

Economicamente a cidade de Guarapuava está passando por uma migração intensa da população rural em busca de trabalho na área urbana, como pode-se observar nas tabelas 1 e 2. Considerável é o número de pessoas que possui atividade durante o dia na cidade e reside no meio rural onde desenvolve pequenas atividades agropastoris junto aos familiares sendo considerados pequenos produtores.

TABELA 1: principais ramos de atividade segundo CNAE – Classificação Nacional das Atividades Econômicas.

RAMOS DE ATIVIDADE SEGUNDO CNAE	EMPRESAS	FUNCIÓN ÁRIOS
Fabricação de produtos de padaria, confeitaria e pastelaria, inclusive industrializados	99	272
Confecção de peças de vestuário	48	75
Fabricação de esquadrias de madeira, veneziana e de peças de madeira pra instalações industriais e comerciais	40	314
Fabricação de esquadrias de metal	34	114
Fabricação de madeira laminada e de chapas de madeira compensada, prensada ou aglomerada	25	2064
Fabricação de artefatos de concreto, cimento, fibrocimento, gesso e estuque	17	91
Fabricação de móveis com predominância de madeira	19	180
Fabricação de sorvetes	13	27
Edição e impressão de produtos gráficos	12	91
Confecções de peças vestuário	16	17

FONTES: Dados obtidos da EMATER / SEAB e ACIG da cidade de Guarapuava – Paraná (2009).

TABELA 2: distribuição das propriedades rurais com atividades predominantes na região

Tipo de Atividade	Quantidade de Propriedades na Região
Apicultura	40
Reflorestamento - Araucária	28
Avicultura	2800
Bovinocultura de Corte	1550
Bovinocultura de Leite	350
Bovinocultura Mista	385
Bracatinga (Mimosa scabrella, Benth)	510
Caprinocultura	338
Cunicultura	25
Reflorestamento - Eucalipto	60
Ovinocultura	397
Reflorestamento - Pinus	190
Piscicultura	40
Suinocultura	2100

FONTES: Dados obtidos da EMATER / SEAB e ACIG da cidade de Guarapuava – Paraná (2009).

4.1 RIO DAS PEDRAS

A bacia hidrográfica do Rio das Pedras tem aproximadamente 330 km² de área e está localizada no município de Guarapuava, Estado do Paraná, entre as latitudes 25° 13' 10" S e 25° 26' 24" S e longitudes 51° 13' 10" W e 51° 28' 40" W. Desenvolve-se no reverso da escarpa basáltica denominada Serra da Esperança, sendo esculpida na unidade toleítica inferior da Formação Serra Geral, definida por rochas de natureza básica intermediária formando o terceiro planalto paranaense. A drenagem apresenta diversos níveis de controle estrutural produzido por intensas fraturas formadas nos basaltos (BATTISTELLI *et al*, 2004a).

As principais nascentes que formam o Rio das Pedras encontram-se na Área de Proteção Ambiental (APA) da Serra da Esperança, instituída pela Portaria Federal Nº 507/02, de 17 de dezembro de 2002. As APAs são unidades de conservação, destinadas a assegurar o bem-estar às populações, conservar e melhorar as condições ecológicas (BATTISTELLI *et al*, 2004).

Em toda sua extensão, o Rio das Pedras é abrangido pelos limites entre os cinco municípios da região de Guarapuava. Observa-se a presença de 697 pequenas propriedades, sendo 24 propriedades de criação de bovinos

(BATTISTELLI *et al*, 2004a).

Quanto à qualidade das águas, Battistelli *et al*, (2004d) relatam focos pontuais de poluição, todos próximos de aporte de efluentes industriais ou de estradas pavimentadas. Em pontos distantes das descargas de efluentes, os desníveis e as corredeiras fazem com que a capacidade de autodepuração das águas seja significativa. As principais alterações observadas pelos autores foram referentes à turbidez da água e às altas concentrações de óleos e graxas em sua constituição. Referente ao solo, Battistelli *et al*, (2004b) citam que as regiões que são circundadas por pequenos corpos de água e seus efluentes são majoritariamente compostas por solos pouco desenvolvidos e rasos, em função do relevo muito movimentado e das baixas temperaturas características da região influenciadas pela altitude elevada. Referente à vegetação local, Battistelli *et al*, (2004c) cita que não se encontra mais remanescentes de floresta de Araucária em condições naturais, observando-se áreas com cobertura vegetal distribuídas entre fragmentos vegetais de diversos tamanhos e formas, citando ainda o comprometimento de diversas espécies ameaçadas de extinção.

Para Battistelli *et al*, (2004a), são 36 os pontos passíveis de poluição na Bacia do Rio das Pedras compostos por 69,44% de propriedades com criação de animais (figura 3C, D, E e F) e (figura 5I, J, K e L), 2,77% com presença de postos de combustível com rodovias que cortam a região (figura 2A), 19,44%, fábricas de papel e celulose (figura 2B), carvão, erva mate, abatedouro, curtume e laminadora, 5,55%, vilas urbanas com produção de lixo e esgoto e 2,77% (figura 4G e H), lixo clandestino.

FIGURA 2: pista de auto-rodagem cortando a Serra da Esperança (A) e uma fábrica de papel higiênico em sua extremidade (B).



FIGURA 3: relação direta dos pequenos produtores com bovinos mestiços (C), criadas próximas à residência (D e E). Bovinos são soltos durante o dia em área próxima para pastoreio que é escasso pela dificuldade da região em cultivos e tratamento de solo (F)



FIGURA 4: moradias distribuídas de forma não uniforme pela Serra da Esperança (G) e vilas na área limítrofe entre a Serra da Esperança e área urbana (H)



FIGURA 5: propriedade rural modesta (I) com bovinos mestiços em área próxima a estrada, o que pode ser observado pelo limite de cerca (J) e rio caudaloso (K) com ponte de madeira favorecendo o transito de automóveis na região (L)



5. OBJETIVOS

Utilizar bovinos como bioindicadores ambientais na intoxicação por chumbo com o objetivo de prevenir o bem estar dos animais e do homem.

O chumbo será qualificado e quantificado em amostras de sangue dos bovinos utilizando a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica associando as análises de amostras de água, solo, capim e sal mineral da região onde os bovinos forem selecionados para o desenvolvimento do estudo.

6. MATERIAL E METODOS

6.1 AMOSTRAS

As amostras referentes à água, solo, capim e sal mineral foram coletadas com a devida autorização dos proprietários quando se tratava de área particular e as amostras coletadas fora das propriedades particulares, localizadas nas vias de acesso veicular pertencente ao Município de Guarapuava - Paraná, foram divididas em 4 regiões distintas na Serra da Esperança, sendo estas, área próxima à Indústria de papel e celulose, distante da Indústria e próxima a pequenos produtores, área com pequenos produtores e região utilizada para lazer da população e área limítrofe entre a Serra da Esperança e o Município Urbano de Guarapuava, com a finalidade de observar se existe diferença significativa entre região com ou sem atividade extrativista do homem.

O sangue dos animais foi coletado mediante a orientação prévia aos proprietários e/ou responsáveis pelos animais, com a finalidade de esclarecer o motivo da coleta além do fornecimento de toda assistência médica veterinária necessária aos animais para manter sua integridade. O sangue foi coletado de animais clinicamente saudáveis, comprovados por exame semiológico prévio, bem como, nos animais presentes na localidade por um período superior a 5 anos e no caso das fêmeas, coletou-se somente na ausência de gestação.

Os proprietários e/ou responsáveis foram esclarecidos quanto ao motivo da coleta, bem como, assinaram termo de autorização como orientado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal e receberam toda assistência Médica Veterinária posterior a colheita.

6.1.1 Água

Coletaram-se 500mL de água do Rio das Pedras em frascos plásticos de polietileno, identificadas e refrigeradas a menos 4°C para armazenamento e posterior análise. Antes da abertura dos frascos plásticos seu conteúdo foi

homogeneizado para posterior análise (figura 6).

6.1.2 Solo

Coletaram-se aproximadamente 350 gramas de solo no Rio das Pedras desprezando-se a superfície, e estas amostras foram acondicionadas em sacos plásticos limpos, identificados e refrigerados a temperatura de 4°C negativos para posterior análise. O conteúdo foi transferido ao Vaso de Análise utilizando-se espátula de polietileno (figura 6).

6.1.3 Sal Mineral

Coletaram-se aproximadamente 350 gramas de sal mineral de suas embalagens e não os presentes no cocho. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos limpos, identificados e refrigerados para posterior análise. O conteúdo foi transferido ao vaso de análise utilizando-se espátula de polietileno.

6.1.4 Capim (*Brachiaria sp.*)

Coletou-se 350 gramas de capim próximo a margem do Rio das Pedras e na área utilizada para os animais pastarem, considerando a totalidade da amostra desde sua raiz até a extremidade máxima de sua superfície, sendo estes acondicionados em sacos plásticos, identificados e refrigerados a menos 4°C para posterior análise (figura 6).

FIGURA 6: amostras de água, capim e solo.



6.1.5 Sangue Total

Coletou-se 5mL de sangue por venopunção após a contenção do animal e antissepsia com Iodo Povidine[®] embebido em algodão na região cervical lateral puncionando a veia jugular utilizando agulha descartável siliconizadas[®] na espessura de 40x12 mm a qual foi ligada em adaptador de polietileno ao tubo de vacutainer[®] de mesma composição com tampa azul específica para análise de metais pesados. O tubo foi identificado e armazenado sob refrigeração para posterior análise.

Foram coletados sangue de 10 bovinos hígidos presentes na propriedade há mais de três anos, hígidos, de pequenas propriedades rurais da Serra da Esperança em Guarapuava/PR, realizaram-se o esfregaço sanguíneo a fresco, sem anticoagulante e corado com corante hematológico rápido (Panótico)[®], o sangue foi enviado para análise por espectrometria de absorção atômica em chama (GBC932AA) e também acondicionado em tubo com

anticoagulante EDTA 10% para realização de eritrograma.

® - Marca Registrada

6.2 Procedimento metodológico de análise pela Espectrometria de Absorção Atômica

O recipiente para a análise das amostras, denominado vaso de reação de polietileno (Hostaflon[®]), foi descontaminado com uma solução de ácido nítrico a 10% e posteriormente procedeu-se a lavagem com água deionizada por três vezes (tríplice lavagem). As amostras foram pesadas em balança analítica (MARTE, AS 2000-c), adicionando-se 3 a 4mL conforme a amostra a ser analisada. Em seguida, adicionou-se 6mL de ácido nítrico (HNO₃ 65%, Merck P.A.) realizando-se, posteriormente, o travamento da unidade mineralizadora com camisa de contenção com a finalidade de resistir à pressão interna. As amostras foram então levadas ao forno de micro-ondas (PROVETTO DGT 100 Plus) (figura 8Q), onde foi utilizada a programação específica conforme o tipo de amostra a ser mineralizada (BASSET, *et.al.*, 1981; Manual Provecto, 2000).

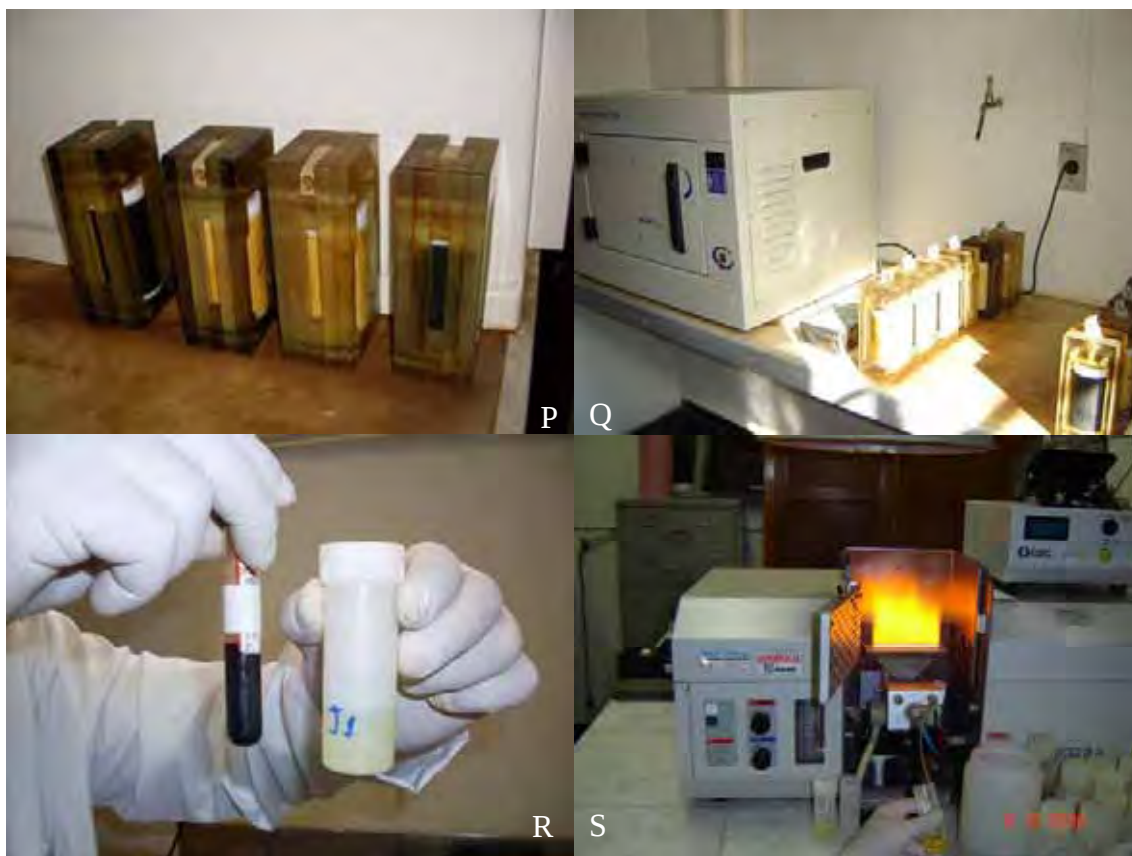
Após os vasos de reação atingirem a temperatura ambiente, os mesmos foram conduzidos até a câmara de exaustão (Capela), aonde foram abertos e as amostras colocadas em frascos de polietileno com tampa rosqueável (Starsted[®]) (figura 8R) e devidamente identificados. Em seguida, fez-se o enxague com água deionizada, na quantidade de 3mL do vaso da reação, avolumando o frasco da amostra para 10mL, e procedendo em seguida a qualiquantificadas para o Pb por intermédio da técnica analítica Espectrofotômetro de Absorção Atômica – EAA (GBC AA 932) (figura 8S), otimizado para o elemento químico chumbo (ATHANASOPOULOS, 1994).

O vaso de reação (figura 8P), foi descontaminado com água deionizada em ácido nítrico a 10%, procedendo-se a tríplice lavagem para retirada de possível resíduo da amostra anterior e, utilização para novas análises (MANUAL PROVETTO ANALÍTICA, 2000; POPS – CEATOX, 2002).

Todo procedimento foi realizado utilizando Equipamentos de Proteção Individual EPIs e Equipamentos para Proteção Coletiva – EPC, seguindo-se a

recomendação do manual de biossegurança (TEIXEIRA & VALLE, 2002) (figura 7).

FIGURA 7: materiais básicos utilizados para as análises: vaso de reação (P), forno de micro-ondas (Q), amostra de sangue e frasco de polietileno com tampa rosqueável (R) e Espectrofotômetro de Absorção Atômica – EAA (GBC AA 932)



Fonte: Centro de Assistência Toxicológica - CEATOX, 2009.

7. AVALIAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

Projeto foi avaliado e aprovado pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ – UNESP – Botucatu – São Paulo pertencente à Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, segundo o Protocolo Nº 130/2006-CEEA, da data de 29 de novembro de 2006.

8. RESULTADOS

8.1 Análise Estatística

Os resultados observados estão especificados no quadro 6 de acordo com a análise descritiva e o teste de distribuição *t*.

QUADRO 6: resultados das análises efetuadas pela espectrometria de absorção atômica

AMOSTRA	SANGUE ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	SAL (mg kg^{-1})	SOLO (mg kg^{-1})	CAPIM (mg kg^{-1})
1	ND	ND	1,52	5,33
2	ND	ND	16,76	ND
3	ND	12,72	4,90	ND
4	ND	0,18	21,62	ND
5	ND	0,51	14,75	ND
6	ND	X	21,50	ND
7	0,018	X	X	ND
8	0,071	X	X	X
9	0,025	X	X	X
10	0,005	X	X	X
Valor tolerável	0,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	10,00 mg kg^{-1}	20,00 mg kg^{-1}	7,00 mg kg^{-1}
Moda	0,00	0,00	0,00	0,00
Mediana	0,00	0,18	15,76	0,00
Amplitude total	0,001	12,72	20,10	5,33
Média amostra	0,012	2,682	13,508	0,761
Desvio Padrão	0,023	5,615	8,481	2,015
t_{CAL}	0,0016	-2,914	-1,875	-8,192
t_{TAB}	0,0023	2,776	2,571	2,447

ND – Não detectável / X – Sem análise de amostra / Limite Detectável (LD): $\leq 0,05 \mu\text{g.mL}^{-1} \mu\text{g.mL}^{-1}$

$|t_{\text{CAL}}| \geq |t_{\text{TAB}}|$ rejeita-se H_0 , ou seja, há diferença entre as médias testadas em nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

8.2 Água

Nas amostras de água, não foi detectada a presença de chumbo.

8.3 Solo

A média total das amostras de solo teve como concentração de chumbo 13,51mg/kg.

8.4 Sal Mineral

A média total das amostras de sal mineral teve como concentração de chumbo 2,68 mg/kg.

8.5 Capim

A média total das amostras de capim teve como concentração de chumbo 0,76mg/kg.

8.6 Sangue Total

A média total das amostras de sangue total teve como concentração de chumbo 11,93 µg/mL.

8.7 Resultados segundo a distribuição geográfica dentro do limite da Serra da Esperança, quadro 7.

QUADRO 7: Distribuição limítrofes de acordo com a população local.

	Próxima indústria de Papel e Celulose	Distante da indústria e próxima a Pequenos Produtores	Área de Pequenos Produtores e região utilizada para Lazer da população	Área limítrofe entre a Serra da Esperança e o Município Urbano de Guarapuava
Solo interior do Rio	0,72 µg/g	0,75 µg/g	ND	ND
Solo margem do Rio	3,53 µg/g	6,14 µg/g	ND	ND
Capim	ND	5,33 µg/g	ND	ND
Solo	ND	ND	10,36 µg/g	ND

ND* - Não detectado

9. DISCUSSÃO

9.1 Quanto à coleta de amostra de sangue

A coleta da amostra de sangue foi dificultosa, pois existe a incompreensão dos proprietários ou responsáveis pelos animais para este tipo de coleta segundo as justificativas abaixo:

- Segundo a observação do executor do projeto, os proprietários por utilizarem os animais como fonte de complementação orçamentária para obtenção do sustento com a comercialização do leite entre a vizinhança e encaminhamento do produto para cooperativas, alegam que a contenção e o ato da coleta iriam prejudicar a produção, bem como, o diagnóstico de enfermidades poderiam ocasionar intervenções médico-sanitárias na propriedade e impedir a continuidade da criação e comercialização dos sub-produtos oriundos do animal
- O executor do projeto ressalta ainda, segundo observação de relatos pessoais, que a resistência na coleta das amostras de sangue está associada diretamente ao inconformismo que afeta os pequenos produtores diante da dificuldade de assistencialismo pelos órgãos públicos.

9.2 Quanto aos resultados individuais das análises das amostras de sangue

A distribuição não uniforme entre os limites toleráveis e não toleráveis, em cada animal, ocorre segundo Baird (2002) e Fenner (2003), pelo fato da

distribuição do chumbo inorgânico no organismo estar associado não somente a quantidade e ao tempo de exposição e sim à idade do animal, pois animais jovens, por terem seu metabolismo mais acelerado e estarem sujeitos a alterações hormonais mais constantes, possuem a capacidade maior de absorção deste elemento. Plunkett et al (2005), Gfeller (2006) e Oga et al (2008) ressaltam que animais com idade mais avançada, considerando o tempo de exposição e a absorção mais prolongados, possuem chumbo armazenado em suas estruturas ósseas, e desta forma estão mais expostos a redistribuição do chumbo no organismo associada a fatores como dietas com deficiência de fósforo, que ao alterarem o metabolismo de cálcio, favorecem a mobilização deste metal, chumbo, que acumula nos ossos.

9.3 Quanto às amostras de Sal Mineral

Estas amostras foram coletadas nas propriedades onde os animais apresentaram maior concentração detectável em sangue. A primeira observação está associada a não existência de rotulagem na embalagem das amostras fornecidas. Este fato foi justificado pelos proprietários que adquiriram o sal mineral do comércio informal e a granel. Esta forma de compra é preferida pelo baixo custo, o que segundo Marçal et al (2003) e Marçal et al (2006), compromete a qualidade do sal mineral, pois a utilização de matéria prima de qualidade inferior favorece o acúmulo de metais pesados, como o chumbo, macro e micronutrientes de forma não proporcional na formulação deste composto. Esta prática acarreta a absorção do chumbo pelo organismo,

favorecido pela competição dos sub-produtos e comprometendo acima de tudo a palatabilidade do sal mineral.

Desta forma das 10 amostras analisadas, duas apresentaram valores abaixo do limite tolerável e uma superior a este limite, o que pode comprovar também a fonte de chumbo nos animais com limites muito acima do tolerável, pois a ingestão do sal mineral de qualidade duvidosa pode favorecer a perpetuação do chumbo no organismo.

9.4. Quanto às amostras de solo

Como não há pastagem no local, os animais são mantidos em piquetes e, em partes do dia, são liberados para caminhar em lotes rodeados por cercas, com a presença de capim de origem variada e baixo para o pastoreio de bovinos, e por estes serem ruminantes que necessitam do auxílio da língua para favorecer a preensão do capim. Alleoni et al (2005) ressaltam que a utilização constante do solo, sem o preparo e a orientação profissional adequada, bem como, a utilização do solo para a criação de animais, e posterior utilização para plantio, ocasiona desequilíbrio quanto à concentração de metais pesados, macro e micronutrientes. As intempéries climáticas têm participação importante neste sentido, o que em Guarapuava é constante, por ser uma região chuvosa. Com o pisoteio dos animais e ao tipo de solo há formação de lodo. A análise das amostras do solo próximo onde os animais viviam e apresentavam limites detectáveis no sangue revelou limite acima do tolerável em duas, próximo ao limite tolerável outras duas e abaixo do limite

tolerável em duas amostras.

Porém em relação às amostras de capim, apenas uma apresentou a concentração de chumbo mensurável, embora abaixo do limite tolerável. Cabe ressaltar que a concentração no capim, varia de acordo com sua capacidade em absorver o chumbo, ao tempo de exposição, e também as variações climáticas locais as quais podem alterar a concentração do chumbo junto ao solo. Além disso, o pisoteio animal, também pode influenciar a concentração de Pb no solo de acordo com Camargo et al (2001), Andrade et al (2006) e Spinosa et al (2008).

9.5 Limites mensuráveis de acordo com as localidades próximas ou distantes de áreas habitadas

As concentrações mais altas de chumbo foram detectadas próximas a localidade onde existe a atividade de pequenos produtores e também áreas utilizadas para o lazer da população. Isto pode ser explicado pelo carreamento do chumbo proveniente das indústrias pelas águas, pois trata-se de uma região com chuvas persistentes e correnteza constante.

Porém, de acordo com o dado observado, conclui-se que o maior contribuinte para tais resultados são os pequenos produtores, os quais sem conhecimento de causa utilizam defensivos agrícolas de forma inadequada, sendo que muitas vezes, descartam os resíduos e lavam seus aplicadores próximos à propriedade (CAMARGO et al, 2001; SADAIO, 2002, ANDRADE & ABREU, 2006).

Outra fonte de chumbo, na localidade, também está associada à poluição veicular, pois muitos destes pequenos produtores embora residam

nessas localidades, trabalham nas áreas urbanas, e não se pode deixar de lado que pessoas utilizam a região nos finais de semana e feriados para o lazer da família (CAMARGO et al, 2001; SADAQ, 2002, ANDRADE & ABREU, 2006).

9.6. Quanto às amostras de água

Nenhuma concentração de chumbo foi detectada nas amostras de água coletadas. Este fato está associado à declividade da região, o que permite a constante troca de água, favorecida, também, pela correnteza do rio e principalmente pela qualidade da água, a qual foi analisada pela pesquisadora da Universidade Estadual do Centro Oeste - UNICENTRO, Quinaia (2006), que demonstrou grande concentração de gordura nesta água, e o chumbo têm sua adsorção favorecida junto às margens dos rios, no solo.

9.7 Formação do Ponteados Basofílicos

No exame direto de sangue, observado à microscopia ótica, a formação do ponteados basofílicos não foi detectada, o que nos leva a associar que este não serve como exame de triagem para quadros agudos ou crônicos de intoxicação por chumbo, pois a formação deste ponteados não se encontra somente na intoxicação por chumbo, e sim também na deficiência de ferro, no caso da anemia ferropriva, o que anteriormente já foi relatado por Baird (2002), Moreau et al, (2008) e Oga et al (2008).

10. CONCLUSÕES

Nas condições em que foram realizados o desenvolvimento deste projeto, pode-se concluir que:

- Os bovinos são bioindicadores ambientais;
- A água não foi uma amostra determinante nesta região de estudo;
- A presença do Ponteadó Basofílico não serve como diagnóstico de triagem para suspeita de quadros clínicos de intoxicação por chumbo;
- O capim, solo e o sal mineral são amostras importantes para o levantamento da origem da contaminação dos bioindicadores ambientais;
- A ocupação e o não planejamento da exploração agropecuária oferecem o aumento de contaminantes químicos ambientais, seja pela degradação favorecida pela ação do homem e/ou pela utilização indiscriminada dos recursos naturais e de produtos que favoreçam a agropecuária.

REFERÊNCIAS

ACIG – Associação Comercial e Empresarial de Guarapuava – Paraná. **Revista ACIG**. Edição 2007. Outubro 2009.

ALLEONI, L.R.F.; BORBA, R.P.; CAMARGO, O.A. Metais pesados: da cosmogênese aos solos brasileiros. In: **VIDAL-TORRADO, P.; ALLEONI, L.R.F.; COOPER, M.; SILVA, A.P.; CARDOSO, E.J.B.N.; PROCHNOW, L.E. Tópicos em Ciência do Solo**. 5^a ed.; Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 1-42, 2005.

AMODIO-COCCHIERI, R.; FIORE, P. Lead and cadmium concentration in livestock bred in Campânia, Italy. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. New York, v. 39, n. 03, p. 460 – 464, 1987.

AMORIM, L.C.A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição ao agentes químicos ambientais. **Rev. Bras. Epidemiologia**. v. 06, supl. 01, p. 01 – 13, 2003.

ANDRADE, J.C.; ABREU, M.F. A utilização de resíduos na agricultura. IN: **ANDRADE, J.C.; ABREU, M.F. Análise química de resíduos sólidos para monitoramento e estudos agroambientais**. Campinas: Instituto Agrônômico, p. 1-10, 2006.

ATHANASOPOULOS, N. **Flame Methods Manual GBC for Atomic Absorption**, Victoria, Australia, p 1-11, 1994.

ATSDR. AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. Toxicological profile for lead. Atlanta: ATSDR, 1999. 587p.

BAIRD, C. **Química Ambiental**. São Paulo: Editora ATHENEU. 2002, 746p.

BARBOSA, J.D.; OLIVEIRA, C.M.C.; DUARTE, M.D. Intoxicações com Manifestações Neurológicas em Ruminantes. **II Simpósio Mineiro de Buiatria. 06 a 08 outubro 2005. Belo Horizonte, Minas Gerais – Brasil**.

BASSET, J., DENNEY, R, C., JEFFERY, G. H., et al. **Vogel – Análise Inorgânica Quantitativa**. 4^o ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, p. 80-1., 1981.

BATTISTELLI, M.; CAMARGO FILHO, M.; HEERDT, B. Proteção Manejo da Bacia do Rio das Pedras. IN: **HEERDT, B.; BATTISTELLI, M.; ALBERTI, M.; BARONI, R.; DANIEL, J. Levantamento e Análise dos Pontos Críticos**. Guarapuava – PR. Ed. Gráfica B 7 D, p. 43-50, 2004a.

BATTISTELLI, M.; CAMARGO FILHO, M.; HEERDT, B. Proteção Manejo da Bacia do Rio das Pedras. **IN: SILVA, D.W. A vegetação da Bacia do Rio das Pedras.** Guarapuava – PR. Ed. Gráfica B 7 D, p. 91-99, 2004b.

BATTISTELLI, M.; CAMARGO FILHO, M.; HEERDT, B. Proteção Manejo da Bacia do Rio das Pedras. **IN: POTT, C.A. & MULLER, M.M.L. Cobertura pedológica na Bacia do Rio das Pedras.** Guarapuava – PR. Ed. Gráfica B 7 D, p. 77-83, 2004c.

BATTISTELLI, M.; CAMARGO FILHO, M.; HEERDT, B. Proteção Manejo da Bacia do Rio das Pedras. **IN:QUINÁIA, S.P.; MACIEL, J.M.; ROSA, M.R. Levantamento e análise dos pontos de coleta das águas da rede hidrográfica do Rio das Pedras.** Guarapuava – PR. Ed. Gráfica B 7 D, p. 35-42, 2004d.

BENTUR, Y.; KOREN, G. The common occupational exposures encountered by pregnant women. **In: KOREN, G. Maternal-fetal toxicology – A clinicians guide.** 2º ed. Toronto: Editora Marcel Dekker, p. 403-404, 1994.

BINDA, A.L. & GOMES, M.F.V.B. Identificação e mapeamento de áreas de mineração no Município de Guarapuava – PR utilizando imagens digitais. **Caminhos de Geografia.** p. 38-49, 2007.

BIZIUK, M. & ZUKOWSKA, J. Methodological Evaluation of Method for Dietary Heavy Metal Intake. **Journal of Food Science.** p. 1 – 9, 2008.

CALDEIRA, C.; COSTA MATTOS, R.C.O.; MEYER, A; MOREIRA, J.C. Limites de aplicabilidade da determinação do ácido delta-aminolevulínico urinário como teste *screening* na avaliação da intoxicação profissional pelo chumbo. **Cad. Saúde Pública.** v. 16, n. 01, p. 01 – 06, 2000.

CAMARGO, O.A.; ALLEONI, L.R.F.; CASAGRANDE, J.C. Reações dos micronutrientes e elementos tóxicos no solo. **IN: FERREIRA, M.E. et al. Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura.** Jaboticabal: Potafos/CNPq, p. 89-124, 2001.

CANTARINO, L.M.; JUNQUEIRA, J. R. Encefalopatia Espongiforme Bovina (“Doença da Vaca Louca”). **Rev. CFMV,** Brasília/DF, Ano VI, n 21, p. 08-15. 2000.

CARLTON, .W.W.; McGAVIN, M.D. **Patologia Veterinária Especial de Thomson,** 2 ed.; Porto Alegre: ARTMED. 1998, 672p.

CORDEIRO, R.; LIMA FILHO, E.C.; SALGADO, P. E. T. Reajustando o limite de tolerância biológica aplicado à plumbemia no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública.** p. 2 – 13, 1996.

CORREA, W.M. & CORREA, C.N.M. **Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos**. Rio de Janeiro: MEDSI. 1992. 843p.

DEY, S.; SWIVEDI, S.K.; SWARUP, D. Lead concentration in blood, milk and feed of lactating buffalo after acute lead poisoning. **Veterinary Record**. London, v. 138, 1996, 336p.

FENNER, W. R. **Consulta rápida em Clínica Veterinária**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2003. 514p.

GFELLER, R. W.; MESSONNIER, S. P. **Manual de Toxicologia e envenenamentos em pequenos animais**. São Paulo: Editora Roca, 2006. 376p.

HATCH, R.C.; FUNNEL, H.S. Lead levels in tissues and stomach contents of poisoned cattle: a fifteen year survey. **Canadian Veterinary Journal**. Ottawa, v. 10, n. 10, p. 258 – 262, 1969.

JUBB, K.V.F.L; KENNEDY, P.C. **Pathology of Domestic Animals**. New York, Academic Pres. 2º ed. v. 02, p. 388 – 391, 1970.

KLAASSEN, C. D. Metais Pesados e seus Antagonistas. **IN: GILMAN, A. Goodman et al. As bases farmacológicas da terapêutica**. 8. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p.1061- 5.

LEITE, E. M. Exposição ocupacional ao chumbo e seus compostos. **Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Setor de Toxicologia**. p. 1-22, 2006.

LEITE, E.M.A. Exposição ocupacional ao Chumbo e seus compostos. Universidade Federal de Minas Gerais – Faculdade de Farmácia. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Setor de Toxicologia. **Manual Técnico da Faculdade de Farmácia – Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Setor de Toxicologia / UFMG**. 2005.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**. 3 ed.; Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 608p.

MANUAL DA PROECTO ANALITICA, LTDA. Campinas – S.P. p. 55 e 99. 2000.

MARÇAL, W.S. Estudo clínico para avaliação e monitoramento da poluição industrial nos animais pecuários. **Tese de doutoramento – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu – SP**. 165p. 1996.

MARÇAL, W.S. Atuação pericial do médico veterinário em ações de biomonitoramento ambiental. **Revista CFMV**. n. 39, p. 27 – 33, 2005.

MARÇAL, W.S. Relatório Ambiental e Biológico da Contaminação por Metais Pesados em Caçapava Velha. IN: _____ **Manual Técnico do Curso de Pós-Graduação em Perícia Veterinária Forense da Universidade Estadual de Londrina – UEL. Londrina**. p. 01 – 24, 2005.

MARÇAL, W.S.; BUTURE, I.O; CARVALHO, M.C.; FORTES, M.S.; ANDRADE e SILVA, R. Níveis de chumbo e cádmio em suplementos minerais para bovinos comercializados em Londrina, **Semina: Ciências Agrárias**. v. 25, n. 04, p. 359 – 364, 2004.

MARÇAL, W.S.; GASTE, L.; LOPES NASCIMENTO, M. R. Identificação e quantificação de chumbo em misturas minerais comercializadas no Estado de São Paulo. **Ciência Animal Brasileira**. v. 06, n. 04, p. 249 – 253, 2005.

MARÇAL, W.S.; GASTE, L.; NASCIMENTO, M.R.L.; OLIVEIRA, H.S. Teores de chumbo em suplementos minerais comercializados no Estado de Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural**. v. 33, n. 04, p. 775-778, 2003a.

MARÇAL, W.S.; SOUZA, A M.; NASCIMENTO, M. .R.L.; CARVALHO, M.C. Valores de chumbo inorgânico em suplementos minerais para bovinos comercializados no Estado de Goiás. **Arq. Inst. Biol.** São Paulo, v. 71, n. 01, p. 31 – 34, 2004b.

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. **Rev. Bras. Ci. Vet.** v. 10, n. 01, p. 16 – 20, 2003.

MOREAU, R.L.L. & SIQUEIRA, M.E.P.B. **Toxicologia Analítica**. Rio de Janeiro: Guanabara/Koogan. 2008. 318p.

MOREIRA, F.R. & MOREIRA, J.C. A importância da análise de especiação do chumbo em plasma para a avaliação dos riscos à saúde. **Química Nova**. v. 27, n 02, p. 02 – 21, 2004.

NRIAGU, J.O. A history of global metal pollution. **Science**, v. 272, p. 223-4, 1996.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia**. 3ª ed. Atheneu Editora; São Paulo; 2008. 677p.

OLIVEIRA, F.C. Disposição de lodo de esgoto e composto de lixo urbano num latossolo vermelho-amarelo cultivado com cana de açúcar. 2000. **Tese de Doutorado, ESALQ-USP**, Piracicaba, 2000.

ONG, C.N., PHOON, W.O., LAW, H.Y., TYE, C.Y., LIN, H.H. Concentrations of lead in maternal blood, cord blood, and breast milk. **Arch. Dis. Child**, v.60, n.8, p.756-9, 1985.

OSHIMA FRANCO, Y. & MADALENO FRANCO, L. Biotransformação: importância e toxicidade. **Saúde Rev.** v. 05, n. 09, p. 69 – 76, 2003.

PAOLIELLO, MÔNICA, M.B.; CHASIN, ALICE, A.M. Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos. Série Cadernos de Referência Ambiental, v.3. Centro de Recursos Ambientais – CRA, Salvador, BA, 2001. 144p.

PLUNKETT, S.J. **Emergency procedures for the small animal veterinarian**. 2nd. Ed. Edinburgh: W.B. Saunders, 2005.

PREFEITURA MUNICIPAL DE GUARAPUAVA – PR. Guarapuava em Números: Uma coletânea dos principais indicadores nos últimos anos. **Fundação Brasil: Desenvolvimento Sustentável**. Setembro 2004. 82p.

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO – POPs – Procedimento para mineralização de amostras e posterior análise por Espectrometria por Absorção Atômica (Chama ou forno de grafite) **Centro de Assistência Toxicológica – CEATOX – IBB UNESP**, p. 1-4., 2002.

REICHARDT, K. & TIMM, L.C. **Solo, Planta e Atmosfera: Conceitos, Processos e Aplicações**. São Paulo: MANOLE. 2004. 478p.

ROCHA, J.C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. **Introdução à Química Ambiental**. Porto Alegre: Bookman. 2004. 154p.

SADAO, M. Intoxicação por chumbo. **Revista de Toxicologia**. p.37-42, jan.-fev.-mar. 2002.

SALGADO, P. E. T. Metais em Alimentos. **IN: OGA, S. Fundamentos de Toxicologia**. 2. Ed. São Paulo: Atheneu, p.577-608. 2008.

SANSEVERINO, M.T.V.; SPRITZER, D.T.; SCHULER-FACCINI, L. **IN: CASTRO, P.D. Exposição ocupacional**. p. 401-411, 2001.

SCHIFER, T.S.; BOGUSZ Jr.; S.; MONTANO, M A E. Aspectos Toxicológicos do Chumbo. **Informa**. v. 17, n. 5/6, p. 67 – 72, 2005.

SHARMA R.P.; STRET, J.C. Public health aspects of toxic heavy metals in animals feeds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. Schaumburg. v. 177, n. 02, p. 149 – 153, 1980.

SHARMA, K., REUTERGARDH, L.B. Exposure of preschoolers to lead in the Makati, area of Metro Manila, the Philippines. **Environ. Res.**, A83, p.322-332, 2000.

SILVEIRA, A M. & FERREIRA, L.R. Intoxicação por chumbo em atividade de instrução de tiro. **Rev. Bras. Med. Trab.** Belo Horizonte – MG, v. 01 n. 01, p. 71-73, 2003.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; PALERMO-NETO, J. **Toxicologia Aplicada à Medicina Veterinária**. São Paulo: Editora Manole. 2008. 942p.

SPINOSA, H.S.; GORNIK, S.L.; PALERMO-NETO, J. Toxicologia aplicada à Medicina Veterinária. **IN: HUEZA, I.M.; PALERMO-NETO, J. Immunotoxicologia**. São Paulo: Manole. p. 745-746, 2008.

SPINOSA, H.S.; GORNIK, S.L.; PALERMO-NETO, J. Toxicologia aplicada à Medicina Veterinária. **IN: HUEZA, I.M.; SANT'ANA, M.G.; PALERMO-NETO, J. Toxicologia do chumbo, mercúrio, arsênio e de outros metais**. São Paulo: Manole. p. 641-648, 2008.

SPIRO, T. G., STIGLIANI, W. M. **Química Ambiental**. 2ª ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2009. 334p.

TEIXEIRA, P., VALLE, S. – Mapa de Risco e Segurança Química em Biotecnologia. **IN: _____ Biossegurança – Uma Abordagem Multidisciplinar**. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 111-131 p., 2002.

UNEP – UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAM. Phasing lead out of gasoline: an examination of policy approaches in different countries. Disponível em: <http://www.unepie.org/energy/activities/Transport/Lead-gas/Lead.htm>. Acesso em 5 maio 2008.

VANZ, A; MIRLEAN, N.; BAISCH, P. Avaliação de poluição do ar por chumbo particulado: Uma abordagem geoquímica. **Química Nova**. v. 26, n. 01, p. 25 – 29, 2003.

VIGILANCIA AMBIENTAL EM SAÚDE. Textos de Epidemiologia para Vigilância Ambiental em Saúde. Noções de vigilância ambiental em saúde: conceitos, estrutura, concepção e modelo de atuação. Brasília – DF. p. 19 – 28, 2002.

WHO. World Health Organization. IPCS. Environmental Health criteria 165 – Inorganic Lead. Geneva: WHO, 1995. 300p.



Rio Grande, 22/01/2010.

REF. Nº:JBSE142_2009

Dr. Jayme Augusto Peres

Prezado(a) Senhor(a),

Agradecemos e comunicamos o recebimento do manuscrito: “**Bovinos Como Bioindicadores Da Poluição Ambiental Por Chumbo Na Região De Guarapuava-Pr**”.

Para agilizar o processo de avaliação solicitamos a indicação de 3 prováveis revisores (nome, endereço e E-mail completos).

Este trabalho será analisado preliminarmente pelos Editores da Revista. Caso esteja de acordo com as normas editoriais, o mesmo será enviado a dois consultores *ad-hoc* para análise. Se em 90 dias V. S^a. não receber qualquer informação, favor entrar em contato com a Comissão Editorial (jbsecotox@gmail.com) citando sempre o Nº de Referência do trabalho.

Agradecemos por ter submetido seu trabalho ao *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*.

Atenciosamente,

Gilberto Fillmann
Editor Chefe

BOVINOS COMO BIOINDICADORES DA POLUIÇÃO AMBIENTAL POR CHUMBO NA REGIÃO DE GUARAPUAVA-PR

Peres, J.A.,^{1*}; Sakate, M.,² Munhoz, P.M.²

1 Anatomia Patológica Veterinária-UNICENTRO-PR 2 Depto Clínica Veterinária-UNESP

As concentrações toleráveis de chumbo (Pb) são suplantadas no meio ambiente por ações antropogênicas associadas à agropecuária ou despejo de resíduos químicos industriais; comprometendo o bem estar dos animais e dos homens. O projeto utilizou bovinos como bioindicadores ambientais na contaminação por Pb. Foram analisadas amostras de sangue total de bovinos e de água, solo, capim e sal mineral da mesma região de criação dos animais, as quais foram quali-quantificadas pela Espectrometria de Absorção Atômica em Chama. O teste de distribuição *t*, a média na concentração de Pb no sangue total é 0,012µg/mL, sal mineral 2,68mg/Kg, solo 13,51mg/Kg e capim 0,76mg/Kg. Não sendo detectado Pb nas amostras de água. O valor no sangue total é inferior ao valor tolerável de 0,25µg/mL porém este serve como bioindicador ambiental já esta amostra é significativa para exposição aguda ou redistribuição fisiológica do Pb e por encontrar-se em ambiente onde as amostras coletadas tiveram níveis detectáveis de Pb, mesmo abaixo dos limites toleráveis porém com exposição contínua.

PALAVRAS-CHAVE: Bioindicadores; Bovinos; Chumbo

*** Correspondência autor:** perespatologia@hotmail.com

BOVINES AS BIOINDICATORS OF LEAD ENVIRONMENTAL POLLUTION IN THE GUARAPUAVA-PR AREA

Peres, J.A.,^{1*}; Sakate, M.,²; Piagentini, M.³

1 Veterinary Pathologic Anatomy-UNICENTRO-PR 2 Dept of Clinic Veterinary-UNESP 3 Independent Veterinary Doctor

Tolerable lead (Pb) concentrations are surpassed in the environment by anthropogenic actions associated to agricultural activities or industrial chemical waste disposal that affect the welfare of animals and humans. In this study, bovines were used as environmental bioindicators of Pb contamination. Samples of bovine whole blood, as well as samples of water, soil, grass and mineral salt from the area where these animals are raised were quantified by Flame Atomic Absorption Spectrometry. Mean Pb concentration was 0.012µg/mL in whole blood, 2.68mg/Kg in mineral salt, 13.51mg/Kg in soil and 0.76mg/Kg in grass. No Pb was detected in water samples. The concentration found in whole blood was below the limits considered tolerable (0.25µg/mL). Nonetheless, these findings demonstrate that bovine blood may be used as an environmental marker given that whole blood samples showed significance for Pb acute exposure or physiological redistribution, and the other samples collected from the same environment showed detectable Pb levels that, despite being below tolerable, demonstrated continuing exposure.

Key Words: Bioindicators; Bovines; Lead

*** Corresponding author:** perespatologia@hotmail.com

Aprovado pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ – UNESP – Botucatu. Protocolo N° 130/2006-CEEA, da data de 29 de novembro de 2006.

1. INTRODUÇÃO

O chumbo (Pb) é um metal pesado de número atômico 82, peso atômico 207,21 com ponto de fusão igual a 327°C e de ebulição a 1740°C. Na crosta terrestre sua concentração é de 13 partes por milhão (ppm) sob a forma de galena como sulfeto de chumbo (PbS) o que permite sua exploração em minerações. As principais fontes naturais de chumbo são as emissões vulcânicas, responsáveis por volume de 6.400 toneladas/ano, pelo intemperismo geoquímico e pelas névoas aquáticas (AMORIN, 2003).

As concentrações toleráveis são suplantadas pela ação antropogênica, associada à exploração agropecuária inadequada e/ou deposição de resíduos químicos gerados por indústrias. O metal pode ser veiculado ao homem e aos animais que utilizam dos recursos naturais para sua subsistência e este elemento não possui função fisiológica no organismo, acumulando-se nos eritrócitos em casos agudos, e em órgãos como vísceras, ossos e dentes pela vida média de 30 anos (OGA, 2008).

As consequências do chumbo no organismo estão associadas às alterações relacionadas à bioquímica celular, como a inativação de enzimas as ATPases de cálcio, sódio e potássio, ácido aminolevulínico desidratase (ALAD), ácido 5-aminolevulínico (ALA) e principalmente as enzimas com atividades relacionadas a detoxicação hepática como a citocromo P₄₅₀. A ação mais significativa do chumbo é o processo degenerativo dos sistemas nervosos central e periférico favorecido pela desmielinização e degenerações axonais porém, todos os sistemas do organismo são comprometidos pela alterações bioquímicas celulares favorecidas pelo chumbo (SCHIFER et al, 2005; SPINOSA et al, 2008).

O objetivo deste projeto é monitorar o meio ambiente utilizando amostras de sangue de bovinos que servirão como bioindicadores, além da quantificação do Pb por intermédio da técnica de Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (GBC932AA) em amostras de água, capim e solo na região do Rio das Pedras na Serra da Esperança no Município de

1 Guarapuava – Paraná, coletando-se amostras de água, solo, capim e sangue de bovinos por
2 venopunção jugular com posterior encaminhamento ao Centro de Atendimento Toxicológico
3 CEATOX/IB, UNESP – Botucatu, SP, para análise pela técnica de Espectrometria de
4 Absorção Atômica (GBC932AA).

5 A utilização de animais pecuários como bioindicadores ambientais tem como objetivo
6 detectar a ocorrência de um problema que possa comprometer a saúde e o bem estar dos
7 animais e do homem (MARÇAL *et al*, 2004; MARÇAL *et al*, 2005).

8 A absorção do chumbo proveniente de fontes ambientais depende da quantidade do
9 metal, do seu estado físico e químico, além dos fatores inerentes ao homem ou animal
10 afetado, como idade, higidez, condição nutricional e, possivelmente, fatores genéticos. O
11 chumbo é absorvido por todas as vias, porém, a respiratória favorece a absorção imediata,
12 principalmente quando existe a inalação na forma de vapor. Pela via oral, a principal via de
13 exposição para os animais, à contaminação depende da solubilidade do sal de chumbo
14 ingerido, sendo absorvido entre 1% a 2%, na forma de sais de acetato, de fosfato e de óxido
15 de carbonato (PAOLIELLO, 2001).

16 A distribuição do chumbo no organismo depende inicialmente do fluxo sanguíneo,
17 pois 90% está ligado à porção heme da hemoglobina. Este é excretado do organismo
18 associado ao conteúdo urinário, fecal e pela bile e em menor concentração pelo suor, saliva,
19 cabelos, pêlos, unhas, cascos e leite materno (LEITE, 2006; OGA *et al*, 2008).

20 No sistema renal o chumbo interfere na oxidação e fosforilação oxidativa diminuindo
21 a função de reabsorção das células epiteliais dos túbulos proximais, com conseqüente
22 formação de corpos de inclusão formados pelos complexos chumbo-proteínas, constituídos de
23 ácidos aspártico e glutâmico e cisteína (LEITE, 2006; OGA *et al*, 2008).

24 O chumbo interfere na homeostasia dos eletrólitos sanguíneos como sódio, potássio,
25 cálcio e fósforo (Na, K, Ca e P); no metabolismo de minerais zinco, cobre, manganês e

1 alumínio (Zn, Cu, Mn, Al); no metabolismo de carboidratos, lipídeos, ácido ribonucleico
2 (RNA) e aminoácidos; na síntese de proteínas; na metabolização de complexos vitamínicos,
3 como tiamina (B₁), ácido nicotínico (PP) e cianocobalamina (B₁₂); na produção de hormônios,
4 como a tiroxina e os hormônios hipofisários (PAOLIELLO, 2001).

5 Em animais, existe uma correlação positiva entre o chumbo nos tecidos e as
6 concentrações do metal provenientes da dieta, embora os níveis tissulares sejam quase sempre
7 mais baixos. A sintomatologia manifestada pelos animais intoxicados é de origem,
8 principalmente, neurológica e/ou gástrica. Em animais de companhia, a sintomatologia
9 nervosa é caracterizada por alterações comportamentais, apatia, ataxia, nistagmo, opistótono,
10 convulsões e, em alguns casos, a cegueira. As alterações produzidas no trato gastrointestinal
11 (TGI) são vômitos, anorexia, desconforto abdominal, diarreia, apetite depravado e abdômen
12 retraído. Os sinais clínicos classificados como demência podem abranger o comportamento de
13 pressionar a cabeça contra objetos, bruxismo, vocalizações, corridas a esmo, andar em
14 círculos ou andar compulsivo. Em gatos, ainda é relatada a ocorrência de poliúria e polidipsia,
15 megaesôfago e disfagia. A intoxicação crônica pode levar as alterações no sistema nervoso
16 periférico, com sinais clínicos de polineuropatia (tetraparesia, tetraparalisia ou reflexos
17 espinhais diminuídos) (GFLLLER, 2006).

18 Como os animais pecuários estão em contato direto com fontes de recursos naturais,
19 água, solo e plantas, que podem estar contaminados pelo acúmulo de chumbo, eles se tornam
20 potenciais biomonitores ambientais (CORDEIRO et al, 1996; ROCHA et al, 2004; MARÇAL,
21 2005). O estreito contato dos bovinos com as fontes de contaminação os tornam mais
22 propensos às enfermidades ocasionadas pela contaminação por metais pesados. A avaliação da
23 contaminação não se deve restringir apenas à mensuração dos resíduos químicos em amostras
24 orgânicas dos animais, mas também associada ao quadro clínico, e as características
25 epidemiológicas da região onde o animal se encontra, considerando a fonte e o tempo de

1 exposição. Deve-se observar ainda as alterações bioquímicas celulares favorecidas pelos
2 produtos químicos, como ocorre com o baixo nível da atividade colinesterásica apresentado
3 pelos animais expostos a praguicidas, organofosforados e/ou carbamatos (ROCHA et al,
4 2004).

5 O chumbo é reconhecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um dos
6 elementos químicos mais perigosos à saúde animal e humana, colocando este elemento em
7 dois grupos distintos: o chumbo inorgânico e o orgânico. O chumbo inorgânico favorece a
8 intoxicação, principalmente, pelas vias respiratória e digestiva, acumulando-se inicialmente
9 nos tecidos moles e posteriormente depositam-se nos ossos, dentes, cabelos e pêlos. Quando
10 circulante, o chumbo inorgânico se encontra associado aos eritrócitos que irão distribuí-lo. A
11 intoxicação pela forma orgânica ocorre principalmente por meio do chumbo na forma de
12 tetraetila e tetrametila, apresentando características lipossolúveis e favorece assim a sua
13 absorção pela pele, trato gastrointestinal e pulmões (CORDEIRO et al, 1996; AMORIN et al,
14 2003; ROCHA et al, 2004).

15 A concentração sanguínea de chumbo na fase de plumbemia é o indicador biológico
16 mais importante na prevenção da intoxicação ocupacional por este elemento, servindo para o
17 controle da exposição em trabalhadores. Desta forma, é determinada a tolerância biológica
18 aplicada à plumbemia nos países industrializados e por extensão em todo o mundo, variando
19 entre 50µg/dL e 80µg/dL. No Brasil, desde 1983, por meio do Anexo II, da Norma
20 Regulamentadora Número Sete, o Ministério do Trabalho definiu como 60µg/dL o limite de
21 tolerância biológica para a plumbemia no homem, o Ministério do Trabalho complementou
22 esta norma com a Portaria nº 24/1994, publicada em dezembro de 1994, substituindo o termo
23 “limite de tolerância biológica” por “índice biológico máximo permitido” (IBMP)
24 (CORDEIRO et al, 1996; AMORIN et al, 2003; ROCHA et al, 2004).

MATERIAL E METODOS

A coleta de amostras foi realizada na Serra da Esperança no município de Guarapuava (PR) coletando-se junto às pequenas propriedades rurais com criação de bovinos amostras de água do Rio das Pedras pertencente à região na quantidade de 500mL acondicionadas em frascos plásticos de polietileno, identificadas e refrigeradas a -4°C para posterior análise. Amostras de solo, sal mineral e capim (*Brachiaria sp.*) foram coletadas na quantidade de 350 gramas na mesma localidade, as quais foram acondicionadas em sacos plásticos e identificadas e armazenadas da mesma forma que a amostra de água.

Dos bovinos das pequenas propriedades rurais da mesma região onde coletou-se as amostras anteriores foi coletado 5mL de sangue por venopunção após a contenção do animal e antisepsia com Iodo Povidine[®] embebido em algodão na região cervical lateral puncionando a veia jugular com agulha descartável siliconizadas[®] na espessura de 40x12 mm a qual foi ligada em adaptador de polietileno ao tubo de vacutainer[®] de mesma composição com tampa azul específica para análise de metais pesados. O tubo foi identificado e armazenado sob refrigeração a -4°C para posterior análise, sendo coletado de um total de 10 bovinos hígidos presentes na propriedade há mais de três anos.

As amostras foram analisadas pela técnica de espectrometria de absorção atômica em chama (GBC932AA) utilizando o recipiente para análise denominado vaso de reação de polietileno (Hostaflon[®]), o qual descontaminado com uma solução de ácido nítrico a 10% e posteriormente realizando-se a tríple lavagem com água deionizada. As amostras foram pesadas em balança analítica (MARTE, AS 2000-c), adicionando-se 3 a 4mL conforme a amostra a ser analisada. Em seguida, adicionou-se 6mL de ácido nítrico (HNO₃ 65%, Merck P.A.) realizando-se, posteriormente, o travamento da unidade mineralizadora com camisa de contenção com a finalidade de resistir à pressão interna. As amostras foram então levadas ao

forno de micro-ondas (PROVETTO DGT 100 Plus).

Após os vasos de reação atingirem a temperatura ambiente, estes foram conduzidos até a câmara de exaustão (Capela), aonde foram abertos e as amostras colocadas em frascos de polietileno com tampa rosqueável (Starsted®) e devidamente identificados. Em seguida, fez-se o enxague com água deionizada, na quantidade de 3mL do vaso da reação, avolumando o frasco da amostra para 10mL, e procedendo a análise quali-quantificadas para o Pb por intermédio da técnica analítica Espectrofotômetro de Absorção Atômica – EAA (GBC AA 932) otimizado para o elemento químico chumbo.

RESULTADOS

Nas amostras de água, não foi detectada a presença de chumbo isto devido a água desta localizada possuir elevada concentração de óleos e gorduras, os quais favorecem a adsorção do chumbo e sua deposição no solo e no capim nas margens do rio. No solo a média total das amostras teve como concentração de chumbo a quantidade de 13,51mg/kg, no sal mineral de 2,68 mg/kg.e no capim de 0,76mg/kg. No sangue total a média foi de 0,012 µg/mL.

Os resultados observados estão especificados no quadro 1 de acordo com a análise descritiva e o teste de distribuição *t*, comparando com os valores considerados toleráveis.

QUADRO 1: resultados das análises efetuadas pela espectrometria de absorção atômica

AMOSTRA	SANGUE (µg mL ⁻¹)	SAL (mg kg ⁻¹)	SOLO (mg kg ⁻¹)	CAPIM (mg kg ⁻¹)
1	ND	ND	1,52	5,33
2	ND	ND	16,76	ND
3	ND	12,72	4,90	ND
4	ND	0,18	21,62	ND
5	ND	0,51	14,75	ND
6	ND	X	21,50	ND
7	0,018	X	X	ND

8	0,071	X	X	X
9	0,025	X	X	X
10	0,005	X	X	X
Valor tolerável	0,25 µg.mL⁻¹	10,00 mg kg⁻¹	20,00 mg kg⁻¹	7,00 mg kg⁻¹
Moda	0,00	0,00	0,00	0,00
Mediana	0,00	0,18	15,76	0,00
Amplitude total	0,001	12,72	20,10	5,33
Média amostra	0,012	2,682	13,508	0,761
Desvio Padrão	0,023	5,615	8,481	2,015
t _{CAL}	0,0016	-2,914	-1,875	-8,192
t _{TAB}	0,0023	2,776	2,571	2,447

1 **ND – Não detectável / X – Sem análise de amostra / Limite Detectável (LD): ≤ 0,05**
2 **µg.mL⁻¹ µg.mL⁻¹**

3 **|t_{CAL}| ≥ |t_{TAB}|** rejeita-se H₀, ou seja, há diferença entre as médias testadas em nível de 5% de
4 probabilidade (P<0,05).
5

6 **DISCUSSÃO**

7 **Coleta das amostras de sangue**

8 A coleta da amostra de sangue foi dificultosa, pois existe a incompreensão dos
9 proprietários ou responsáveis pelos animais para este tipo de coleta segundo as justificativas
10 abaixo:

11 - Segundo a observação do executor do projeto, os proprietários por utilizarem os animais
12 como fonte de complementação orçamentária para obtenção do sustento com a
13 comercialização do leite entre a vizinhança e encaminhamento do produto para cooperativas,
14 alegam que a contenção e o ato da coleta iriam prejudicar a produção, bem como, o
15 diagnóstico de enfermidades poderiam ocasionar intervenções médico-sanitárias na
16 propriedade e impedir a continuidade da criação e comercialização dos sub-produtos oriundos
17 do animal

18 - O executor do projeto ressalta ainda, segundo observação de relatos pessoais, que a
19 resistência na coleta das amostras de sangue está associada diretamente ao inconformismo que
20 afeta os pequenos produtores diante da dificuldade de assistencialismo pelos órgãos públicos.

21 Porém embora os valores da concentração de chumbo estejam bem inferior os limite

considerável tolerável, esses valores devem ser levados em consideração já que o objetivo é utilizar estes animais como bioindicadores, e cabe ressaltar que a mensuração deste elemento no sangue tem característica associada a exposição aguda ou a remobilização deste armazenado em vísceras no organismo, o que pode ocorrer estimulado pela presença de enfermidades e/ou por alterações hormonais induzidas pela lactação e/ou gestação. As amostras de sangue dos bovinos embora em baixa concentração associaram-se as amostras de mesma localidade referente ao solo, sal mineral e capim.

A exposição a elemento chumbo mesmo em baixas concentrações é prejudicial ao homem por este possuir média de vida mais elevada que os animais, o que permite que de forma gradativa este elemento seja acumulado no organismo ocasionando o desencadeamento de enfermidades tardias, principalmente as associadas ao sistema nervoso central.

Na região de desenvolvimento do estudo, pode concluir que a ocupação e o não planejamento da exploração agropecuária são os principais fatores contribuintes para o aumento de contaminantes químicos ambientais, seja pela degradação favorecida pela ação do homem e/ou pela utilização indiscriminada dos recursos naturais e de produtos que favoreçam a agropecuária, como os defensivos agrícolas e neste caso principalmente a utilização de sal mineral não inspecionado e de origem duvidosa, tendo sua matéria prima relacionada a fontes já com a presença do chumbo.

REFERÊNCIAS

AMORIM, L.C.A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição ao agentes químicos ambientais. **Rev. Bras. Epidemiologia**. v. 06, supl. 01, p. 01 – 13, 2003.

ANDRADE, J.C.; ABREU, M.F. A utilização de resíduos na agricultura. **IN: ANDRADE, J.C.; ABREU, M.F. Análise química de resíduos sólidos para monitoramento e estudos agroambientais**. Campinas: Instituto Agrônômico, p. 1-10, 2006.

BATTISTELLI, M.; CAMARGO FILHO, M.; HEERDT, B. Proteção Manejo da Bacia do

1 Rio das Pedras. IN: **HEERDT, B.; BATTISTELLI, M.; ALBERTI, M.; BARONI, R.;**
2 **DANIEL, J. Levantamento e Análise dos Pontos Críticos.** Guarapuava – PR. Ed. Gráfica B
3 7 D, p. 43-50, 2004.

4

5 CORDEIRO, R.; LIMA FILHO, E.C.; SALGADO, P. E. T. Reajustando o limite de tolerância
6 biológica aplicado à plumbemia no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública.** p. 2 – 13, 1996.

7

8 LEITE, E. M. Exposição ocupacional ao chumbo e seus compostos. **Universidade Federal**
9 **de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. Departamento de Análises Clínicas e**
10 **Toxicológicas – Setor de Toxicologia.** p. 1-22, 2006.

11

12 MARÇAL, W.S. Atuação pericial do médico veterinário em ações de biomonitoramento
13 ambiental. **Revista CFMV.** n. 39, p. 27 – 33, 2005.

14

15 MARÇAL, W.S.; BUTURE, I.O; CARVALHO, M.C.; FORTES, M.S.; ANDRADE e SILVA,
16 R. Níveis de chumbo e cádmio em suplementos minerais para bovinos comercializados em
17 Londrina, **Semina: Ciências Agrárias.** v. 25, n. 04, p. 359 – 364, 2004.

18

19 MARÇAL, W.S.; GASTE, L.; LOPES NASCIMENTO, M. R. Identificação e quantificação
20 de chumbo em misturas minerais comercializadas no Estado de São Paulo. **Ciência Animal**
21 **Brasileira.** v. 06, n. 04, p. 249 – 253, 2005.

22

23 MARÇAL, W.S.; GASTE, L.; NASCIMENTO, M.R.L.; OLIVEIRA, H.S. Teores de chumbo
24 em suplementos minerais comercializados no Estado de Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural.**
25 v. 33, n. 04, p. 775-778, 2003.

26

27 MARÇAL, W.S.; SOUZA, A M.; NASCIMENTO, M. .R.L.; CARVALHO, M.C. Valores de
28 chumbo inorgânico em suplementos minerais para bovinos comercializados no Estado de
29 Goiás. **Arq. Inst. Biol.** São Paulo, v. 71, n. 01, p. 31 – 34, 2004.

30

31 MARÇAL, W.S.; VILLEGAS-NAVARRO, A; NASCIMENTO, M.R.L.; GUERRA, A P;
32 FUJIHARA, C.J.; BRUSCHI, A B.M. Bovinos e equinos como bioindicadores da poluição
33 ambiental. **Rev. Bras. Ci. Vet.** v. 10, n. 01, p. 16 – 20, 2003.

34

35 OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia.** 3ª
36 ed. Atheneu Editora; São Paulo; 2008. 677p.

37

38 PAOLIELLO, MÔNICA, M.B.; CHASIN, ALICE, A,M. **Ecotoxicologia do chumbo e seus**
39 **compostos. Série Cadernos de Referência Ambiental,** v.3. Centro de Recursos Ambientais
40 – CRA, Salvador, BA, 2001. 144p.

41

42 ROCHA, J.C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. **Introdução à Química Ambiental.** Porto
43 Alegre: Bookman. 2004. 154p.

44

45 SCHIFER, T.S.; BOGUSZ Jr.; S.; MONTANO, M A E. Aspectos Toxicológicos do Chumbo.
46 **Informa.** v. 17, n. 5/6, p. 67 – 72, 2005.

47

48 SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; PALERMO-NETO, J. **Toxicologia Aplicada à Medicina**
49 **Veterinária.** São Paulo: Editora Manole. 2008. 942p.

50

INSTRUCTIONS TO CONTRIBUTORS

Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology

Aims and Scope

The Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology (JBSE), published by ECOTOX-BRAZIL, is a scientific journal committed to serve its readers as a forum for discussion of several aspects related to the advancement of ecotoxicology. The JBSE publishes original research papers in English (preferably), Portuguese or Spanish every three months, covering all fields of environmental chemistry, environmental toxicology and risk assessment.

Editorial Policy

The Journal, with at least two numbers per year, publishes manuscripts preferably in English (with an optional additional abstract in Portuguese or Spanish) Alternatively, manuscripts in Portuguese or Spanish (with a mandatory additional abstract and key words in English) may be accepted. Original manuscripts should be sent to the Editor-in-Chief or any of the Editors. Those submitted and authored by more than one author should present the agreement of the co-authors.

Papers should comply with the instructions listed below. (Otherwise they will be sent back to the authors for reformulation.) After being checked for presentation and style, they will then be evaluated by the advisors, i.e., specialists analyzing for originality, scientific quality, and relevance. Approved papers are sent to outside referees. The Editors decide for acceptance or rejection on the basis of the referees' assessment.

Submission and review of manuscripts

Submission of manuscripts

Manuscript should be submitted electronically (pdf or MS Word files) to jbsecotox@gmail.com. The authors should inform names and address (including e-mail) of at least five researchers of recognized competence who may be considered as reviewers.

Revision of manuscripts: Revised manuscripts must be submitted within two months of the authors' receipt of the referees' reports. Otherwise they will be considered as new submissions.

Proofs: The corresponding author will receive proof by e-mail. Proofs must be checked immediately and returned to the JBSE. Corrections to the proofs should be restricted to printer's errors only. Substantial alterations may be charged to the author. The JBSE will do everything possible to get your article corrected and published as quickly and accurately as possible. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication. Subsequent corrections will not be possible, so please ensure your first sending is complete.

Reprints: Electronic reprints (pdf files) will be sent to the corresponding author

Page charges: JBSE has no page charges for members of ECOTOX-BRAZIL. A publication charge of US\$ 10.00 per printed page for the first six pages, US\$ 30.00 per page thereafter, will be assessed on manuscripts published by non-members.

Preparation of manuscripts

Sections: Manuscripts should be divided into the following sections: Title page, abstract, introduction, material and methods, results, discussion, acknowledgements, references, captions to figures, tables.

Formats: All sections of the manuscript must be typed using MS Word (or compatible), letter Times New Roman 12, double-spaced on A4 paper with 2.5 cm margins. To aid reviewers, number the lines of the text (go to files, page setup, layout, lines numbering). Pages should be numbered consecutively (at bottom right-hand corner) and footnotes must be avoided. Mark the position of each figure and table in the margin. The full Latin names of all species used in this study must be supplied.

Length: Authors should keep the length of research papers below 10 journal pages (approximately 3.2 double-spaced typewritten pages equal one page of printed type) and limit the number of references (maximum of 40), figures and tables.

Title pages: The title should be sort, concise and informative. Consult a recent issue of JBSE for author format. The author's name should be followed by his/her department, institution, city, and country. Indicate the author to whom correspondence and proofs should be addressed and supply full postal address, phone and fax numbers and e-mail address.

Abstract: The second page of the manuscript must contain only the abstract and the key words. The abstract should be a single paragraph not exceeding 200 words. Non-standard abbreviations and reference citations should be avoided.

Key words: Up to eight key words, which may or may not appear in the title, should be listed in alphabetic order after the abstract.

Tables: Each table, including headings and legend (at the top), should be on a separate page. Number tables consecutively using Arabic numerals. Do not duplicate information in the text or data presented in graphic forms. Very long tables are discouraged and very short ones should be combined, when possible. Insert rules at the head, below column headings and foot of each table.

Illustrations: Photographs, charts and diagrams (limited to 6) are to be referred to as "Figures" and should be ordered consecutively. Figures should not duplicate information found in tables. Include titles and explanatory legends for all illustrations on a separate sheet placed before the figures. Label multipart figures with consecutive letters of the alphabet. Line drawings should be intensely black on white. Halftones do not reproduce well and must be submitted as photographs with good contrast and sharp focus throughout. Authors must assume the costs of printing color photographs or prints on glossy stock. Avoid small dotted lines, shading, and stippling, which do not reproduce well. Be certain that symbols and lettering will be legible after reduction.

References: All publications cited in the text should be presented in alphabetic order in a list following the manuscript. In the text refer to the author's name and year of publication (i.e. Reis (1998) or (Reis, 1998)). For two authors, use the ampersand (&); for more than two authors the name of the first author should be followed by "et al.". References cited together in the text should be arranged chronologically. The List of references (on a separate sheet) should be arranged alphabetically on authors' names, and chronologically per author. Names of all authors must be included. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 2000a, 2000b, etc. Unpublished work will not be listed in this section unless it is "in press". Abbreviations should follow the "World List of Scientific Periodicals" published by Butterworths, London.

References must follow the relevant examples below.

AXELSSON, M. & FARRELL, A.P., 1993, Coronary blood flow in vivo in the coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Am. J. Physiol.*, 264: 963-971.

MROSOVSKY, N. & YNTEMA, C. L., 1981, Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: implications for conservation. In: K. A. Bjorndal (ed.), *Biology and conservation of sea turtles*. Smithsonian, Inst. Press in Coop. World, Wildlife Fund. Inc., Washington, D.C.

REIS, J., 1998, Microbiologia, pp. 3-31. In: M. G. Ferri & Shozo Motoyama (orgs.), *História das Ciências no Brasil*, 2o vol., 468p., EDUSP e EPU, São Paulo.

RIZZINI, C. T., 1979, *Tratado de Fitogeografia do Brasil*. Aspectos sociológicos e florísticos. HUCITEC, São Paulo, 2o vol., 374p.

Short communications:

(a) The average length of a short communication should not exceed 4 pages in print (approx. 2000-2100 words, including abstract, captions and references). A maximum of 2 illustrations (figures or tables) is allowed. It should be arranged as follows. First page: title (not exceeding 85 characters including spaces between words); surname(s) of author(s), preceded by one name spelled out in full; name and address of the establishment where the work was done; name, full postal address, telephone and fax numbers of author to whom proofs and other correspondence should be sent. Next page (2): abstract and keywords (indexing terms: normally 3-6 items); Pages 3 to end: 1. Introduction; 2. Materials and methods; 3. Results; 4. Discussion; Acknowledgements; References; figure legends and figures; tables.

(b) Abstract and keywords: and abstract (English and Portuguese or Spanish) not exceeding 75 words and stating what was done, what was found, and what was concluded should be typed on a separate sheet. Below the abstract, type 3-6 keywords. These terms will be printed at the end of the abstract.

(c) Standard nomenclature should be used throughout. Avoid unnecessary abbreviations and symbols (see extensive 'Instructions to authors' (Vol. 1, No. 1, p. vii). Words at the end of a line should not be divided. Use of hyphens, capital letters. numbers written or spelled out (e.g. 8 or eight) should be consistent throughout the manuscript.

(d) Legends of illustrations and footnotes should be typed on separate sheets, lines double spaced. Footnotes, to be numbered consecutively in superscript throughout the text, should be used as little as possible.