

ALEXANDRE TADEU MOTA MACEDO

**ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA PRESENÇA DE METAIS NO SORO
SANGUÍNEO E LEITE CRU DE VACAS LEITEIRAS DO ESTADO DE
PERNAMBUCO, BRASIL**

RECIFE – PE

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ALEXANDRE TADEU MOTA MACEDO

**ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA PRESENÇA DE METAIS NO SORO
SANGUÍNEO E LEITE CRU DE VACAS LEITEIRAS DO ESTADO DE
PERNAMBUCO, BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Pierre Castro Soares

Co-orientador: Dr. José Augusto Bastos Afonso

RECIFE-PE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

M141a Macedo, Alexandre Tadeu Mota.
Análise epidemiológica da presença de metais no soro sanguíneo e leite cru de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil / Alexandre Tadeu Mota Macedo. – Recife, 2019.
130 f.: il.

Orientador(a): Pierre Castro Soares.
Coorientador(a): José Augusto Bastos Afonso.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária,
Recife, BR-PE, 2019.
Inclui referências, apêndice(s) e anexo(s).

1. Bovinos 2. Epidemiologia 3. Metais pesados
5. Diagnóstico I. Soares, Pierre Castro, orient. II. Afonso, José Augusto Bastos, coorient. III. Título

636.089

CDD

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA PRESENÇA DE METAIS NO SORO
SANGUÍNEO E LEITE CRU DE VACAS LEITEIRAS DO ESTADO DE
PERNAMBUCO, BRASIL

Tese de Doutorado elaborada por:

ALEXANDRE TADEU MOTA MACEDO

Aprovada em: 22/02/2019

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pierre Castro Soares

Orientador - Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof^a Dr^a Ana Paula Silveira Paim

Departamento de Química da UFPE

Prof^a Dr^a Andrea Alice da Fonseca Oliveira

Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. José Augusto Bastos Afonso

Clínica de Bovinos de Garanhuns da UFRPE

Prof. Dr. Júnior Mário Baltazar de Oliveira

Centro Universitário UNIFAVIP/WYDEN

DEDICATÓRIA

Ao meu avô João Francisco de Macedo (Seu Joãozinho, João de Pedro) (*in memoriam*) pelo seu exemplo de vida. Um homem bom, amável e querido por todos, artista autodidata, sempre alegre, bem humorado, grande contador de histórias, calmo, paciente, de voz suave, honesto, íntegro, digno, sábio, que nos deixou vários aprendizados, dentre eles, o de levar a vida com leveza e aproveitar cada segundo, deixando de lado a mágoa, as dores, os apereios e estresses da vida. Uma pessoa que faz parte da cultura do Nordeste, do sertanejo forte, e que nos ensinou a amá-la e se orgulhar dela. Obrigado pela honra de ser seu neto, pelos bons e inesquecíveis momentos, principalmente da infância, que passamos ao seu lado e da minha avó Maria Celeste Calado Macedo, na Fazenda Pedroza em Maniçoba, Sanharó-PE, ouvindo-o tocar, cantar e celebrar a vida com alegria.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela proteção, saúde, força, coragem, determinação, sabedoria, paciência e por tudo mais que me concedeu, para que eu pudesse realizar este trabalho. Pelas conquistas que obtive durante o período do doutorado, como a aprovação no concurso para professor substituto na Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG/UFRPE), no concurso para professor assistente na Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF) e pelo meu casamento com Priscilla Bartolomeu de Araújo. Agradeço por tudo de bom que tem acontecido comigo e para com meus entes queridos e amigos!

A minha mãe Maria de Fátima Mota Macedo e ao meu pai Judas Tadeu Calado Macedo pelos seus exemplos de vida, amor, carinho, dedicação, trabalho, sacrifícios e por absolutamente tudo que fizeram e fazem por mim durante toda a minha existência. Muito obrigado por serem esse alicerce, essa base forte que sustentam a minha vida, eu amo vocês! Ao meu irmão Álisson Vinícius Mota Macedo e a minha irmã Amanda Mota Macedo, aos meus avós Deoclécio Valença Mota (*in memorian*), Adalgisa Cordeiro Mota (*in memorian*), João Francisco de Macedo (*in memorian*) e Maria Celeste Calado Macedo, e a toda a minha família. Muito obrigado por tudo!

A minha esposa, noiva, namorada, amiga, companheira, parceira, Priscilla Bartolomeu de Araújo. Agradeço do fundo do meu coração, pelo amor, carinho, companheirismo, dedicação, pelo cuidado e por toda a ajuda que tem me dado não só para que eu pudesse realizar o doutorado, mas em todas os momentos, em todas as situações de nossas vidas. Por todos os conselhos, pelas palavras de conforto e sabedoria, pela paciência, enfim obrigado por tudo, por fazer parte da minha vida. Eu te amo, sua linda!

Ao meu filho/enteado Pedro Augusto Bartolomeu Valença por ser essa criança alegre, ativa, inteligente, que é capaz de transformar todos os momentos e situações em algo feliz, leve e inocente. Obrigado pelo amor, carinho, por toda a ajuda que tem me dado e o aprendizado que tenho tido contigo e através de ti. Agradeço também ao meu sogro Manoel Araújo e a minha sogra Francinete Bartolomeu, a minha cunhada Patrícia Araújo e a Marcene da Laia, por toda a ajuda que me deram não só neste período de realização do doutorado, mas também em todos os momentos em que precisei de vocês, muito obrigado!

Ao meu orientador, o Prof. Dr. Pierre Castro Soares por todo o apoio e a oportunidade de realizar este trabalho de extrema importância para a medicina veterinária, sobretudo para a saúde pública. Agradeço também ao meu co-orientador, o Dr. José Augusto Bastos Afonso, por toda ajuda prestada não só durante a realização do doutorado, mas em

todos os momentos desde o estágio, residência e principalmente no mestrado, realizados na Clínica de Bovinos de Garanhuns (CBG/UFRPE).

A Dr^a. Carla Lopes de Mendonça e ao Dr. José Augusto Bastos Afonso pela ajuda prestada no momento da busca por propriedades para a realização das coletas das amostras e pela permissão que nos concederam para realizarmos o processamento e o armazenamento das amostras na CBG/UFRPE. Agradeço também ao coordenador da Clínica de Bovinos, o Dr. Nivaldo de Azevêdo Costa, ao meu grande amigo Dr. Rodolfo José Cavalcanti Souto e a Luiz Teles Coutinho, colegas durante o período da pós-graduação. Gostaria de agradecer ainda aos demais médicos veterinários e a todos os funcionários que fazem parte da instituição.

Aos meus amigos e colegas da equipe, Rodolpho Rebouças e Uila Alcantara, pela força, amizade, companheirismo, conselhos, momentos de descontração e por toda a ajuda prestada durante as visitas às propriedades rurais, coleta, processamento, armazenamento e transporte das amostras. Eu os agradeço de coração meus amigos, sem a colaboração de vocês a realização deste trabalho de pesquisa não seria possível, muito obrigado!

Ao meu grande amigo Júnior Mário Baltazar de Oliveira, primeiramente pela amizade e por toda a ajuda prestada na realização da análise estatística deste trabalho. Muito obrigado meu amigo, não só pela ajuda durante o doutorado, mas também pelas orientações, conselhos e por sempre atender prontamente às minhas solicitações. Agradeço de coração!

Ao senhor Arnaldo Chalegre, ao meu sogro Manoel Araújo e Cleide Rodrigues, ao meu pai Judas Tadeu, ao meu irmão Álisson Mota, aos médicos veterinários José Simonal, José Lopes Júnior e Adalberto Leite, ao meu amigo Dr. Rodolfo Souto, a Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária do Estado de Pernambuco (ADAGRO) e ao Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA) por terem nos ajudado a fazer o contato com os proprietários e/ou nos conduzir até as propriedades rurais. Muito obrigado, sem a ajuda de todos a realização deste trabalho não seria possível.

Aos proprietários José Valentim, João Macedo, Severino Soares, Adelson Cintra, Edenildo Valença, José Cintra, Laércio Silva, José Ildo, Eriberto Queirós, Otávio Bezerra, Nilson dos Santos, Nivaldo Leal, Marcílio da Silva, Antônio José Júnior, José Nadir, Gildo Bezerra, Ivo Xavier, Irineu de Paula, Everaldo da Silva, Edenildo Gomes, José de Almeida, Ediel Gomes, Antônio Teixeira, Antônio de Andrade Júnior, Iramar de Oliveira, Paulo Nascimento, Severino da Silva Filho e Lenildo Teixeira por terem aberto as portas de suas propriedades e nos permitido realizar as coletas de sangue e de leite de seus animais. A ajuda

de todos vocês foi de extrema importância, essencial para a realização do doutorado, portanto sem a contribuição dos senhores nada disso seria possível, muito obrigado a todos!

A toda equipe do Laboratório de Doenças Metabólicas e Nutricionais do Centro de Estudos Avançados em Caprinos e Ovinos do Departamento de Medicina Veterinária (LDMN/DMV) da UFRPE, Emanuel Felipe, Felipe Rosendo, Rebeqa Menezes, Bruna Higino, Ayna Arramis e Cristina Fonseca, pela ajuda durante a coleta e digestão das amostras e na quantificação dos metais, além dos funcionários Maria Joaquina e Severino Marinho. Ao químico Iago Silva pela disponibilidade, boa vontade e a grande ajuda que me deu durante as análises das amostras e na interpretação dos resultados. Agradeço também ao Prof. Dr. Paulo Ricardo da Silva pelo treinamento para a realização do preparo de amostras por radiação micro-ondas no equipamento Multiwave 3000 Anton Paar, além da disponibilidade e ajuda no momento das análises.

A Prof^a. Dr^a. Ana Paula Silveira Paim, do Departamento de Química Fundamental (DQF) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e a Natália Sant'ana, técnica da Central Analítica (DQF/UFPE). Agradeço pela oportunidade de realizar as análises no ICP OES e pela disponibilidade e todo o apoio que me foi dado durante esse período, muito obrigado!!!

Aos meus amigos Alexandre Dantas, Janaina Guimarães e Bruno Pajeú, pela grande amizade, apoio e por toda a ajuda durante esse período do doutorado. Ao Prof. Dr. André Mariano, Prof. Dr. Cláudio Coutinho, Prof. Dr. Marcos Oliveira e aos funcionários Dra. Joana D'arc e Alcir Loureiro pela ajuda e por terem disponibilizado um freezer da área de Reprodução Animal para que pudéssemos armazenar as amostras de leite cru no DMV/UFRPE e posteriormente realizássemos as análises laboratoriais. Muito obrigado pelo apoio fundamental nessa reta final do doutorado.

Ao Prof. Dr. João Alves, então coordenador do Colegiado de Medicina Veterinária (CMVET) do Campus Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco (CCA/UNIVASF), pela compreensão em todos os momentos em que precisei me ausentar da universidade para desenvolver atividades referentes ao doutorado. Agradeço a todo o CMVET por terem autorizado o meu afastamento de seis meses para a finalização deste trabalho, assim como a CPPD e ao vice-reitor da UNIVASF, o Prof. Dr. Telio Nobre. Aos colegas e amigos da UNIVASF, Alexandre Antonelli, Alexandre Redson, Ana Amélia, Mabel Freitas, Daniel Meneses, Cássia Regina e aos meus alunos do curso de medicina veterinária. Aos meus amigos Daniela Pereira e Adalberto Campinho, pelo apoio, por terem me acolhido em sua casa e por toda a ajuda que me deram.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado. Ao Prof. Dr. Fábio Mendonça, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV) do DMV da UFRPE e aos funcionários Jaciara Cavalcanti e Lucas Pereira.

“Confiai-lhe todas as vossas preocupações, porque Ele tem cuidado de vós.”

(1 Pedro 5, 7)

RESUMO

Análise epidemiológica da presença de metais no soro sanguíneo e leite cru de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil

A presença de metais no soro sanguíneo e leite cru de bovinos é fundamental, uma vez que alguns deles são necessários em pequenas quantidades ao metabolismo celular normal, logo a sua ingestão é essencial para os mecanismos homeostáticos do organismo dos animais. Entretanto, outros metais não têm funções biologicamente relevantes, pelo contrário, representam um perigo para a saúde animal e humana. Em razão da importância econômica e social da bovinocultura, particularmente voltada para a produção de leite, na região Agreste do Estado de Pernambuco, bem como dos riscos da intoxicação dos animais e contaminação de seus subprodutos por estes elementos químicos, objetivou-se realizar uma análise epidemiológica da presença de Cu, Fe, Cd, Cr e Pb no soro sanguíneo e leite cru de vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco. Foram utilizadas 392 amostras biológicas, provenientes de 26 propriedades, distribuídas em 12 municípios do Agreste Central e Meridional de Pernambuco para a análise da presença de metais e estudo dos fatores de risco no soro sanguíneo e leite cru de vacas leiteiras. As amostras foram coletadas de vacas mestiças, de idades variadas e em diferentes momentos da lactação, que consumiam a água, pastavam às margens ou que se alimentavam de forragem submetida à irrigação pelas águas de cinco importantes rios desta região. Um questionário epidemiológico foi aplicado em cada fazenda a fim de identificar os possíveis fatores de risco associados à presença dos elementos nas amostras biológicas. O soro sanguíneo e leite cru foram submetidos à digestão por radiação micro-ondas e, posteriormente, os metais determinados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), empregando a curva analítica de 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 8,0 e 10 mg/l. Os fatores de risco relacionados à presença de metais nas amostras de soro sanguíneo vinculavam-se principalmente ao manejo nutricional; região; sistema de criação dos rebanhos; poluição das fontes hídricas; utilização de produtos químicos nas propriedades rurais e proximidade das fazendas em relação a aterros sanitários e/ou lixões, áreas industriais, rodovias e maquinário agrícola. Já os fatores associados ao leite cru estavam relacionados ao manejo nutricional, região, sistema de criação, não realização da análise da água fornecida aos bovinos e proximidade das fazendas de rodovias. O conhecimento destes fatores de risco fornece subsídios para a adoção de práticas que visem o controle de possíveis deficiências e/ou intoxicações em vacas leiteiras, aumentando a produtividade e a rentabilidade dos rebanhos, bem como o controle sanitário do leite, reduzindo, portanto, os perigos de sua ingestão para a saúde pública.

Palavras-chave: bovinos, diagnóstico, epidemiologia, metais pesados, profilaxia.

ABSTRACT

Epidemiological analysis of the presence of metals in blood serum and raw milk from dairy cows of Pernambuco State, Brazil

The presence of metals in blood serum and raw milk from cattle is fundamental, since some of them are necessary in small quantities to the normal cellular metabolism, therefore their ingestion is essential for the homeostatic mechanisms of the animal organism. However, other metals do not have biologically relevant functions, on the contrary, they represent a danger to animal and human health. Due to the economic and social importance of bovine farming, particularly focused on milk production, in the Agreste region of the State of Pernambuco, as well as the risks of animal intoxication and contamination of its by products by these chemical elements, the objective this work was to perform an analysis epidemiological of presence of Cu, Fe, Cd, Cr and Pb in blood serum and raw milk from dairy cows in the Agreste of Pernambuco. We used 392 biological samples, from 26 farms, distributed in 12 cities of Agreste Central and Meridional of Pernambuco to analyze the presence of metals and study the risk factors in blood serum and raw milk from dairy cows. The samples were collected from crossbred cows of varied ages and at different times of lactation, consuming water, grazing on the banks or feeding on forage irrigated by the waters of five important rivers in this region. An epidemiological questionnaire was applied to each farm in order to identify the possible risk factors associated with the presence of the elements in the biological samples. Blood serum and raw milk were subjected to digestion by microwave radiation and, subsequently, the metals determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES), using the analytical curve of 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 8.0 and 10 mg/l. The risk factors related to the presence of metals in blood serum samples were mainly related to nutritional management; region; herd creation system; pollution of water sources; use of chemicals on farms and proximity to farms in relation to sanitary landfills and/or dumps, industrial areas, highways and agricultural machinery. The factors associated with raw milk were related to nutritional management, region, creation system, non-analysis of water supplied to cattle and proximity to highland farms. Knowledge of these risk factors provides support for the adoption of practices aimed at controlling possible deficiencies and/or intoxications in dairy cows, increasing productivity and profitability of herds, as well as milk sanitary control, thus reducing hazards from their intake to public health.

Key-words: bovine, diagnosis, epidemiology, heavy metals, prophylaxis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações de Cu e Fe no soro sanguíneo de bovinos em condições de deficiência clínica, deficiência marginal, normalidade, toxicidade marginal e tóxicas.....	33
Tabela 2. Concentrações normais, elevadas e tóxicas de Pb e Cd no soro sanguíneo, e de Cr em tecidos de bovinos.....	33
Tabela 3. Relação dos autores, metais e amostras de sangue de bovinos, água, solo e de alimentos analisados, além dos fatores de risco em pesquisas realizadas no Brasil e em outros países.....	43
Tabela 4. Relação dos autores, metais e amostras de leite de bovinos, água e de alimentos analisados, além dos fatores de risco em pesquisas realizadas no Brasil e em outros países.....	47
Artigo 1	
Tabela 1. Parâmetros utilizados na análise pelo ICP OES.....	67
Tabela 2. Análise dos fatores de risco associados à detecção de Cu no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.....	69
Tabela 3. Análise dos fatores de risco associados à detecção de Fe no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.....	70
Artigo 2	
Tabela 1. Distribuição dos municípios, número de animais e de propriedades do Agreste de Pernambuco onde as amostras de sangue dos bovinos foram coletadas.....	87
Tabela 2. Parâmetros utilizados na análise pelo ICP OES.....	88

Tabela 3. Concentrações (média e desvio padrão) de Cd e Cr no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.....	90
Tabela 4. Análise dos fatores de risco associados à detecção de Cd no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.....	91
Tabela 5. Análise dos fatores de risco associados à detecção de Cr no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.....	92
 Artigo 3	
Tabela 1. Municípios, número de animais e propriedades do Agreste de Pernambuco onde as amostras de leite cru dos bovinos foram coletadas.....	108
Tabela 2. Parâmetros utilizados na análise pelo ICP OES.....	109
Tabela 3. Concentrações (média e desvio padrão) de Pb e Cd no leite cru de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.....	111
Tabela 4. Análise dos fatores de risco associados à detecção de Pb no leite cru de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.....	112
Tabela 5. Análise dos fatores de risco associados à detecção de Cd no leite cru de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.....	113

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapa do Estado de Pernambuco: as microrregiões 09 e 10 englobam os municípios onde foi realizado o estudo epidemiológico..... 25
- Figura 2.** Mapa do Agreste Central do Estado de Pernambuco: os municípios marcados em amarelo fizeram parte do estudo epidemiológico..... 26
- Figura 3.** Mapa do Agreste Meridional do Estado de Pernambuco: os municípios marcados em amarelo fizeram parte do estudo epidemiológico..... 26
- Figura 4.** Mapa Hidrográfico do Estado de Pernambuco: as bacias dos rios Ipojuca, Ipanema, Mundaú, Capibaribe e Una englobam o local de realização do estudo..... 30

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Chama
ADAGRO – Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária do Estado de Pernambuco
Al – Alumínio
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Ar – Argônio
bar – unidade de pressão
°C – graus Celsius
Ca – Cálcio
CBG – Clínica de Bovinos de Garanhuns
Cd – Cádmiio
CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais
Co – Cobalto
CPRH – Agência Estadual de Meio Ambiente
Cr – Cromo
Cr⁺³ – Cromo (III) ou Crômico
Cr⁺⁶ – Cromo (IV) ou Cromato
Cu – Cobre
Cu-TMs – Cupro-tiomolibdatos
DMV – Departamento de Medicina Veterinária
DQF – Departamento de Química Fundamental
Fe – Ferro
G – unidade de aceleração
g/cm³ – grama por centímetro cúbico
HClO₄ – Ácido Clorídrico
Hg – Mercúrio
Hg²⁺ - Mercúrio (II) ou Mercúrico
HgCH₃ – Metilmercúrio
Hg(CH₃)₂ – Dimetilmercúrio
HNO₃ – Ácido Nítrico
H₂SO₄ – Ácido Sulfúrico
I – Iodo
I.C. – Intervalo de Confiança

ICP – Plasma Indutivamente Acoplado

ICP OES – Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado

IPA – Instituto Agrônomo de Pernambuco

K – Potássio

K – unidade básica da temperatura termodinâmica

Km² – quilômetros quadrados

LDMN – Laboratório de Doenças Metabólicas e Nutricionais do Centro de Estudos Avançados em Caprinos e Ovinos

Li – Lítio

Mg – Magnésio

ml – mililitro

mg/l – miligrama por litro

mg/kg – miligrama por quilograma

Mn – Manganês

Mo – Molibdênio

µg/l – micrograma por litro

µmol/l – micromol por litro

µmol/kg – micromol por quilograma

N – número total de amostras

n – tamanho da amostra

Na – Sódio

Ni – Níquel

OR – *Odds Ratio* (Razão de Chance)

p – nível de significância

P – Fósforo

Pb – Chumbo

PEEK – poliéter-éter-cetona

PFA – perfluoralcóxi

pH – potencial hidrogeniônico

PIB – Produto Interno Bruto

PTFE – politetrafluoretileno

Rb – Rubídio

S – Enxofre

Se – Selênio

-SH – Radical Sulfidril

TFM® - PTFE quimicamente modificado

TMs - Tiomolibdatos

TXRF – Fluorescência de Raios X por Reflexão Total

u – unidade de massa atômica

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

UFRPE – Universidade Federal Rural de Pernambuco

V – Vanádio

Zn – Zinco

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO.....	21
2. OBJETIVOS.....	24
2.1. Objetivo geral.....	24
2.2. Objetivos específicos.....	24
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	25
3.1. Caracterização do espaço amostral.....	25
3.2. Metais.....	31
3.2.1. Cobre (Cu).....	34
3.2.2. Ferro (Fe).....	35
3.2.3. Chumbo (Pb).....	36
3.2.4. Cádmio (Cd).....	37
3.2.5. Cromo (Cr).....	37
3.3. Fatores de risco relacionados à presença de metais no sangue de bovinos.....	38
3.4. Fatores de risco relacionados à presença de metais no leite de bovinos.....	44
3.5. Digestão de amostras biológicas assistida por radiação micro-ondas.....	48
3.6. Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.....	49
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50
5. REFERÊNCIAS.....	51
6. ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	62
6.1. Artigo 1 – Análise epidemiológica da presença de cobre e ferro no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.....	62
Resumo.....	62
Abstract.....	62
Introdução.....	63
Material e Métodos.....	65
Resultados.....	68
Discussão.....	70

Conclusão.....	77
Referências.....	78
6.2. Artigo 2 – Análise epidemiológica da presença de cádmio e cromo no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.....	84
Resumo.....	84
Abstract.....	84
Introdução.....	85
Material e Métodos.....	86
Resultados.....	89
Discussão.....	92
Conclusão.....	98
Referências.....	99
6.3. Artigo 3 – Fatores de risco associados à presença de chumbo e cádmio no leite cru de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.....	105
Resumo.....	105
Abstract.....	105
Introdução.....	106
Material e Métodos.....	107
Resultados.....	110
Discussão.....	113
Conclusão.....	120
Referências.....	121
7. ANEXOS.....	126
7.1. Anexo 1 – Questionário epidemiológico.....	126
7.2. Anexo 2 – Termo de autorização.....	129
7.3. Anexo 3 – Licença da CEUA da UFRPE.....	130

1. INTRODUÇÃO

O agronegócio é a principal atividade econômica brasileira, responsável por 33% do Produto Interno Bruto (PIB), 42% das exportações e 37% dos empregos gerados no país, sendo a pecuária uma das mais importantes bases para muitas cadeias produtivas (VILELA et al., 2016; IBGE, 2019). O Brasil possui um dos maiores rebanhos bovinos do mundo, chegando a ter o maior efetivo no ano de 2015, com cerca de 209 milhões de cabeças, sendo o segundo maior consumidor e exportador de carne bovina (GOMES; FEIJÓ; CHIARI, 2017). Já a produção de leite no país superou 33 bilhões de litros, de acordo com a Pesquisa da Pecuária Nacional referente ao ano de 2017, destes, cerca de mais de dois bilhões de litros foram produzidos na região Nordeste. Pernambuco, por sua vez, superou uma produção de 795 milhões de litros de leite, o que representa em termos financeiros mais de R\$ 1 bilhão para a economia do Estado (IBGE, 2017).

Além da grande importância econômica da pecuária leiteira, vale ressaltar ainda o valor social da atividade, através da geração de emprego e renda, em virtude da produção primária, do processamento em laticínios, comercialização de insumos veterinários, agrônômicos e da prestação de serviços. Nos municípios menos dinâmicos e com restritas alternativas econômicas, por exemplo, o PIB municipal tem no leite uma importante atividade (VILELA et al., 2016). A produção de leite é uma das atividades mais importantes do Agreste, sendo esta região responsável pela maior produção do alimento em Pernambuco. Os municípios de Sanharó, Pesqueira, Venturosa, Alagoinha, Garanhuns, Poção, Belo Jardim, Tacaimbó, São Bento do Una, Cachoeirinha, Caruaru e Pedra possuem juntos uma população de aproximadamente 96.840 vacas em lactação, com uma produção de mais de 226 milhões de litros de leite, movimentado mais de R\$ 280 milhões para a economia estadual (BDE, 2017).

Para o êxito na criação de bovinos é fundamental a adoção de medidas nas propriedades, sobretudo relacionadas ao manejo nutricional, sanitário e reprodutivo dos animais, a fim de que sejam controladas situações que causem prejuízos econômicos sérios, em virtude da redução da produtividade dos animais ou que constituam obstáculos a melhoria dos rebanhos. Os metais essenciais, ou seja, necessários em pequenas quantidades ao metabolismo celular normal, são importantes nesse sentido, uma vez que exercem várias funções, participando como componentes estruturais de tecidos, atuando como eletrólitos na manutenção do equilíbrio ácido-básico, pressão osmótica e permeabilidade das membranas

celulares, assim como na ativação de processos enzimáticos ou integrantes na estrutura de metaloenzimas ou vitaminas. Logo, tanto a deficiência como o excesso destes elementos são prejudiciais à saúde dos bovinos e, conseqüentemente, para que exerçam todo o seu potencial de produção (TOKARNIA et al., 2010).

Por outro lado, a presença de metais no organismo dos bovinos que não exercem funções biologicamente relevantes, ou seja, que são tóxicos, representam um grande perigo para a saúde animal e humana, através do consumo de produtos de origem animal, como a carne e o leite (VALLS; LORENZO, 2002). O leite bovino é um alimento muito importante e benéfico na dieta humana, sobretudo para crianças (QIN et al., 2009; GARBA; ABDULLAHI; ABDULLAHI, 2018). A contaminação deste alimento por metais tóxicos é um motivo de grande preocupação sanitária em função do seu elevado consumo pela população e enorme extensão do país, que acaba se tornando um fator limitante para uma fiscalização adequada (GOMES et al., 2013).

Os metais podem ser encontrados no solo; água; alimentos, como forragens, silagem, feno, cereais e grãos; além de fertilizantes; esgoto doméstico; despejos de diferentes tipos de indústrias, como mineradoras, galvanoplastia, curtumes e manufaturas de produtos eletrônicos (SUTTLE, 2010; LIMA; MERÇON, 2011). A presença de metais nas águas de rios pode afetar os seres vivos que habitam o local através de seu efeito tóxico ao organismo ou pela bioacumulação, tendo a sua ação potencializada ao longo da cadeia alimentar. A biomagnificação ou amplificação biológica consiste no aumento progressivo da concentração do metal à medida que se avança na cadeia alimentar (BRAGA, 2002).

Há trabalhos no Brasil e em outros países que descrevem a ocorrência de metais no sangue de bovinos levando em consideração à influência de alguns fatores, como o sexo e a idade dos animais (LÓPEZ-ALONSO et al., 2000), as estações do ano (SOUZA et al., 2009; NWUDE; OKOYE; BABAYEMI, 2010), sistemas de criação (TOMZA-MARCINIAK et al., 2011; ORJALES et al., 2018), contaminação ambiental (OGABIELA et al., 2011), distância em relação à rodovias (ARSLAN et al., 2011; EKICI et al., 2015) e rios contaminados por efluentes industriais (CHAND et al., 2017). Com relação ao leite cru também existem pesquisas desta natureza, em que os autores associam a presença de metais nas amostras biológicas às diferenças raciais entre bovinos (PILARCZK et al., 2013), ao consumo, por parte das vacas leiteiras, de alimentos contaminados por metais (GOMES et al., 2013) e, principalmente, à criação de animais em áreas próximas de indústrias (SWARUP et al., 2005; LEONIDIS et al., 2010; NOROUZIRAD et al., 2018).

No Agreste Meridional de Pernambuco, Marcolino (2014) analisou 147 amostras de leite cru, provenientes de 14 propriedades, dos municípios de Bom Conselho, Garanhuns, Jucati, Jupi e São João, com o objetivo de determinar a presença de metais nas amostras biológicas. Através dos resultados obtidos, os elementos Pb, Cd, Cu, Fe e Zn foram identificados no leite, além disso, a presença de efluentes e a proximidade das propriedades de rodovias influenciaram em suas concentrações.

Apesar de trabalhos descreverem a ocorrência de metais em amostras biológicas de bovinos, estudos de fatores de risco associados à presença destes elementos no soro sanguíneo e leite cru nesta espécie são escassos, sobretudo na região Agreste do Estado de Pernambuco. Devido à importância e o impacto dos metais para a bovinocultura leiteira, os riscos de uma possível contaminação do leite por metais tóxicos para a saúde pública e a carência de dados epidemiológicos sobre este tipo de estudo, objetivou-se analisar os fatores de risco associados ao Cu, Fe, Cd, Cr e Pb no soro sanguíneo e leite cru de vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

- Analisar os aspectos epidemiológicos relacionados à presença de metais no soro sanguíneo e leite cru de vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco.

2.2. Específicos

- Determinar as concentrações de Cu, Fe, Cd, Cr e Pb em amostras de soro sanguíneo e leite cru de vacas leiteiras criadas em áreas beneficiadas pelas águas dos rios Ipojuca, Ipanema, Mundaú, Capibaribe e Una em municípios do Agreste Central e Meridional de Pernambuco.
- Realizar um estudo dos fatores de risco associados à presença dos metais em ambas amostras biológicas, levando em consideração aspectos do manejo nutricional, região, sistemas de criação, algumas práticas adotadas nas fazendas, localização das propriedades rurais, além do acesso dos animais a áreas industriais e maquinário agrícola.

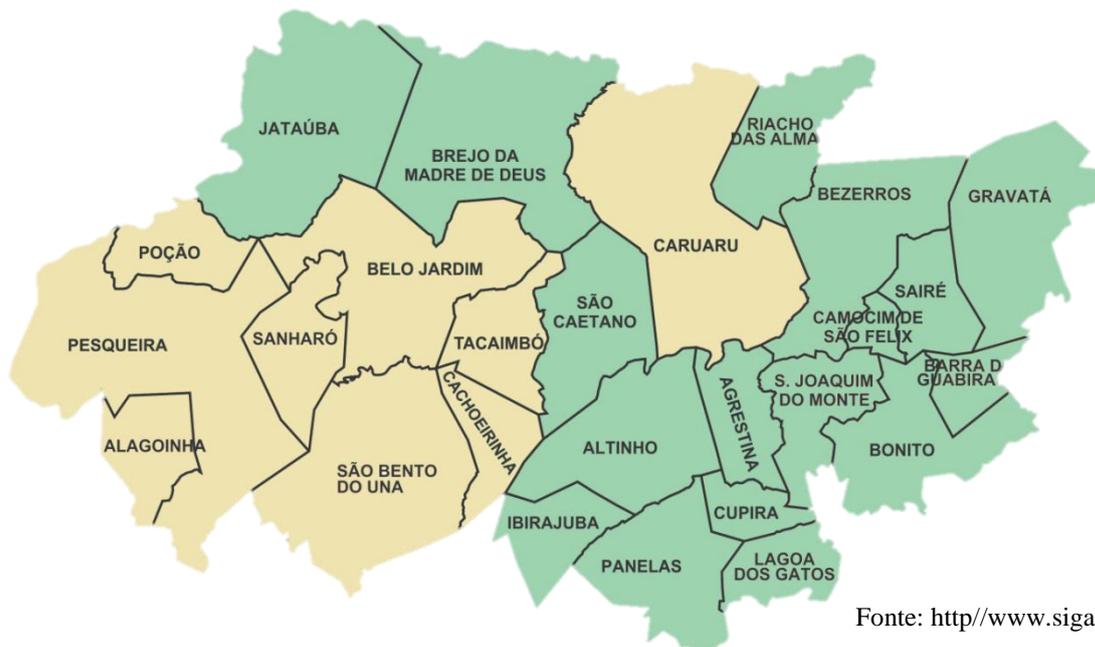
3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Caracterização do espaço amostral

O Estado de Pernambuco é dividido em quatro mesorregiões, sendo elas: Região Metropolitana, Zona da Mata, Agreste e Sertão, que por sua vez, apresentam subdivisões. O Agreste é subdividido em Central, Meridional e Setentrional (Figura 1). Os municípios de Sanharó, Pesqueira, Alagoinha, Poção, Belo Jardim, Tacaimbó, São Bento do Una, Cachoeirinha e Carurau, pertencem ao Agreste Central (Figura 2), enquanto que Venturosa, Garanhuns e Pedra, ao Agreste Meridional (Figura 3) (BDE, 2000).

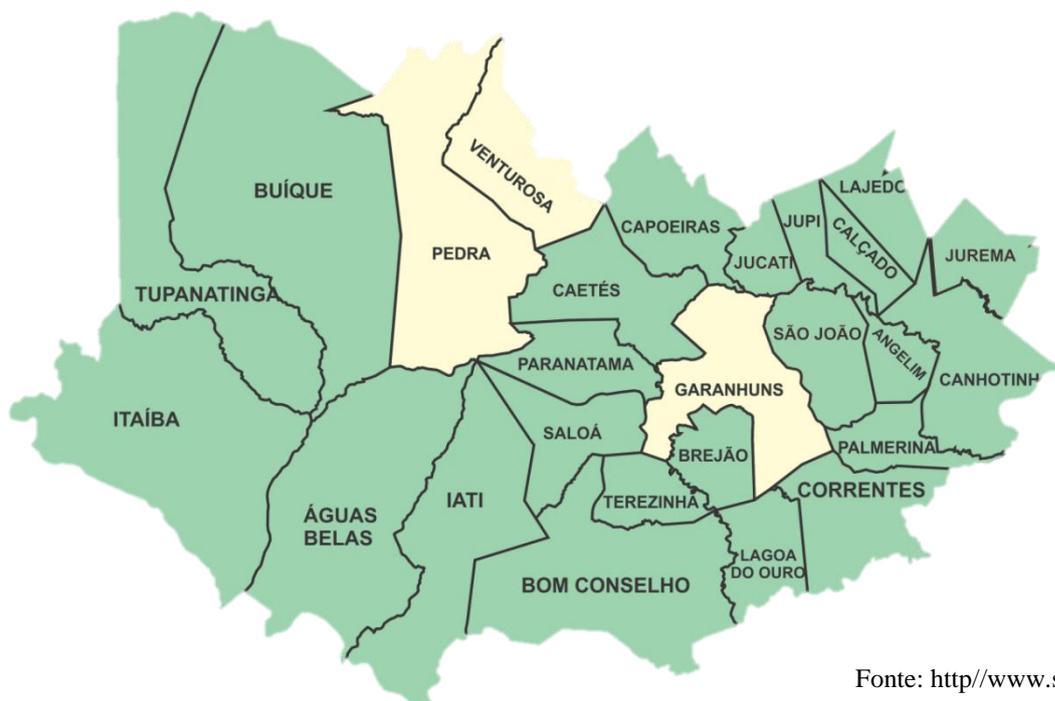


Figura 1. Mapa do Estado de Pernambuco: as microrregiões 09 e 10 englobam os municípios onde foi realizado o estudo epidemiológico.



Fonte: <http://www.sigas.pe.gov.br>

Figura 2. Mapa do Agreste Central do Estado de Pernambuco: os municípios marcados em amarelo fizeram parte do estudo epidemiológico.



Fonte: <http://www.sigas.pe.gov.br>

Figura 3. Mapa do Agreste Meridional do Estado de Pernambuco: os municípios marcados em amarelo fizeram parte do estudo epidemiológico.

Os 12 municípios supracitados são beneficiados pelas águas de cinco rios importantes, são eles: Ipojuca, Ipanema, Mundaú, Capibaribe e Una. A bacia do rio Ipojuca está totalmente inserida no Estado de Pernambuco, limitando-se ao norte com a bacia do rio Capibaribe e o Estado da Paraíba; ao sul, com as bacias dos rios Una e Sirinhaém; a leste, com os grupos de bacias de pequenos rios litorâneos e o Oceano Atlântico; e, a oeste, com as bacias dos rios Ipanema e Moxotó e a Paraíba. O percurso do rio Ipojuca, com cerca de 320 km, é predominantemente orientado na direção oeste-leste, o seu regime fluvial é intermitente, e torna-se perene a partir do seu médio curso, próximo ao município de Caruaru. Esta bacia abrange uma área de 3.435,34 km², correspondendo a 3,49% da área do Estado, nela estão inseridos 25 municípios. As cidades de Arcoverde, Belo Jardim, Bezerros, Caruaru, Chã Grande, Escada, Gravatá, Ipojuca, Pombos, Poção, Primavera, Sanharó, São Caetano e Tacaimbó possuem suas sedes inseridas na bacia, já Agrestina, Alagoinha, Altinho, Amaraji, Cachoeirinha, Pesqueira, Riacho das Almas, Sairé, São Bento do Una, Venturosa e Vitória de Santo Antão estão apenas parcialmente inseridas. Além disso, o rio Ipojuca corta diversas sedes municipais destacando-se Bezerros, Caruaru, Escada, Chã Grande, Gravatá, Ipojuca, Primavera, São Caetano e Tacaimbó (APAC, 2019).

O estuário da bacia hidrográfica do rio Ipojuca foi constantemente alterado nos últimos anos em decorrência da instalação do Complexo Portuário de Suape (APAC, 2019). Além disso, ao longo do percurso do rio são encontrados dejetos provenientes dos esgotos ou do lixo jogado pela população, além de produtos químicos despejados por indústrias e lavanderias da região. De acordo com a Agência Estadual de Meio Ambiente (CPRH), em 2013, cerca de 20 empresas do município de Caruaru foram autuadas pelo lançamento indevido de substâncias no rio Ipojuca, porém o esgoto doméstico ainda é o fator mais preocupante. Há uma ocupação desordenada de imóveis nas margens do rio, que possuem canos de esgotamento direcionado às águas, onde existe o despejo sem nenhum tipo de tratamento (COMPESA, 2016).

A bacia hidrográfica do rio Ipanema está localizada em sua maior parte no Estado de Pernambuco, porém a sua porção sul está inserida no Estado de Alagoas, onde se estende até o rio São Francisco. A porção pernambucana limita-se ao norte com a bacia do rio Ipojuca e a do rio Moxotó, ao sul com Alagoas e os grupos de bacias de pequenos rios interiores, a leste com as bacias dos rios Ipojuca e Una, e, a oeste, com a bacia do rio Moxotó. A nascente do rio Ipanema se situa no município de Pesqueira, seu curso percorre parte dos Estados de Pernambuco, por aproximadamente 139 km, e Alagoas, na direção norte-sul, até desaguar no rio São Francisco. O rio Cordeiro é o principal tributário do rio Ipanema, cuja nascente se

localiza no município de Venturosa. A bacia do rio Ipanema apresenta uma área de 6.209,67 km², que corresponde a 6,32% da área do Estado. Os municípios pernambucanos totalmente inseridos na bacia são Águas Belas e Pedra. Já os municípios de Alagoinha, Buíque, Iatí, Itaíba, Pesqueira, Saloá, Tupanatinga e Venturosa apresentam sua sede na bacia, enquanto Arcoverde, Bom Conselho, Caetés, Ibimirim, Manari e Paranatama estão parcialmente inseridos na mesma (APAC, 2019). Ao longo dos anos, o rio Ipanema tem sofrido com o desgaste ambiental, em virtude da construção de residências nas suas margens, de uma forma desordenada e, conseqüentemente, pelo despejo de efluentes químicos e resíduos domésticos, que agravam o ciclo hidrológico da bacia e a qualidade de suas águas (NASCIMENTO et al., 2016).

A bacia hidrográfica do rio Mundaú está localizada nos Estados de Pernambuco e Alagoas. Esta bacia limita-se ao norte com a do rio Una, ao sul com Alagoas e o grupo de bacias de pequenos rios interiores, a leste com a bacia do rio Una e Alagoas e, a oeste, com a bacia do rio Una. O rio Mundaú nasce no município de Garanhuns, com cerca de 69 km percorrendo o Estado de Pernambuco, em toda sua extensão, tem uma área de 4.090,39 km², dos quais 2.154,26 km² em Pernambuco, o que corresponde a 2,19% da área do Estado. A área de drenagem da bacia em Pernambuco envolve 15 municípios, quatro deles estão inseridos em sua totalidade: Angelim, Correntes, Palmerina e São João. Os municípios com sede na bacia são Caetés, Canhotinho, Garanhuns e Lagoa do Ouro, já as cidades de Brejão, Calçado, Capoeiras, Jucati, Jurema, Jupi e Lajedo estão parcialmente inseridas na bacia (APAC, 2019). Araújo (2014) avaliou a interferência humana, através de despejos domésticos, na bacia do rio Mundaú, onde estão cadastradas 12 indústrias e quatro delas lançam cargas poluidoras remanescentes dos processos industriais nos cursos de água do rio, de acordo com a CPRH. Além disso, os autores identificaram ainda que a bacia recebe alta carga de esgoto doméstico, pois apenas Garanhuns, dentre as cidades da bacia, é servida com sistemas públicos de coleta e tratamento de esgotos, porém só 11% é tratado, dessa forma, a maioria das águas servidas dos núcleos urbanos é lançada na rede de drenagem, ou segue a céu aberto alcançando os riachos e rios.

A bacia hidrográfica do rio Capibaribe limita-se ao norte com o Estado da Paraíba, a bacia do rio Goiana e um grupo de bacias de pequenos rios litorâneos, ao sul com a bacia do rio Ipojuca e o grupo de bacias de pequenos rios litorâneos, a leste com o Oceano Atlântico e, a oeste, com a Paraíba e a bacia do rio Ipojuca. O rio Capibaribe nasce na divisa dos municípios de Jataúba e Poção, apresenta direção inicial sudeste-nordeste, até as proximidades de Santa Cruz do Capibaribe, quando seu curso toma a direção oeste-leste,

percorrendo uma extensão total de cerca de 280 km até sua foz, na cidade do Recife. Em vários trechos, serve como divisa entre municípios pernambucanos, como entre Santa Cruz do Capibaribe e Brejo da Madre de Deus. O rio Capibaribe apresenta regime fluvial intermitente nos seus alto e médio cursos, tornando-se perene somente a partir do município de Limoeiro, no seu baixo curso. Esta bacia hidrográfica apresenta uma área de 7.454,88 km², correspondendo a 7,58% da área do Estado, abrangendo 42 municípios pernambucanos, dos quais Brejo da Madre de Deus, Chã de Alegria, Cumaru, Feira Nova, Frei Miguelinho, Glória do Goitá, Jataúba, Lagoa do Itaenga, Passira, Santa Cruz do Capibaribe, Santa Maria do Cambucá, Surubim, Toritama, Vertentes e Vertente do Lério estão totalmente inseridos na bacia. Os municípios que possuem sede na bacia são Camaragibe, Casinhas, Limoeiro, Paudalho, Pombos, Recife, Riacho das Almas, Salgadinho, São Lourenço da Mata, Taquaritinga do Norte e Vitória de Santo Antão. As cidades de Belo Jardim, Bezerros, Bom Jardim, Carpina, Caruaru, Chã Grande, Gravatá, João Alfredo, Lagoa do Carro, Moreno, Pesqueira, Poção, Sanharó, São Caetano, Tacaimbó e Tracunhaém estão parcialmente inseridas na bacia (APAC, 2019).

O rio Capibaribe percorre vários centros urbanos e infelizmente tem servido como corpo receptor de resíduos industriais e domésticos (APAC, 2019). A CPRH, que realiza o monitoramento da qualidade de suas águas, relata que o rio apresenta-se poluído em todas as suas unidades de análise, devido, principalmente, às elevadas concentrações de amônia, fósforo e coliformes termotolerantes, em virtude do lançamento de esgotos domésticos e efluentes industriais acima de sua capacidade de autodepuração (PHA, 2010).

A bacia hidrográfica do rio Una limita-se ao norte, com as bacias dos rios Ipojuca e Sirinhaém, e o grupo de bacias de pequenos rios litorâneos; ao sul, com a bacia do rio Mundaú, o Estado de Alagoas, o grupo de bacias de pequenos rios litorâneos e o grupo de bacias de pequenos rios interiores; a leste, com o Oceano Atlântico, a bacia do rio Sirinhaém e, a oeste, com as bacias dos rios Ipojuca e Ipanema. A nascente do rio Una se localiza no município de Capoeiras, apresentando-se intermitente até aproximadamente a cidade de Altinho, quando se torna perene e possui uma extensão de cerca de 290 km. A referida bacia hidrográfica apresenta uma área de 6.740,31 km², dos quais 6.262,78 km² estão inseridos em Pernambuco, correspondendo a 6,37% do total do Estado. Esta bacia abrange 42 municípios, dos quais Belém de Maria, Catende, Cupira, Ibirajuba, Jaqueira, Lagoa dos Gatos, Maraiá, Palmares, Panelas, São Benedito do Sul e Xexéu estão totalmente inseridos na mesma. As cidades de Água Preta, Agrestina, Altinho, Barreiros, Bonito, Cachoeirinha, Calçado, Capoeiras, Jucati, Jupi, Jurema, Lajedo, Quipapá, São Bento do Una e São Joaquim do Monte

possuem sede inserida na bacia. Por sua vez, Barra de Guabiraba, Bezerros, Caetés, Camocim de São Félix, Canhotinho, Caruaru, Gameleira, Joaquim Nabuco, Pesqueira, Rio Formoso, Sanharó, São Caetano, São José da Coroa Grande, Tacaimbó, Tamararé e Venturosa estão parcialmente inseridas na mesma (APAC, 2019).

Alves et al. (2017) relataram que vários pontos amostrados do rio Una recebem constantemente o lançamento de esgotos domésticos, além de resíduos de sangue despejados por um matadouro de suínos, animais mortos e materiais plásticos. Os autores concluíram que a qualidade da água do rio Una é imprópria para uso, em decorrência do lançamento de efluentes e resíduos sólidos. O mapa hidrográfico do Estado de Pernambuco está representado na Figura 4.

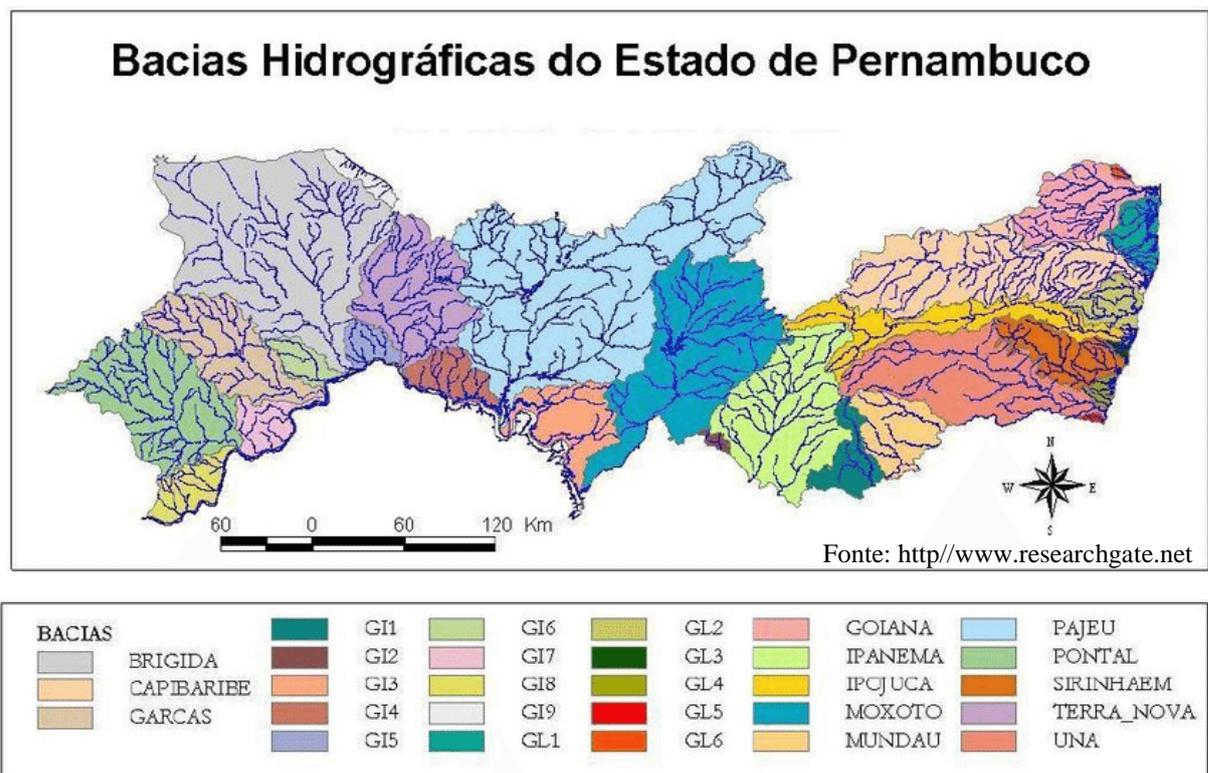


Figura 4. Mapa hidrográfico do Estado de Pernambuco: as bacias dos rios Ipojuca, Ipanema, Mundaú, Capibaribe e Una englobam o local de realização do estudo

3.2. Metais

Metais podem ser definidos como elementos com brilho metálico, capacidade de perder elétrons para formar íons positivos e conduzir calor e eletricidade. O termo “metais pesados” é frequentemente empregado em referência à poluição e toxicidade, no entanto, é insatisfatório pois “pesado” no uso convencional implica em alta densidade, que é raramente uma propriedade biologicamente significativa, e “metal”, ao elemento puro ou uma liga de elementos metálicos. Além disso, o termo tem sido utilizado sem uma definição associada, levando a algumas confusões na literatura e nas políticas e regulamentações relacionadas (DUFFUS, 2002).

Ao longo das últimas décadas, diversos pesquisadores e autores reportaram definições para o termo “metais pesados” (LIMA; MERÇON, 2011). Duffus (2002), após uma extensa revisão bibliográfica, identificou que em relação às propriedades químicas, as principais definições levaram em consideração os elementos com elevada massa específica, massa atômica e número atômico. O autor concluiu, portanto, que os metais pesados apresentam massa específica entre 3,5 e 7,0 g/cm³, massa atômica maior que 23 u e número atômico maior que 20.

Dentro desses critérios, alguns autores consideram que qualquer tipo de metal pode ser um metal pesado, enquanto outros incluem apenas os metais de transição. Além das propriedades químicas utilizadas nestas definições, outros pesquisadores destacam aspectos importantes a serem considerados na conceituação de metal pesado (LIMA; MERÇON, 2011). Hawkes (1997) verificou que além da elevada massa específica, outras propriedades são importantes para a definição de metais pesados, como a formação de sulfetos e hidróxidos insolúveis, cujos sais geram soluções aquosas coloridas. Esta propriedade é importante pois a principal técnica de remoção de metais no tratamento de efluentes industriais é a precipitação, geralmente com a elevação do pH e a formação de hidróxidos insolúveis. De forma geral, as definições de “metal pesado” estavam associadas com propriedades químicas que não expressam o seu potencial tóxico (LIMA; MERÇON, 2011).

Nas últimas décadas, porém, o conceito de “metal pesado” tem sido utilizado em várias publicações e legislações como um grupo de metais e semimetais associados com contaminações e potencial toxicidade e ecotoxicidade (DUFFUS, 2002). Os impactos ao meio ambiente e à saúde humana decorrentes do descarte de metais fizeram com que fatores ambientais e toxicológicos fossem associados à definição de metal pesado. Houve a

necessidade de uma articulação multidisciplinar de conceitos para melhor descrever a atual compreensão dos metais pesados (LIMA; MERÇON, 2011).

Através do estudo da toxicologia foi possível constatar que cada metal pode vir a apresentar um efeito toxicológico específico sobre determinado ser vivo, além disso, outros fatores como biodisponibilidade e espécie química influenciam na toxicidade de um elemento químico (VALLS; LORENZO, 2002). O acúmulo de metais nos organismos depende diretamente da fração de metais disponíveis no meio. É possível encontrar um metal em diferentes compartimentos de um ecossistema, mas em função da forma química como ele está presente, ocorre uma maior ou menor absorção no organismo (LIMA; MERÇON, 2011).

A forma mais tóxica de um metal não é a livre, mas quando este se encontra como cátion ou ligado a cadeias carbônicas. No organismo, o principal mecanismo de ação tóxica dos metais decorre de sua afinidade pelo enxofre (S). Os metais, quando presentes em suas formas catiônicas, reagem com o radical sulfidríla (-SH) presente na estrutura proteica das enzimas, alterando suas propriedades, levando ao seu bloqueio e/ou inativação, o que pode resultar em danos ao metabolismo dos seres vivos (BAIRD, 2002; VALLS; LORENZO, 2002).

Na água, a toxicidade de um metal varia em função do pH e dos teores de carbono dissolvidos e em suspensão, visto que os metais interagem com o carbono e seus compostos, formando complexos ou sendo adsorvidos (BAIRD, 2002). Em relação à espécie química, o mercúrio (Hg) é um exemplo. A sua espécie química catiônica (Hg^{2+}) está associada à partículas em suspensão que se depositam em sedimentos presentes na água. Nos sedimentos, os microorganismos convertem esse cátion em dimetilmercúrio $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$, este, por sua vez, é convertido em metilmercúrio (HgCH_3), em virtude do pH do meio. Devido a sua lipossolubilidade em ambientes aquáticos, ao passar pelas brânquias dos peixes, o HgCH_3 se difunde e acumula-se no tecido adiposo, esse fenômeno é denominado bioconcentração. No interior do organismo, o HgCH_3 exercerá a sua ação tóxica, interagindo com o grupo sulfidríla das enzimas (LIMA; MERÇON, 2011).

Alguns metais são necessários em pequenas quantidades ao metabolismo celular normal, logo a sua ingestão é fundamental para os mecanismos homeostáticos. Entretanto, muitos outros metais parecem não ter funções biologicamente relevantes ao organismo (VALLS; LORENZO, 2002). Fisiologicamente, os metais são agrupados em três categorias: aqueles essenciais e basicamente não tóxicos; os essenciais, mas que são prejudiciais em altas concentrações e os tóxicos. Os metais essenciais, não tóxicos, são: cálcio (Ca), magnésio (Mg), sódio (Na) e o potássio (K). Os essenciais, mas prejudiciais em altas concentrações são:

ferro (Fe), cobre (Cu), cobalto (Co), zinco (Zn) e manganês (Mn). Os tóxicos são o alumínio (Al), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e o mercúrio (Hg) (VALLS; LORENZO, 2002; SUTTLE, 2010; TOKARNIA et al., 2010). Na tabela 1 estão dispostas as concentrações de Cu e Fe no soro sanguíneo de bovinos em condições de deficiência clínica, deficiência marginal, normalidade, toxicidade marginal e tóxicas. Já na tabela 2 é possível observar as concentrações consideradas normais, elevadas e tóxicas para o Pb e Cd no soro sanguíneo, e do Cr em tecidos de bovinos.

Tokarnia et al. (2010) relataram que os resultados de alguns experimentos demonstram a “essencialidade” de outros metais, como molibdênio (Mo), cromo (Cr), níquel (Ni), lítio (Li), rubídio (Rb) e vanádio (V), porém esclarecem que estes estudos são realizados em condições artificiais. Já Suttle (2010) classifica estes mesmos metais supracitados como ocasionalmente benéficos, pois também podem ser considerados como essenciais, embora em concentrações mínimas (<1mg/kg).

Tabela 1. Concentrações de Cu e Fe no soro sanguíneo de bovinos em condições de deficiência clínica, deficiência marginal, normalidade, toxicidade marginal e tóxicas.

Faixas	Cu (mg/l) ^a	Fe (mg/l) ^b
Deficiência clínica	< 0,19	< 0,49
Deficiência marginal	0,19 – 0,52	0,49 – 0,68
Normalidade	0,52 – 1,28	0,68 – 1,26
Toxicidade marginal	1,28 – 1,60	1,26 – 1,79
Tóxicas	> 1,60	> 1,79

Fonte: Suttle (2010).

^aDividir por 0,064 para obter unidades em $\mu\text{mol/l}$.

^bDividir por 0,055 para obter unidades em $\mu\text{mol/l}$.

Tabela 2. Concentrações normais, elevadas e tóxicas de Pb e Cd no soro sanguíneo, e de Cr em tecidos de bovinos.

Faixas	Pb (mg/l) ^a	Cd (mg/l) ^b	Cr (mg/kg) ^c
Normalidade	0,001 - 0,051	> 0,01	< 0,1
Elevada	0,103 – 0,310	*	*
Tóxica	> 0,414	*	> 10,0

Fonte: Suttle (2010)

^aDividir por 207,2 para obter unidades em $\mu\text{mol/l}$.

^bDividir por 112,4 para obter unidades em $\mu\text{mol/l}$.

^cDividir por 51,9 para obter unidades em $\mu\text{mol/kg}$.

3.2.1. Cobre (Cu)

O Cu é um microelemento fundamental para a formação da hemoglobina, além disso, importantes enzimas são cobre-dependentes, dentre elas podemos citar a ceruloplasmina, citocromo-oxidase, dopamina-beta-hidroxilase, lisil oxidase, Cu-Zn superóxido dismutase e tiroxinase. Elas exercem funções essenciais, como o transporte do Fe, a transferência de elétrons da cadeia respiratória, atuam no metabolismo das catecolaminas, na formação de tecido conjuntivo, eliminação de radicais livres e pigmentação dos pelos (TOKARNIA et al., 2010). A deficiência e a intoxicação por Cu são enfermidades importantes para os ruminantes. A privação deste elemento-traço provoca ataxia, anormalidades nos pelos, despigmentação, anemia, distúrbios ósseos, no tecido conjuntivo e cardiovasculares, diarreia, suscetibilidade à infecções, infertilidade e retardo no crescimento (SUTTLE, 2010). As principais características da intoxicação por este metal são a hemoglobinemia e hemoglobinúria súbitas, além de icterícia acentuada, que geralmente levam os animais à morte entre um e três dias (SUTTLE, 2010; TOKARNIA et al., 2010).

As principais fontes de Cu para ruminantes são os alimentos, como pastagem, silagem, feno, cereais e grãos (SUTTLE, 2010). Entretanto, os animais podem vir a ter contato com este metal através da água ou encanamento contendo o elemento (GRIGOLETTO et al., 2012; TORO, 2012), plantas e solo onde são utilizados fertilizantes fosfatados (REZENDE et al., 2012; ANDREAZZA et al., 2013; INÁCIO et al., 2013), solo e vegetação contaminados pelo chorume proveniente de lixões e/ou aterros sanitários (HYPOLITO; EZAKI, 2006; CELERE et al., 2007; BARROS; DIAS; ARAÚJO, 2015), assim como em virtude da proximidade de áreas industriais (SOUZA et al., 2009; OGABIELA et al., 2011; ORISAKWE et al., 2017).

Santos et al. (2006) relataram um surto de ataxia enzoótica tardia em cabritos e cordeiros de uma propriedade no Agreste do Estado de Pernambuco. Segundo os pesquisadores, a dieta oferecida ao rebanho continha quantidades adequadas de Cu, porém os animais acometidos pela enfermidade apresentaram baixos teores do mineral no fígado. Os elementos antagonistas do Cu, como Mo, S e Zn, estavam normais, com exceção do Fe, que encontrava-se em alta concentração tanto no solo, quanto nos alimentos. Concluiu-se que a ingestão excessiva de Fe levou à deficiência de Cu nos animais, ou seja, uma carência secundária. Silva et al. (2014) descreveram cinco casos de deficiência de Cu em caprinos e um em bovinos na região semiárida da Paraíba. Os valores séricos de Cu estavam abaixo dos valores normais. Os caprinos manifestaram um quadro clínico de ataxia enzoótica, que foi

confirmado através da histopatologia, já as vacas adultas apresentaram diarreia crônica durante 6 a 8 meses, e se recuperaram após a suplementação parenteral com glicinato de Cu. Os pesquisadores chegaram a conclusão de que a deficiência do elemento nestes animais ocorreu em virtude da carência nutricional, e sugeriram que ruminantes em pastejo no semiárido da Paraíba devem ser suplementados com Cu.

Silva Júnior et al. (2015), entretanto, observaram que não houve carência de Cu na região do vale do rio São Francisco, no Sertão do Estado de Pernambuco, após a determinação dos teores deste elemento e de seus antagonistas em 160 amostras de soro e de fígados, de caprinos e ovinos enviados ao matadouro municipal de Petrolina. Já Oliveira Filho (2016) registrou um surto de ataxia enzoótica em cordeiros no Agreste Meridional de Pernambuco. Os níveis séricos de Cu estavam abaixo dos valores de referência, no entanto, as concentrações de Mo, Fe e Zn encontravam-se dentro da faixa de normalidade para a espécie. O autor concluiu que a deficiência de Cu nesta região do Estado se deu pela ingestão insuficiente do mineral na dieta, caracterizando uma carência primária do elemento traço, e não pela ação de seus antagonistas, sugerindo, conseqüentemente, a suplementação adequada de Cu na nutrição destes animais.

3.2.2. Ferro (Fe)

O Fe possui função estrutural nas moléculas de hemoglobina e mioglobina mas também é um constituinte de enzimas, entre elas, as citocromo-oxidases, catalases, peroxidases e hidrolases, além de atuar no processo de ativação da succinato desidrogenase, (TOKARNIA et al., 2010). A deficiência do metal promove a anemia, hipertrofia cardíaca, hipotireoidismo, disfunção cognitiva e suscetibilidade à infecções. Já a intoxicação por este elemento está associada à interações com a vitamina E e ácidos graxos poli-insaturados, fontes adventícias deste oligoelemento, tolerância ao Fe na dieta e interações adversas com outros elementos. O Fe livre é citotóxico devido ao seu alto potencial de oxidação-redução e capacidade de gerar radicais livres, podendo causar dano peroxidativo em órgãos como o fígado, quando os estoques no tecido se tornam excessivos durante a sobrecarga crônica (SUTTLE, 2010).

As pastagens e o solo são muito ricos em Fe (TOKARNIA et al., 2010). Os grãos, sementes e forragens contêm concentrações altas e variadas deste metal, dependendo das espécies de plantas, condições do cultivo e do grau de contaminação por outras fontes exógenas. A maioria dos grãos de cereais contém entre 30 e 60 mg/kg do elemento, a cevada

e o milho, têm em média 100 mg/kg do metal, aveia e trigo contêm 120 e 140 mg/kg, respectivamente. As concentrações mais elevadas registradas para subprodutos de cereais são de 480 mg/kg de Fe em ração de glúten de milho e 220 mg/kg em ração de trigo, atribuídos à distribuição irregular do microelemento no grão e à contaminação pelo mesmo durante o processamento (SUTTLE, 2010). Há trabalhos em que o Fe presente no sangue de bovinos foi associado a fatores como as estações do ano (SOUZA et al., 2009; NWUDE; OKOYE; BABAYEMI, 2010), sistemas de criação (TOMZA-MARCINIAK et al., 2011; ORJALES et al., 2018), contaminação ambiental (OGABIELA et al., 2011), distância em relação à rodovias (ARSLAN et al., 2011; EKICI et al., 2015) e rios contaminados por efluentes industriais (CHAND et al., 2017).

3.2.3. Chumbo (Pb)

O Pb é um poluente ambiental difuso com potencial risco à saúde pública como contaminante de alimentos de origem animal (SWARUP et al., 2005). A intoxicação por Pb é uma das mais relatadas em ruminantes, geralmente ocorre de forma aguda, porém os efeitos da exposição crônica nos tecidos estão recebendo atenção crescente em virtude de seus efeitos subclínicos. Hemorragia gastrintestinal e anemia, além de necrose hepática e danos renais são as principais características da intoxicação aguda. Já na exposição crônica, lesões no trato alimentar e anemia não são observadas, no entanto, a osteoporose pode acompanhar a hidronefrose (SUTTLE, 2010). Barbosa et al. (2014) verificaram a presença de sinais clínicos neurológicos em um surto de intoxicação por Pb em bezerros no Pará, caracterizados por distúrbios proprioceptivos, tremores musculares, redução do tônus lingual, pressão da cabeça contra objetos e amaurose. Os autores observaram também outros sinais clínicos inespecíficos, como sialorréia, bruxismo, apatia, anorexia, secreção nasal, dispneia e decúbito. Sinais neurológicos também foram relatados por Guagnini et al. (2018), em bovinos adultos intoxicados por este metal no Rio Grande do Sul, em que além dos sinais clínicos supracitados, houve incoordenação motora e andar a esmo, além de sinais inespecíficos.

O solo e alimentos contaminados, a dispersão de lodo de esgoto na água e em terras agrícolas são fontes de Pb (SUTTLE, 2010). A proximidade das propriedades rurais de rodovias pode influenciar nos níveis sanguíneos deste metal em humanos e animais, como bovinos, além de sua presença no leite, em virtude do acúmulo do elemento ao lado de estradas e também pela sua deposição atmosférica, pois o Pb foi utilizado por muitos anos como aditivo na gasolina (LANDRIGAN, 2002; SUTTLE, 2010; MARCOLINO, 2014).

Alguns suplementos de cálcio são ricos em Pb, que também pode ser proveniente de fontes pontuais, como plásticos oriundos do processamento industrial, baterias velhas e latas de tinta (SUTTLE, 2010). As fontes do Pb no surto relatado por Barbosa et al. (2014) foram placas constituídas pelo metal derivadas de cinco baterias de caminhão, que eram utilizadas na fazenda para armazenar energia captada por painéis solares e estavam no piquete ao alcance dos animais. Já no surto relatado por Guagnini et al. (2018), em uma área de treinamento militar, foi a ingestão do metal presente no solo ou pastagem contaminados, contendo poeira com o Pb na superfície das folhas, em virtude do impacto dos projéteis no chão e, conseqüentemente, pela incorporação do metal nas plantas através das raízes e/ou das folhas.

3.2.4. Cádmio (Cd)

O Cd é outro metal altamente reativo e tóxico largamente distribuído na maioria dos ecossistemas agrícolas. Os sinais clínicos da intoxicação por Cd em ruminantes incluem perda de apetite, retardo no crescimento, comprometimento do desenvolvimento testicular e, em ovinos, paraqueratose (SUTTLE, 2010).

O solo, as plantas, resíduos de mineração e fundição de metais como Zn e Pb, fertilizantes superfosfatos e lamas de esgotos são as principais fontes de Cd (SUTTLE, 2010; GONÇALVES JÚNIOR et al., 2015). É um metal utilizado na fabricação de pilhas e baterias, algumas baterias recarregáveis, que são empregadas em aparelhos eletrônicos, como telefones celulares, computadores, filmadoras, entre outros, são constituídas de níquel-cádmio, e contêm em sua composição Fe, Cd e Ni (SOUZA; LEÃO; PINA, 2005). Este elemento é obtido através do minério, submetido a um processo de refinamento para se transformar em barras ou ânodos, e a sua principal propriedade é a resistência à corrosão, além de possuir qualidades para ser usado na metalurgia (D'AGUIAR; FREITAS; MORRONE, 2009).

3.2.5. Cromo (Cr)

O Cr é considerado um elemento ocasionalmente benéfico ou “essencial” (SUTTLE, 2010; TOKARNIA et al., 2010). A suplementação com dietas contendo este metal para bovinos pode provocar alterações em proteínas, ácidos nucléicos e no metabolismo lipídico, provavelmente pelo reflexo da redução dos efeitos antagônicos promovidos pelo mecanismo de resistência à insulina. Os ruminantes utilizam acetato, ao invés de produzirem uma fonte de carbono e isso pode reduzir sua sensibilidade à insulina. Um suplemento

dietético com 1 mg/kg de Cr aumentou em 30% o potencial de utilização da glicose para a síntese de gordura em ovelhas adultas, através do aumento da atividade da enzima ATP-citrato liase. As respostas da suplementação com Cr na dieta podem ser importantes em ovelhas com dois ou mais fetos, por exemplo, uma vez que a exigência de glicose é excepcionalmente alta (SUTTLE, 2010).

A biorredução do Cr⁺⁶ para o Cr⁺³, no entanto, representa um perigo potencial, uma vez que pode causar dano tecidual peroxidativo. Porém a intoxicação por Cr é rara, fontes deste metal aparentemente são toleradas em concentrações de até 1000 mg/kg de matéria seca. Entretanto, distúrbios do metabolismo, inibição de monoxigenases ligadas ao citocromo P450 e hidroxilação da testosterona, foram relatadas com apenas 50 mg/kg de Cr adicionado às rações de galinhas poedeiras (SUTTLE, 2010). De acordo com Nunes, Oliveira e Benini (2012), o Cr é um elemento carcinogênico e de efeitos deletérios para a saúde humana.

O Cr é abundante no solo, principalmente nos solos das culturas, também pode estar presente nas rações e no leite bovino (SUTTLE, 2010). Ribeiro et al. (2012) relataram a contaminação pelo Cr nas águas do rio São Francisco, em um trecho entre Três Marias e Pirapora, em Minas Gerais, provavelmente devido ao passivo ambiental da indústria de Zn e aos lançamentos de esgoto doméstico no rio. Segundo Nunes, Oliveira e Benini (2012), o metal está presente no lodo das estações de tratamento de indústrias e podem contaminar o solo e as águas superficiais e subterrâneas. Os autores alertaram para o elevado risco de contaminação por Cr, proveniente dos lodos de curtumes, tanto para o meio ambiente como para os seres humanos e animais.

3.3. Fatores de risco relacionados à presença de metais no sangue de bovinos

Marçal (2005) analisou amostras de sangue de 25 bovinos para monitorar a poluição ambiental ocasionada por uma fábrica produtora de grande quantidade de baterias para veículos automotores, localizada numa área rural no Estado do Paraná. Além de sangue dos animais, foram coletadas amostras de solo, capim, água e sal mineralizado, com a finalidade de investigar as fontes de Pb inorgânico, que é considerado o principal metal na manufatura de baterias automotivas. Após a análise dos resultados, foi observado que os valores de Pb encontrados no solo, capim e água consumidos pelos animais, estavam muito acima dos limites máximos considerados aceitáveis por vários autores. Já os valores sanguíneos encontrados em 80% (20/25) dos animais estudados, estavam acima do limite

máximo aceitável para bovinos. Os autores concluíram que houve comprometimento da saúde dos animais em virtude da poluição ambiental nos efluentes industriais líquidos e gasosos incorporados às pastagens e fontes de água.

Souza et al. (2009) avaliaram a presença e a concentração de Pb, Cd, Cu, Zn e Ni no sangue de 40 vacas criadas em uma área industrializada (com siderúrgicas) e outra não-industrializada em três municípios do Estado de Minas Gerais. Além disso, os autores coletaram as amostras biológicas em duas épocas do ano (inverno e verão), buscando avaliar a intoxicação em bovinos em função do ambiente de exposição e da estação do ano. Os autores verificaram que o local de criação afetou significativamente a concentração de Cu no soro sanguíneo dos bovinos, uma vez que as maiores concentrações deste metal foram observadas na área industrializada. O estudo da época de amostragem indicou efeito da sazonalidade, pois nas amostras coletadas durante o verão foram observadas maiores concentrações de Cu, Zn, Pb e Cd no sangue dos animais avaliados. Logo, a presença das siderúrgicas não implicou em uma elevação das concentrações sanguíneas da maioria dos metais avaliados nos bovinos do presente estudo. Entretanto, houve influência da sazonalidade nos níveis de metais no sangue destes animais.

Swarup et al. (2005) avaliaram a presença de resíduos de Pb no sangue de 149 vacas leiteiras de várias partes da Índia, criadas próximo de diferentes locais com variadas atividades industriais. Os resultados obtidos permitiram inferir que houve maior concentração deste metal no sangue dos bovinos que viviam em torno de uma indústria de processamento de Zn e Pb, seguida por uma indústria de fundição destes metais que estava desativada e de fundição de minério de Al. Os autores chegaram à conclusão de que a contaminação por Pb na pastagem das proximidades destas áreas supracitadas foi mais elevada e, conseqüentemente, o seu consumo levou ao aumento das concentrações do metal no sangue dos animais.

Leonidis et al. (2010) determinaram a presença de Pb e Cd em amostras de sangue de 87 bovinos criados em áreas industriais poluídas, e em áreas não poluídas da província de Tessalônica, na Grécia. Os autores observaram que os valores médios de Pb no sangue foram mais elevados nos animais criados próximo à indústria de processamento de Pb e Zn e de fundição de destes metais, que estava desativada há três meses. Já os níveis de Cd foram maiores no sangue de bovinos criados próximo à uma fabrica de embalagens e a uma siderúrgica. Os níveis de ambos os metais também foram elevados no sangue dos bovinos que viviam ao redor de uma indústria de processamento de Al.

Ogabiela et al. (2011) avaliaram os níveis de Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Al, Pb, Cd e Cr no sangue 27 vacas que pastavam ao redor do distrito industrial de Challawa, em Kano, e em

uma área considerada menos poluída, em Zaria, na Nigéria. Os autores verificaram elevadas concentrações de Fe, Zn, Ni, Al, Cu e Mn nas áreas estudadas, e que não houve diferença significativa entre elas. Os níveis de Pb, Cd e Cr no sangue dos bovinos de ambas regiões da Nigéria foram elevados, e os autores concluíram que os subprodutos provenientes destes animais não são seguros para o consumo humano.

Orisakwe et al. (2017) investigaram a distribuição de Pb, Cd, Zn, Cr, Cu, Mg e Ni em amostras de capim, solo, água e no sangue de vacas criadas ao redor de minas de ouro contaminadas por Pb nas cidades de Dareta e Abare, Estado de Zamfara, na Nigéria. Os autores verificaram que os bovinos da cidade de Abare apresentaram as maiores concentrações sanguíneas de Zn, Cr, Cu e Pb. Em relação às amostras ambientais, as concentrações de Pb foram altas no solo de ambas as cidades, enquanto que o Cd e o Cr foram mais elevados no solo de Dareta, já o Zn e Ni em Abare. As concentrações de Mg nas amostras de capim e água foram elevadas em ambas as cidades, já o Pb e o Cu apresentaram níveis sanguíneos elevados na cidade de Dareta. Concluiu-se que o Pb e o Cd são uma preocupação para as comunidades de Zamfara, em virtude das elevadas concentrações destes metais em produtos de origem animal, como também nos vegetais destas áreas.

Nwude, Okoye e Babayemi (2010) avaliaram os níveis de Pb, Cd, Co, Zn, Cu e Fe no sangue de vacas abatidas no matadouro de Awka, Nigéria, em três diferentes estações do ano. Foram coletadas amostras de sangue de 15 vacas, sendo cinco em cada uma das estações do ano, ou seja, no início da estação chuvosa, no pico da estação chuvosa e na estação seca. Os resultados demonstraram que o Zn foi o elemento que apresentou as maiores concentrações nas três estações do ano, seguido pelo Pb, já o Cd foi o metal que apresentou as concentrações mais baixas. De acordo com Suttle (2010), fatores sazonais relacionados à presença e concentrações de metais principalmente nas pastagens estão associados às interações entre os elementos e seus antagonistas.

Melquíades et al. (2011) realizaram uma análise de Pb, Cu, Fe, Zn, K, Ca, Mn e Rb no sangue de 13 bovinos e no seu ambiente de criação, com o objetivo de identificar a presença dos metais nas amostras de sangue, água, sedimento, capim, sal mineral e ração de propriedades rurais, localizadas na bacia do rio das Pedras, município de Guarapuava, Estado do Paraná. De acordo com os autores, apenas o Fe foi detectado em uma das 13 amostras de água analisadas; K, Ca, Mn, Fe, Cu, Rb e Pb foram detectados nas amostras de capim e sedimento, além disso, o Zn também foi identificado no sedimento; o Pb foi observado em uma das três amostras de ração coletadas. No entanto, nenhuma amostra de sangue apresentou excesso na concentração desses metais. Os pesquisadores acreditam que este resultado se deu

em função do limite de detecção da técnica, neste caso a Fluorescência de Raios X por Reflexão Total (TXRF), ou em virtude da pequena concentração do elemento transferida ao organismo animal.

Tomza-Marciniak et al. (2011) compararam as concentrações de Cd, Pb, Fe, Zn, Cu, Cr, Ni e Al no soro sanguíneo de 41 vacas leiteiras, sendo 20 provenientes de fazendas convencionais e 21 de propriedades orgânicas, no noroeste da Polônia. Os resultados mostraram que o Pb, Zn, Fe, Cu, Cr, Ni e Al apresentaram concentrações mais baixas nas fazendas orgânicas, enquanto que os níveis de Cd foram semelhantes em ambas as fazendas. Segundo os autores, animais criados organicamente são menos expostos à influências ambientais prejudiciais, como a intoxicação por metais, porém, têm maior risco de apresentarem deficiências minerais quando comparados aos animais mantidos em fazendas convencionais. Orjales et al. (2018) avaliaram Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn, Cd, Hg e Pb em amostras de forragem, ração concentrada e soro sanguíneo de 522 vacas, sendo que 341 delas foram provenientes de 22 fazendas orgânicas, e 181 bovinos de 10 fazendas convencionais, em que os animais eram criados intensivamente, no norte da Espanha. O estudo não identificou diferenças significativas nas concentrações de oligoelementos no soro sanguíneo entre bovinos leiteiros criados organicamente ou de forma convencional. No entanto, as concentrações de oligoelementos na forragem produzida localmente e na ração concentrada usadas nas fazendas orgânicas foram baixas. As concentrações de oligoelementos também foram baixas em forragem convencional, mas o status de oligoelementos em vacas manejadas convencionalmente é geralmente adequado, uma vez que suplementos minerais são adicionados rotineiramente.

Arslan et al. (2011) e Ekici et al. (2015) investigaram a presença e os níveis de metais no soro sanguíneo de bovinos criados próximos e distantes de rodovias, na Turquia. Arslan et al. (2011) detectaram os níveis de Cu, Zn, Fe, Cd e Pb no soro sanguíneo de 70 bovinos, de diferentes rebanhos, que viviam próximos (0 a 500 m) e distantes de estradas (2 a 3 km) nas cidades de Samsun e Tekirdag. Os autores observaram que os níveis de Cd e Pb foram mais elevados nos animais que viviam próximos das estradas por pelo menos três anos, em virtude da exaustão do tráfego, sendo, portanto, bons indicadores da poluição ambiental. Ekici et al. (2015) investigaram as concentrações de Al, Fe, Ni, Zn, V, Cr, Mn, Co, Cu e Cd no sangue de 100 vacas criadas próximo (300m) e distante de rodovias (2,5 km) na província de Çankiri. Os resultados obtidos mostraram que os níveis de Al, Fe, Ni e Zn de vacas criadas próximo e distante de estradas foi significativamente diferente. Em contraste, não houve diferença estatística significativa entre os dois grupos em relação a V, Cr, Mn, Co, Cu, As, Se,

Cd e Pb. Concluiu-se que o Al, Fe, Ni e o Zn foram mais elevados no grupo de vacas criadas próximo às rodovias em relação aos animais que viviam longe das mesmas.

Cowan e Blakley (2016) descreveram a epidemiologia da intoxicação aguda por Pb em bovinos no Canadá durante um período de 16 anos, entre 1998 e 2013. Em 301 amostras de sangue, os autores verificaram que em 9,5% destas, os níveis de Pb estavam no limite superior, 21,8% apresentaram níveis tóxicos para este elemento e 68,7% tinham valores dentro da faixa de normalidade. Os bovinos com idades iguais ou inferiores a seis meses de vida foram os mais afetados pela intoxicação aguda por Pb (53,8%), sendo os animais entre um e dois meses de idade os mais frequentemente acometidos, seguidos por animais de 13 a 18 meses de idade (15,6%).

Chand et al. (2017) realizaram um estudo do perfil de Pb, Cd, Cu, Fe e Zn no sangue de 70 vacas em vilas localizadas próximo ao rio Kali, na cidade de Meerut, na Índia, que recebe efluentes industriais contaminados. Baseado na distância entre as vilas e o rio, os autores dividiram a área de estudo em três: área 1, formadas por vilas localizadas na margem do rio; área 2, vilas com 1 Km de distância do rio e área 3, vilas com mais de 2 Km de distância do rio e amostras de sangue de bovinos coletadas em locais com mais de 2 km de distância do rio, que foram utilizadas como controle. Os pesquisadores observaram que a média dos níveis de Pb e Cd no sangue dos animais das áreas 1 e 2 foi significativamente mais elevada quando comparada ao do grupo controle. Já a média dos níveis de Pb e Cd de animais da área 3 não foi estatisticamente significativa em relação aos valores do grupo controle. Concentrações significativamente baixas de Cu e Fe no sangue foram observadas nos animais das áreas 1 e 2 quando comparadas com as observadas nos bovinos da área 3 e do grupo controle, sugerindo influência do Pb e Cd sanguíneos na concentração de minerais traços. Já os níveis de Zn no sangue não apresentaram diferença estatística significativa entre os animais das diferentes áreas. Concluiu-se que os níveis de Pb e Cd no sangue influenciaram as concentrações de minerais traços como o Cu e o Fe, provavelmente pela capacidade destes metais tóxicos em interferir com a biodisponibilidade dos oligoelementos, competindo com eles e/ou inibindo a sua absorção intestinal. Na tabela 3 estão dispostas a relação dos autores, metais e amostras de sangue de bovinos, água, solo e de alimentos analisados, além dos fatores de risco em pesquisas realizadas no Brasil e em outros países.

Tabela 3. Relação dos autores, metais e amostras de sangue de bovinos, água, solo e de alimentos analisados, além dos fatores de risco em pesquisas realizadas no Brasil e em outros países.

Autor/ano	Metais analisados	Amostras analisadas	Fatores de risco
Marçal (2005)	Pb	Sangue, solo, capim, água e sal mineralizado	Área industrial (fábrica produtora de baterias para veículos automotores)
Souza et al. (2009)	Pb, Cd, Cu, Zn e Ni	Sangue	Área industrializada (com siderúrgicas) e não industrializada, épocas do ano (inverno e verão)
Swarup et al. (2005)	Pb	Sangue	Locais com variadas atividades industriais
Leonidis et al. (2010)	Pb e Cd	Sangue	Áreas industriais poluídas
Ogabiela et al. (2011)	Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Al, Pb, Cd e Cr	Sangue	Áreas ao redor de distrito industrial
Orisakwe et al. (2017)	Pb, Cd, Zn, Cr, Cu, Mg e Ni	Capim, solo, água e sangue	Áreas ao redor de minas de ouro contaminadas
Nwude, Okoye e Babayemi (2010)	Pb, Cd, Co, Zn, Cu e Fe	Sangue	Diferentes estações do ano
Melquíades et al. (2011)	Pb, Cu, Fe, Zn, K, Ca, Mn e Rb	Sangue, água, sedimento, capim, sal mineral e ração	Área localizada em bacia hidrográfica
Tomza-Marciniak et al. (2011)	Cd, Pb, Fe, Zn, Cu, Cr, Ni e Al	Soro sanguíneo	Fazendas convencionais e orgânicas

Orjales et al. (2018)	Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn, Cd, Hg e Pb	Forragem, ração concentrada e soro sanguíneo	Fazendas orgânicas e convencionais
Arslan et al. (2011)	Cu, Zn, Fe, Cd e Pb	Soro sanguíneo	Distância de rodovias
Ekici et al. (2015)	Al, Fe, Ni, Zn, V, Cr, Mn, Co, Cu e Cd	Soro sanguíneo	Distância de rodovias
Cowan e Blakley (2016)	Pb	Sangue	Idade dos animais
Chand et al. (2017)	Pb, Cd, Cu, Fe e Zn	Sangue	Proximidade de rio que recebia efluentes industriais contaminados

3.4. Fatores de risco relacionados à presença de metais no leite de bovinos

Swarup et al. (2005), Souza et al. (2009) e Leonidis et al. (2010) também pesquisaram a presença de metais em amostras de leite cru de bovinos. Swarup et al., (2005) relataram altos níveis de Pb no leite cru de vacas da Índia provenientes de áreas vizinhas de indústria de processamento de Zn e Pb, fundição destes metais e de minério de Al, em virtude do consumo de pastagens contaminadas pelo metal. Souza et al. (2009) avaliaram a presença e a concentração de Pb, Cd, Cu, Zn e Ni no leite de bovinos de Minas Gerais, e não detectaram a presença de Cd nas amostras, mesmo com o menor limite de detecção alcançado. O Pb foi identificado apenas em amostras da área industrializada, não sendo verificadas diferenças significativas entre as épocas de amostragem. O Zn e o Cu foram mais elevados na área desprovida de indústrias e durante o verão. O Ni também foi mais elevado no verão, porém na área industrializada. Em relação ao inverno, o Cu e o Ni foram mais elevados na área industrial. Leonidis et al. (2010) investigaram a presença de Pb e Cd no leite cru de vacas que viviam em áreas industriais poluídas e não poluídas na Grécia, e verificaram que o resultado foi semelhante ao observado para o sangue. As concentrações de Pb foram altas no leite de vacas que viviam ao redor da indústria de processamento de Pb e Zn, o Cd em bovinos criados ao redor de uma fábrica de embalagens e uma siderúrgica, enquanto que ambos metais estiveram em níveis elevados em amostras de animais criados próximo a indústria de processamento de Al.

Mahajan et al. (2012) investigaram a influência do Hg em 40 vacas em lactação na Índia, sendo 20 delas criadas nas proximidades de uma usina termelétrica em Koradi e 20 bovinos de uma fazenda escola em Nagpur, há 11 km de distância da usina, que foram utilizadas como grupo controle, com o objetivo de realizar uma análise comparativa dos níveis deste metal no leite. Os resultados evidenciaram que o leite dos animais expostos apresentou concentrações elevadas de Hg comparadas com as amostras dos animais do grupo controle. Foi observado também que as fontes de água consumida pelos bovinos foram severamente poluídas pelo metal, devido às cinzas emitidas da usina termelétrica. Os níveis do elemento nas amostras de água estavam muito acima dos limites aceitáveis, não sendo adequada para o consumo dos animais. Os autores concluíram que a ingestão de alimento e água poluídos com Hg pelas vacas em lactação criadas num raio de 5 km da usina termelétrica levaram a efeitos nocivos à saúde destes animais e à contaminação do leite pelo metal. Além disso, ressaltaram que se o leite destes animais for consumido por humanos poderia haver intoxicação alimentar.

Gomes et al. (2013) avaliaram a presença de Pb, Cd e Cr na água, alimentos e em 63 amostras de leite *in natura* de sete propriedades no município de Marechal Candido Rondon, Estado do Paraná. Através dos resultados obtidos, os autores verificaram que os metais estavam presentes nas amostras de leite analisadas. Em relação à alimentação, os teores de Pb e Cd foram elevados no sal mineralizado, que pode ter sido uma fonte considerável de contaminação do leite *in natura* pelos metais. Além disso, o Pb e o Cr estavam presentes ainda na silagem, milho, cana-de-açúcar e sal mineralizado.

Pilarczyk et al. (2013) compararam as concentrações de Cd, Pb, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn em amostras de leite cru de 40 vacas com períodos de lactação semelhantes, entre 100 e 150 dias pós-parto, sendo 20 da raça Simental e 20 Holstein-Friesian provenientes de fazendas orgânicas, na Polônia. Foi observado que o leite de vacas Simental foi mais favorável à composição mineral e baixas concentrações de metais tóxicos comparado com as amostras das vacas Holstein-Friesian. Já as concentrações de Cu no leite de ambas as raças foram baixas, evidenciando a deficiência deste elemento tanto nos animais como também na alimentação. Entretanto, os níveis de Pb foram elevados no leite destas duas raças de bovinos avaliadas. Como as vacas Simental e Holstein-Friesian permaneceram no mesmo ambiente e a alimentação foi idêntica, os autores concluíram que as diferenças observadas entre estas raças, no conteúdo de metais presentes no leite, foram causadas por diferenças de origem metabólica.

Blanco Penedo et al. (2014) determinaram e compararam os níveis de Cu, Co, Se, Zn, Mn, Mo, I e Fe em amostras de leite de 60 vacas, entre 0 e 6 semanas de lactação, e 100 vacas no final da lactação, provenientes de 13 fazendas orgânicas e 13 convencionais, na Suécia. Os resultados evidenciaram que vacas de fazendas orgânicas tiveram maiores concentrações de Mo e Co, e altas concentrações de Fe durante o início da lactação. As concentrações de Cu foram significativamente altas em vacas no início da lactação comparadas com as vacas no final da lactação, enquanto os níveis de Mo foram significativamente maiores nas vacas que estavam no final da lactação. Para os elementos não essenciais, um grande número de amostras não continham quantidades detectáveis de Pb. A principal conclusão que os autores chegaram foi a de que o novo regulamento alimentar europeu para a gestão de propriedades orgânicas não prejudicou os níveis de elementos essenciais necessários para garantir a saúde de vacas em lactação.

Marcolino (2014) determinou a presença de Pb, Cd, Cu, Fe e Zn em 147 amostras de leite cru de vacas provenientes de 14 propriedades distribuídas em cinco municípios do Agreste Meridional do Estado de Pernambuco. O autor verificou que todos os metais foram identificados nas amostras biológicas. Além disso, observou que a presença de efluentes e a proximidade das propriedades de rodovias influenciaram nos níveis de metais pesados no leite dos bovinos analisados. A presença de efluentes contribuiu para o aumento dos níveis de Pb e Zn, e a proximidade das propriedades de rodovias teve influência no aumento dos índices de Pb, Cd e Cu.

Norouzirad et al. (2018) avaliaram os níveis de Pb e Cd em 118 amostras de leite cru provenientes de vacas de 15 fazendas, localizadas em 14 diferentes regiões da província de Khuzestan, Sudoeste do Irã, numa área de extração de óleo e gás, transporte e processamento de seus derivados. Os autores verificaram que os níveis de Pb estavam elevados em 82,2% (11/14) das regiões avaliadas. No entanto, em relação ao Cd apenas em uma das regiões analisadas este elemento estava acima dos valores médios observados nas demais áreas amostradas. Concluiu-se que a contaminação do leite ocorreu especialmente nas fazendas próximas aos campos de petróleo.

É importante salientar que, de acordo com a legislação brasileira, os limites máximos permitidos para o Pb e o Cd no leite fluido e produtos lácteos são de 0,02 mg/kg e 0,05 mg/kg, respectivamente (ANVISA, 2013). Na tabela 4 estão dispostos a relação dos autores, metais e amostras de leite de bovinos, água e alimentos analisados, além dos fatores de risco em pesquisas realizadas no Brasil e em outros países.

Tabela 4. Relação dos autores, metais e amostras de leite de bovinos, água e de alimentos analisados, além dos fatores de risco em pesquisas realizadas no Brasil e em outros países.

Autor/ano	Metais analisados	Amostras analisadas	Fatores de risco
Swarup et al. (2005)	Pb	Leite cru	Locais com variadas atividades industriais
Souza et al. (2009)	Pb, Cd, Cu, Zn e Ni	Leite cru	Área industrializada (com siderúrgicas) e não industrializada, épocas do ano (inverno e verão)
Leonidis et al. (2010)	Pb e Cd	Leite cru	Áreas industriais poluídas
Mahajan et al. (2012)	Hg	Leite cru e água	Àrea próxima a usina termelétrica
Gomes et al. (2013)	Pb, Cd e Cr	Leite <i>in natura</i> e pasteurizado, água, sal mineralizado, silagem, milho e cana-de-açúcar	Propriedades rurais do município de Marechal Candido Rondon, Estado do Paraná
Pilarczyk et al. (2013)	Cd, Pb, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn	Leite cru	Diferenças raciais entre bovinos
Blanco Penedo et al. (2014)	Cu, Co, Se, Zn, Mn, Mo, I e Fe	Leite cru	Fazendas orgânicas e convencionais, além de estágios de lactação diferentes
Marcolino (2014)	Pb, Cd, Cu, Fe e Zn	Leite cru	Propriedades rurais do Agreste Meridional de Pernambuco

Norouzirad et al. (2018)	Pb e Cd	Leite cru	Área de extração de óleo e gás, transporte e processamento de seus derivados
-----------------------------	---------	-----------	---

3.5. Digestão de amostras biológicas assistida por radiação micro-ondas

A digestão de amostras biológicas tem por objetivo a decomposição dos analitos em sais solúveis e a redução das interferências associadas aos constituintes da matriz, obtendo-se uma solução líquida, que é a forma ideal da amostra para a determinação de metais (LEE, 2003; CASTRO, 2007; MORAES et al., 2016). Os sistemas atuais operam com pressão e temperatura relativamente altas, geralmente até 100 bar e 300 °C, com a finalidade de aumentar a eficiência da decomposição. Nesse sentido, a radiação micro-ondas é uma técnica que proporciona decomposições mais rápidas e seguras, pois apresenta facilidades para medir a temperatura e a pressão do sistema amostra-ácido(s) durante o processo reacional. No caso da pressão, o monitoramento se dá por meio de sensores do tipo termopar, de fibra óptica, infravermelho e capilar preenchido com gás. Já a temperatura pode ser determinada tanto no meio reacional (*in situ*) como externamente. Além disso, é fundamental a utilização de tubos digestores com material resistente, que permitam pressões altas, como o quartzo, por exemplo. No caso de materiais de baixa resistência mecânica, como politetrafluoretileno (PTFE), perfluoralcóxi (PFA) e PTFE quimicamente modificado (TFM®) necessitam de recobrimento por Kevlar®, poliéter-éter-cetona (PEEK) ou cerâmica, para evitar deformação do frasco de reação (MORAES et al. 2016).

No processo de digestão é necessária a utilização de ácidos, geralmente oxidantes, na forma concentrada. Dentre os ácidos mais empregados, estão o nítrico (HNO₃), sulfúrico (H₂SO₄) e perclórico (HClO₄), que podem ser usados individualmente ou em combinação, com exceção do HClO₄, em virtude ao alto risco de explosão. O HNO₃ é o mais utilizado, pelo fato de apresentar alto poder oxidante, baixo ponto de ebulição e risco de explosão, além de alta solubilidade dos nitratos de metais formados após a digestão. É frequente a combinação do HNO₃ com o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), pois há um aumento no poder oxidante da mistura (LEE, 2003; CASTRO, 2007).

3.6. Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) é muito empregada para a determinação de metais e, conseqüentemente, na avaliação de seus efeitos sobre o meio ambiente, bem como os impactos na saúde humana e dos animais (BUTCHER, 2010). O princípio consiste na excitação térmica dos elementos para um estado de alta energia e, à medida que retornam a estados de energia mais baixos, emitem luz em comprimento de onda característico do elemento (BOUTAKHRIT et al., 2005). O plasma acoplado indutivamente (ICP) é a fonte energética de excitação de átomos e íons mais comumente utilizada na emissão óptica, e sua alta eficiência se deve às elevadas temperaturas atingidas (SNEDDON; VICENT, 2008; HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

O plasma é formado por um gás parcialmente ionizado, geralmente o argônio (Ar), onde co-existem elétrons livres e íons positivos em movimento. A origem do plasma ocorre quando o Ar passa por uma tocha de quartzo e a descarga elétrica de uma bobina de Tesla inicia a ionização do gás (TREVIZAN; NÓBREGA, 2007). Os elétrons livres são acelerados por um campo eletromagnético e colidem com átomos, transferindo a sua energia para o gás. A energia absorvida pelos elétrons é suficiente para manter a temperatura entre 6.000 e 10.000 K no plasma (MONTASER; GOLIGHTLY, 1992; HARRIS, 2003). A solução introduzida em um ICP OES é transformada em um aerossol no nebulizador e uma pequena fração, geralmente apenas 5% do aerossol, é selecionada pela câmara de nebulização e transportada para o plasma, possibilitando a dissociação das moléculas (TREVIZAN, 2007).

Essa técnica permite a determinação multielementar simultânea ou sequencial rápida, uma vez que o processo de emissão (retorno dos átomos/íons excitados para o estado fundamental) é simultâneo para todos os elementos na amostra (SOUZA, 2003). Outra vantagem do ICP OES é que com apenas uma curva analítica é possível cobrir uma ampla faixa de concentração para a análise de amostras com variados níveis de elementos. Essa característica é decorrente da sua faixa linear dinâmica que, dependendo do elemento, varia entre quatro a seis ordens de grandeza, significativamente maior que as faixas observadas em espectrometria de absorção atômica com chama (AAS), de duas a três ordens de grandeza. (LUKAS, 1993).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Agreste é a principal região produtora de leite bovino do Estado de Pernambuco. A pecuária leiteira gera emprego e renda em virtude da produção primária, processamento em laticínios e comercialização de insumos veterinários e agrônômicos, assim como pela prestação de serviços. No entanto, o lançamento de efluentes industriais e esgotos domésticos nos rios desta região é um problema grave, pois afeta os animais que consomem a água e alimentos contaminados por metais. Estes elementos químicos são responsáveis por enfermidades que muitas vezes não são perceptíveis clinicamente e, além disso, podem levar à contaminação da carne e do leite. Os metais, ao integrarem-se a cadeia trófica alimentar, atingem os bovinos e, conseqüentemente, o homem, através da ingestão de produtos ou subprodutos de origem animal, o que representa potencial risco à saúde pública, pois o leite é um alimento importante e benéfico na dieta humana e, portanto, muito consumido principalmente pelas crianças. A legislação brasileira apenas estabelece os limites máximos aceitáveis para alguns metais tóxicos em alimentos, porém não há uma fiscalização periódica que avalie o seu cumprimento.

5. REFERÊNCIAS

ALVES, S.M.S.; SILVA, E.S.; MATIAS, G.F.; NEVES, D.M.; ARAÚJO, M.R.; LIMA, E.S.; ARAÚJO, M.S.L.C. **Avaliação da qualidade hidroambiental do rio Una em um trecho de São Bento do Una, Agreste pernambucano.** Anais do Congresso Nordestino de Biólogos (Congrebio). João Pessoa, 2017. Disponível em: <<http://congresso.rebibio.net/congrebio2017/trabalhos/pdf/congrebio2017-et-09-011.pdf>>.

Acesso em 20 jan. 2019.

ANDREAZZA, R.; CAMARGO, F.A.O.; ANTONIOLLI, Z.I.; QUADRO, M.S.; BARCELOS, A.A. Biorremediação de áreas contaminadas com cobre. **Revista de Ciências Agrárias**, v.36, n.2, p.127-136, 2013.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 42, de 29 de agosto de 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0042_29_08_2013.pdf/c5a17d2d-a415-4330-90db-66b3f35d9fbd>. Acesso em 20 jan. 2019.

APAC, 2019. **Agência Pernambucana de Águas e Clima.** Bacias Hidrográficas. Disponível em: <http://www.apac.pe.gov.br/pagina.php?page_id=5&subpage_id=17>. Acesso em 27 jan. 2019.

ARAÚJO, L.B. Influência dos municípios pernambucanos na poluição da bacia do rio Mundaú com esgoto doméstico. **Revista Especialize On-line IPOG**, v.1, n.7, p.1-13, 2014.

ARSLAN, H.H.; SARIPINAR AKSU, D.S.; OZDEMIR, S.; YAVUZ, O.; OR, M.E.; BARUTCU, U.B. Evaluation of the relationship of blood heavy metal trace element levels and antioxidative metabolism in cattle which are living near the trunk roads. **Journal of the Faculty of Veterinay Medicine, Kafkas University**, v.17, p.77-82, 2011.

BAIRD, C. **Química ambiental.** 2ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

BARBOSA, J.D.; BONJARDIM, H.A.; CAMPOS, K.F.; DUARTE, M.D.; BEZERRA JÚNIOR, P.S.; GAVA, A.; SALVARANI, F.M.; OLIVEIRA, C.M.C. Lead poisoning in cattle and chickens in the state of Pará, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, n.11, p.1077-1080, 2014.

BARROS, R.G.; DIAS, P.P.; ARAÚJO, V.K.A. Investigação de passivo ambiental na água do aterro sanitário de Hidrolândia, GO. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v.19, n.3, p.73-82, 2015.

BDE, 2000. **Base de Dados do Estado**. Divisão Territorial. Divisão Político-Administrativa e Regional. Relação dos municípios por região de desenvolvimento. Disponível em: <http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?codFormatacao=695&CodInformacao=798&Cod=1>. Acesso em 27 jan. 2019.

BDE, 2017. **Base de Dados do Estado**. Agropecuária. Vacas Ordenhadas e Produção de Leite. Disponível em: <http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?codFormatacao=401&CodInformacao=474&Cod=3>. Acesso em 20 de jan. 2019.

BLANCO-PENEDO, I.; LUNDH, T.; HOLTERIUS, K.; FALL, N.; EMANUELSON, U.. The status of essential elements and associations with milk yield and the occurrence of mastitis in organic and conventional dairy herds. **Livestock Science**, v.168, p.120-127, 2014.

BOUTAKHRIT, K.; CLAUS, R.; BOLLE, F.; DEGROODT, J.M.; GOEYENS, L. Open digestion under reflux for the determination of total arsenic in seafood by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with hydride generation. **Talanta**, v.66, p.1042-1047, 2005.

BRAGA, B. **Introdução à engenharia ambiental**. 2ª ed. São Paulo: Prentice Hall, 2002.

BUTCHER, D.J. Advances in inductively coupled plasma optical emission spectrometry for environmental analysis. **Instrumentation Science e Technology**, v.38, n.6, p.458-469, 2010.

CHAND, N; TYAGI, S.; PRASAD, R.; SIROHI, A.S.; SRIVASTAVA, N.; KUMAR, S.; YADAV, B.P.S. Heavy metal and trace mineral profile in blood and hair of cattle reared around industrial effluent contaminated area. **Journal of Animal Research**, v.7, n.4, p.685-689, 2017.

CASTRO, J.T. **Estratégias analíticas para determinação de metais e ametais em amostras de café por espectrometria atômica**. 2007. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Bahia.

CELERE, M.S.; OLIVEIRA, A.S.; TREVILATO, T.M.B.; MUÑOZ, S.I.S. Metais presentes no chorume coletado no aterro sanitário de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, e sua relevância para saúde pública. **Caderno de Saúde Pública**, v.23, n.4, p.939-947, 2007.

COMPESA, 2016. **Companhia Pernambucana de Saneamento**. Plano de Comunicação do Programa de Saneamento Ambiental da Bacia Hidrográfica do Rio Ipojuca. Volume I: Mapeamento, Análises das Áreas e dos Públicos. Disponível em: <https://servicos.compesa.com.br/wp-content/uploads/2016/02/volume1_plano_executivo-ilovepdf-compressed.pdf>. Acesso em 20 jan. 2019.

COWAN, V.; BLAKLEY, B. Acute lead poisoning in western Canadian cattle – A 16-year retrospective study of diagnostic case records. **Canadian Journal Veterinary Research**, v.57, p.421-426, 2016.

D'AGUIAR, A.E.F.; FREITAS, J.B.P.; MORRONE, L.C. Estudo dos riscos ocupacionais na operação de remediação ambiental em área contaminada por cádmio. **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho**, v. 4,5, 6, p.12-19, 2009.

DUFFUS, J.H. “Heavy Metals” – A meaningless term?. **Pure Applied Chemistry**, v.74, n.5, p.793-807, 2002.

EKICI, H.; SIMSEK, Ö.; ARIKAN, S.; EREN, M.; GÜNER, B. Comparing levels of certain heavy metals and minerals and oxidative metabolism in cows raised near and away from highways. **Turkish Journal Veterinary and Animal Sciences**, v.39, p.322-327, 2015.

GARBA, S.T.; ABDULLAHI, S.; ABDULLAHI, M. Heavy metal content of cow's milk from Maiduguri Metropolis and its environs, Borno State Nigeria. **American Journal of Engineering Research**, v.7, p.63-73, 2018.

GOMES, A.C.S.; LINDINO, C.A.; GONÇALVES JÚNIOR, A.C.; GOMES, G.D. Determinação de Cd, Cr e Pb no leite e na alimentação bovina do Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.72, n.3, p.211-218, 2013.

GOMES, R.C.; FEIJÓ, G.L.D.; CHIARI, L. **Evolução e Qualidade da Pecuária Leiteira**. EMBRAPA Gado de Corte – Nota Técnica, p.1-4, 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/10180/21470602/EvolucaoQualidadePecuaria.pdf/64e8985a-5c7c-b83e-ba2d-168ffaa762ad>>. Acesso em 15 mar. 2019.

GONÇALVES JÚNIOR, A.C.; SOUSA, R.F.B.; COELHO, G.F.; GUIMARÃES, V.F.; SCHWANTES, D.; SILVA, T.R.B.; SANTOS, M.G.; PARIZOTTO, A.A.; SELZLEIN, C.; CAMPAGNOLO, M.A. Dinâmica dos metais Cd e Pb no solo e a capacidade de adaptação das plantas em ambientes contaminados. **Journal of Agronomic Sciences**, v.4, p.31-55, 2015.

GRIGOLETTO, T.L.B.; FUZARI, B.H.C.; ANDRADE, A.R.; CAMPOS, M.L.A.M. Fatores químicos e físicos que afetam a contaminação por chumbo e cobre em água potável: uma abordagem para o estudo de caso em química analítica. **Química Nova**, v.35, n.10, p.1995-2001, 2012.

GUAGNINI, F.S.; CORREA, A.; PESCADOR, C.A.; COLODEL, E.M.; PANZIERA, W.; DALTO, A.; DRIEMEIER, D. Intoxicação por chumbo em bovinos mantidos em área de treinamento militar. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.46, p.1-5, 2018.

HARRIS, D.C. **Quantitative chemical analysis**. 6ªed. New York: WH Freeman, 2003.

HAWKES, S.J. What is a heavy metal?. **Journal of Chemical Education**, v.74, n.11, p.1374, 1997.

HOLLER, F.J.; SKOOG, D.A.; CROUCH, S.R. **Princípios de análise instrumental**. 6ªed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

HYPOLITO, R.; EZAKI, S. Íons de metais pesados em sistema solo-lixo-chorume-água de aterros sanitários da região metropolitana de São Paulo-SP. **Águas Subterrâneas**, v.20, n.1, p.99-114, 2006.

IBGE, 2017. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Pesquisa da Pecuária Municipal. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=resultados>>. Acesso em 08 jan. 2019.

IBGE, 2019. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Brasil em Síntese. Disponível em: <<https://brasilemsintese.ibge.gov.br/agropecuaria.html>>. Acesso em 15 jan. 2019.

INÁCIO, M.; NEVES, O.; PEREIRA, V.; SILVA, E. Concentração de As, Cu, Hg e Zn em solos e produtos agrícolas (*Brassica oleracea L.*, *Lycopersicon esculentum Mill* e *Zea mays L.*) numa área industrial no NW de Portugal. **Revista de Ciências Agrárias**, v.36, n.2, p.229-237, 2013.

LANDRIGAN, P.J. The worldwide problem of lead in petrol. **Bulletin of the World Health Organization**, v.80, n.10, p.768, 2002.

LEE, J.D.; **Química inorgânica não tão concisa**. 5ª ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2003.

LEONIDIS, A.; CRIVINEANU, V.; GORAN, G.V.; CODREANU, M.D. The level heavy metals in blood and milk from cattle farmed near polluting industries in the Province of Thessalonic. **Lucrări Stiintifice Medicină Veterinară**, v.43, p.153-158, 2010.

LIMA, V.F.; MERÇON, F. Metais pesados no ensino da química. **Química Nova na Escola**, v.33, n.4, p.199-205, 2011.

LÓPEZ ALONSO, M.; BENEDITO, J.L.; MIRANDA, M.; CASTILO, C.; HERNÁNDEZ, J.; SHORE, R.F. Arsenic, cádmium, lead, copper and zinc in cattle from Galicia, NW Spain. **The Science of the Total Environment**, v.246, p.237-248, 2000.

LUKAS, M. Comparison of spectrometric techniques for the analysis of liquid gas turbine fuels. **Journal of Engineering for Gas Turbines and Power**, v.115, p.620-627, 1993.

MAHAJAN, V.E.; YADAV, R.R.; DAKSHINKAR, N.P.; DHOOT, V.M.; BHOJANE, G.R.; NAIK, M.K.; SHRIVASTAVA, P.; NAOGHARE, P.K.; KRISHNAMURTHI, K. Influence of mercury from fly ash on cattle reared nearby thermal power plant. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.184, p.7365–7372, 2012.

MARÇAL, W.S. Intoxicação por chumbo em gado bovino em zona rural próxima a indústria metalífera. **Veterinária Notícias**, v.11, n.1, p.87-93, 2005.

MARCOLINO, G.V. **Detecção de metais pesados em leite integral cru de vacas criadas no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco**. 2014. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco.

MELQUIADES, F.L.; ALMEIDA, E.; PERES, J.A.; SMUCZEK, B.; WOUK, L.C. Análise de metais pesados em sangue de bovinos e no ambiente de criação de bovinos por XRF. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v.13, n.1, 2011.

MORAES, D.P.; BIZZI, C.A.; NÓBREGA, J.A.; FLORES, E.M.M.; NOGUEIRA, A.R.A.; BARIN, J.S.; MESKO, M.F. **Preparo de amostras assistido por radiação micro-ondas**. In: KRUG, F.J.; ROCHA, F.R.P. Métodos de preparo de amostras para análise elementar. 2ªed. São Paulo: Editora SBQ – Sociedade Brasileira de Química, cap. 10, p.315-383, 2016.

MONTASER, A.; GOLIGHTLY, D.W. **Inductively coupled plasma in analytical atomic spectroscopy**. 1ªed. New York: VCM Publisher, 1992.

NASCIMENTO, S.P.G.; SANTOS, J.R.U.; SANTOS, E.O.; PINTO, J.E.S.S. **Fatores da degradação ambiental da bacia hidrográfica do Rio Ipanema**. 4º GeoAlagoas: Simpósio sobre as geotecnologias e geoinformação no Estado de Alagoas. Maceió, 2016. Disponível em: <http://dados.al.gov.br/dataset/335fcc77-1d45-4ad6-9542-c29330187507/resource/3e76ccce-a6a5-44dc-b354-2680743ef685/download/fatoresdadegradacaoambientaldabaciahidrograficadorioipanema.pdf> >. Acesso em 20 jan. 2019.

NOROUZIRAD, R.; GONZÁLEZ-MONTAÑA, J.R.; MARTÍNEZ-PASTOR, F.; HOSSEINI, A.S.; KHABAZKHOOB, M.; MALAYERI, F.A.; BANDANI, H.M.; PAKNEJAD, M.; FOROUGHI-NIA, B.; MOGHADDAM, A.F. Lead and cadmium levels in raw bovine milk and dietary risk assessment in areas near petroleum extraction industries. **Science of the Total Environment**, v.365, p.308-314, 2018.

NUNES, R.M.; OLIVEIRA, R.M.S.; BENINI, S.M. **Avaliação do risco do cromo presente no lodo de indústrias de curtume**. VIII Fórum Ambiental de Alta Paulista, v.8, n.12, p.222-232, 2012. Disponível em: http://www.amigosdanatureza.org.br/publicacoes/index.php/forum_ambiental/article/view/368/379>. Acesso em 15 mar. 2019.

NWUDE, D.O.; OKOYE, P.A.C.; BABAYEMI, J.O. Blood heavy metal levels in cows at Slaughter at Awka Abattoir, Nigeria. **International Journal of Dairy Science**, v.5, n.4, p.264-270, 2010.

OGABIELA, E.E.; YEBPELLA, G.G.; ADESINA, O.B.; UDIBA, U.U.; ADE-AJAYI, F.A.; MAGOMYA, A.M.; HAMMUEL, C.; GANDU, I.; MMEREOLE, U.J.; ABDULLAHI, M. Assessment of metals levels in cow blood from cow's grazed around Zango, Zaria and Challawa Industrial Estate, Kano – Nigeria. **Journal Applied Environmental Biological Sciences**, v.1, n.4, p.69-73, 2011.

OLIVEIRA FILHO, E.F. **Aspectos nutricionais em cordeiros: surto de ataxia enzoótica em cordeiros e resposta metabólica de cordeiros recebendo dietas com diferentes níveis de glicerina bruta.** 2016. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco.

ORISAKWE, O.E.; OLADIPO, O.O.; AJAEZI, G.C.; UDOWELLE, N.A. Horizontal and vertical distribution of heavy metals in farm produce and livestock around lead-contaminated goldmine in Dareta and Abare, Zamfara State, Northern Nigeria. **Journal of Environmental and Public Health**, v.2017, p.1-12, 2017.

ORJALES, I.; HERRERO-LATORRE, C.; MIRANDA, M.; REY-CRESPO, F.; RODRÍGUEZ-BERMÚDEZ, R.; LÓPEZ-ALONSO, M. Evaluation of trace element status of organic dairy cattle. **Animal**, v.12, n.6, p.1296-1305, 2018.

PHA, 2010. **Plano Hidroambiental da bacia hidrográfica do rio Capibaribe: Resumo Executivo/Projetos Técnicos.** Recife, 2010. Disponível em: http://www.apac.pe.gov.br/down/PHA_Capibaribe_TOMO_V_Mapas.pdf. Acesso em 20 jan. 2019.

PILARCZYK, R.; WÓJCIK, J.; CZERNIAK, P.; SABLİK, P.; PILARCZYK, B.; TOMZAMARCINIĄK, A. Concentrations of toxic heavy metals and trace elements in raw milk of Simmental and Holstein-Friesian cows from organic farm. **Environmental Monitoring Assessment**, v.185, p.8383-8392, 2013.

QIN, L.Q.; WANG, X.P.; LI, W.; TONG, X.; TONG, W.J. The minerals and heavy metals in cow's milk from China and Japan. **Journal of Health Science**, v.55, n.2, p.300-305, 2009.

REZENDE, H.C.; FREITAS, A.P.; COELHO, N.M.M.; ARAÚJO, C.S.T. **Extração de Cd, Pb, Cu e Ni em fertilizantes fosfatados empregando radiação ultrasônica.** 52º Congresso Brasileiro de Química. Química e Inovação: Caminho para a Sustentabilidade. Recife, 2012. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2012/trabalhos/4/1659-14337.html>. Acesso em 08 jan. de 2019.

RIBEIRO, E.V.; MAGALHÃES JÚNIOR, A.P.; HORN, A.H.; TRINDADE, W.M. Metais pesados e qualidade da água do rio São Francisco no segmento entre Três Marias e Pirapora – MG: índice de contaminação. **Geonomas**, v.20, n.1, p.49-63, 2012.

SANTOS, N.V.M.; SARKIS, J.E.S.; GUERRA, J.L.; MAIORKA, P.C.; HORTELANI, M.A.; SILVA, F.F.; ORTOLANI, E.L. Avaliação epidemiológica, clínica, anatomopatológica e etiológica de surtos de ataxia em cabritos e cordeiros. **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1207-1213, 2006.

SILVA, T.; AGUIAR, G.; CARVALHO, F.; SIMÕES, S.; MIRANDA NETO, E.; DANTAS, A.; SOARES, P.; RIET-CORREA, F. Surtos de deficiência de cobre em ruminantes na região semiárida da Paraíba, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.4, p.1955-1960, 2014.

SILVA JÚNIOR, S.S.; ANTONELLI, A.C.; SOARES, G.W.N.; GOMES, I.M.M.; ROCHA FILHO, J.F. Determinação de cobre e outros minerais em caprinos e ovinos criados no Sertão do vale do rio São Francisco, Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.9, p.767-774, 2015.

SOUZA, R.M. **Determinação de elementos refratários em óleo lubrificante usado e em óleo combustível por ICP-OES após emulsificação da amostra**. 2003. Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica.

SOUZA, R.M.P.; LEÃO, V.A.; PINA, P.S. Remoção de metais pesados em resíduos sólidos: o caso das baterias de celular. **Revista Escola de Minas**, v.58, n.4, p.375-379, 2005.

SOUZA, M.V.; VIANNA, M.W.S.; ZANDIM, B.M.; FERNANDES, R.B.A.; FONTES, M.P.F. Metais pesados em amostras biológicas de bovinos. **Ciência Rural**, v.39, n.6, p.1774–1781, 2009.

SNEDDON, J.; VINCENT, M.D. ICP-OES and ICP-MS for the determination of metals: application to oysters. **Analytical Letters**, v.41, p.1291-1303, 2008.

SUTTLE, N.F. **Mineral nutrition of livestock**. 4^a ed. Pondicherry: Mixed Sources, 2010.

SWARUP, D.; PATRA, R.C; NARESH, R.; KUMAR, P.; SHEKHAR, P. Blood lead levels in lactating cows reared around polluted localities; transfer of lead into milk. **Science of the Total Environment**, v.349, p.67–71, 2005.

TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V.; BARBOSA, J.D.; BRITO, M.F.; DÖBEREINER, J. **Deficiências Minerais em Animais de Produção**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2010.

TOMZA-MARCINIAK, A.; PILARCZYK, B.; BAKOWSKA, M.; PILARCZYK, R.; WÓJCIK, J. Heavy metals and other elements in serum of cattle from organic and conventional farms. **Biological Trace Element Research**, v. 143, p. 863 – 870, 2011.

TORO, L.M.H. **Riscos para a saúde humana resultantes da exposição ao cobre**. Grupo Técnico Regional – Águas de Consumo Humano, p.1-4, 2012. Disponível em: <https://www.google.com/search?rlz=1C2CAFA_enBR646BR646&ei=VqCLXIXwGNqf5OUPrJy4oAo&q=Riscos+para+a+sa%C3%BAde+humana+resultantes+da+exposi%C3%A7%C3%A3o+ao+cobre.&oq=Riscos+para+a+sa%C3%BAde+humana+resultantes+da+exposi%C3%A7%C3%A3o+ao+cobre.&gs_l=psy-ab.3...6430.7089..7965...0.0..0.201.201.2-1.....0....1j2..gws-wiz.....0..0i71.G1hN3FWm234>. Acesso em 15 mar. 2019.

TREVIZAN, L.C. **Avaliação das condições operacionais de espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente com configuração axial**. 2007. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos.

TREVIZAN, L.C.; NÓBREGA, J.A.; Inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axially viewed configuration: na overview of applications. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v.18, n.4, p.678-690, 2007.

VALLS, M.; LORENZO, V. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacterium for remediation of heavy metal pollution. **FEMS Microbiology Reviews**, v.26, p.327-338, 2002.

VILELA, D.; FERREIRA, R.P.; FERNANDES, E.N.; JUNTOLLI, F.V. **Pecuária de Leite no Brasil – Cenários e Avanços Tecnológicos**. 1ª ed. Brasília: Embrapa, 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164236/1/Pecuarria-de-leite-no-Brasil.pdf>>. Acesso em 26 fev. 2019.

6. ARTIGOS CIENTÍFICOS

6.1. Artigo 1

Análise epidemiológica da presença de cobre e ferro no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil

Alexandre Tadeu Mota Macedo, Rodolpho Almeida Rebouças, Uila Almeida Aragão de Alcantara, Felipe Rosendo Correia, Paulo Ricardo da Silva, Natália Juliane Araújo de Sant'ana, Ana Paula Silveira Paim, Júnior Mário Baltazar de Oliveira, José Augusto Bastos Afonso e Pierre Castro Soares

RESUMO

Objetivou-se realizar uma análise epidemiológica relacionada à presença de cobre (Cu) e ferro (Fe) no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Agreste do Estado de Pernambuco. Para a detecção de Cu foram utilizadas 309 amostras de soro sanguíneo de vacas leiteiras provenientes de 25 propriedades, distribuídas em 11 municípios do Agreste pernambucano. Para a pesquisa de Fe utilizou-se 318 amostras, oriundas de 26 fazendas, de 12 municípios. Foram amostradas vacas mestiças, em lactação, provenientes de rebanhos do Agreste Central e Meridional. Um questionário epidemiológico foi aplicado em cada propriedade rural com a finalidade de identificar os possíveis fatores de risco associados à presença dos elementos nas amostras biológicas. O soro sanguíneo foi submetido à digestão por radiação micro-ondas e, posteriormente, os oligoelementos determinados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), empregando a curva analítica de 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 8,0 e 10 mg/l. Os fatores de risco associados à presença de Cu e Fe nas amostras de soro sanguíneo identificados estavam relacionados predominantemente ao manejo nutricional e sistema de criação dos rebanhos. O conhecimento destes fatores de risco fornece subsídios para a adoção de práticas que tenham por objetivo o controle de possíveis deficiências e/ou intoxicações pelos metais, aumentando a produtividade e a rentabilidade dos rebanhos.

Palavras-chave: bovinos, diagnóstico, epidemiologia, metais, profilaxia.

ABSTRACT

The objective of this study was to conduct an epidemiological analysis related to the presence of copper (Cu) and iron (Fe) in the blood serum of dairy cows from Agreste of the State of Pernambuco. For the detection of Cu, 309 blood serum samples from dairy cows from 25 properties were used of 11 cities in the Agreste of Pernambuco. For the Fe research, 318 samples from 26 farms of 12 cities were used. Lactating crossbred cows from the Central and Meridional Agreste regions were used. An epidemiological questionnaire was applied in each property in order to identify the possible risk factors associated with the presence of the

elements in the biological samples. The blood serum was subjected to digestion by microwave radiation and, subsequently, the trace elements determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES), using the analytical curve of 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 8.0 and 10 mg/l. The risk factors associated with the presence of Cu and Fe in the serum samples identified were predominantly related to the nutritional management and herd creation system. Knowledge of these risk factors provides support for the adoption of practices that aim to control possible deficiencies and/or intoxications, increasing the productivity and profitability of the herds.

Keywords: cattle, diagnosis, epidemiology, metals, prophylaxis.

INTRODUÇÃO

A pecuária nacional é uma das bases para muitas cadeias produtivas de elevado peso no agronegócio (IBGE, 2019). Em 2015, o Brasil chegou a possuir o maior rebanho bovino do mundo, com cerca de 209 milhões de cabeças, sendo o segundo maior consumidor e exportador de carne bovina (GOMES; FEIJÓ; CHIARI, 2017). Com relação à produção leiteira, entre os anos de 2002 e 2014 observou-se uma forte expansão da atividade. Durante este período, a produção de leite cresceu 62,5%, com um aumento de 4,1% ao ano, enquanto que o número de vacas ordenhadas aumentou em 22,7% (VILELA et al., 2016). De acordo com a Pesquisa da Pecuária Municipal, a produção de leite no Brasil supera 33 bilhões de litros, destes a região Nordeste produz mais de dois bilhões de litros. Pernambuco, por sua vez, possui uma produção de mais de 795 milhões de litros de leite, o que representa em termos financeiros mais de R\$ 1 bilhão para a economia do Estado (IBGE, 2017).

O sucesso da pecuária passa por uma série de medidas, sobretudo relacionadas ao manejo nutricional, sanitário e reprodutivo dos animais adotados nas propriedades, a fim de que sejam controladas situações que causem prejuízos econômicos sérios, em virtude da redução da produtividade dos bovinos ou que constituam obstáculos à melhoria dos rebanhos. Nesse contexto, os minerais são de fundamental importância, pois exercem várias funções no organismo animal. Eles participam como componentes estruturais de tecidos, além disso, atuam como eletrólitos para a manutenção do equilíbrio ácido-básico, da pressão osmótica e da permeabilidade das membranas celulares, e ativam processos enzimáticos ou integram a estrutura de metaloenzimas ou vitaminas (TOKARNIA et al., 2010).

O cobre (Cu) e o ferro (Fe) são denominados microelementos, oligoelementos ou elementos-traços porque são necessários aos animais em pequenas quantidades. O Cu é fundamental para a formação da hemoglobina, importantes enzimas como a ceruloplasmina,

citocromo-oxidase, dopamina-beta-hidrolixase, lisil oxidase, Cu-Zn superóxido dismutase e tiroxinase são cobre-dependentes. Estas enzimas, por sua vez, desempenham papéis fundamentais no transporte de Fe, na transferência de elétrons da cadeia respiratória, no metabolismo das catecolaminas, na formação de tecido conjuntivo, eliminação de radicais livres e na pigmentação dos pelos (TOKARNIA et al., 2010). A deficiência de Cu em ruminantes pode levar a ataxia, anormalidades nos pelos, despigmentação, anemia, distúrbios ósseos, no tecido conjuntivo e cardiovasculares, diarreia, suscetibilidade à infecções, infertilidade e retardo no crescimento (SUTTLE, 2010). Já a intoxicação pelo metal caracteriza-se por hemoglobinemia e hemoglobinúria súbitas, icterícia acentuada e morte entre um e três dias (SUTTLE, 2010; TOKARNIA et al., 2010).

O Fe é conhecido principalmente por sua função estrutural na molécula de hemoglobina, porém este metal tem diversas outras funções de significado vital como, por exemplo, é um dos constituintes das citocromo-oxidases, participa do processo de ativação da succinato desidrogenase, faz parte de proteínas estruturais como a mioglobina e enzimas, como catalases, peroxidases e hidrolases (TOKARNIA et al., 2010). A privação de Fe pode levar a anemia, hipertrofia cardíaca, hipotireoidismo, disfunção cognitiva e suscetibilidade à infecções. A toxicidade do elemento, por sua vez, está ligada a interações com a vitamina E e ácidos graxos poli-insaturados, fontes adventícias do metal, tolerância ao Fe na dieta e interações adversas com outros elementos. O Fe livre é citotóxico devido ao seu alto potencial de oxidação-redução e capacidade de gerar radicais livres. O Fe reativo pode causar dano peroxidativo em órgãos como o fígado, quando os estoques no tecido se tornam excessivos durante a sobrecarga crônica (SUTTLE, 2010).

Alguns autores determinaram concentrações de Cu e Fe no sangue de bovinos associadas a fatores como as estações do ano (SOUZA et al., 2009; NWUDE; OKOYE; BABAYEMI, 2010), sistemas de criação (TOMZA-MARCINIAK et al., 2011^a; ORJALES et al., 2018), contaminação ambiental (OGABIELA et al., 2011), distância em relação à rodovias (ARSLAN et al., 2011; EKICI et al., 2015) e rios contaminados por efluentes industriais (CHAND et al., 2017). Há outros trabalhos em que o Cu sanguíneo em bovinos foi associado ao sexo e a idade dos animais (LÓPEZ-ALONSO et al., 2000), local de criação (SOUZA et al., 2009), a áreas não poluídas (TOMZA-MARCINIAK et al., 2011^b) e contaminadas (ORISAKWE et al., 2017).

Apesar de pesquisas descreverem a ocorrência de Cu e Fe em amostras biológicas de bovinos, estudos dos fatores de risco associados à presença de metais no soro sanguíneo desta espécie são escassos, principalmente no Agreste de Pernambuco. Devido a importância

e impacto destes metais para a bovinocultura leiteira e a carência de dados epidemiológicos sobre este tipo de estudo, objetivou-se analisar os fatores de risco associados ao Cu e Fe no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada com a licença da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) nº 29/2017. O estudo epidemiológico empregado neste trabalho foi do tipo transversal. Para o cálculo amostral considerou-se um efetivo de 55.945 vacas em produção do Agreste Central de Pernambuco. Este dado foi fornecido mediante solicitação realizada ao escritório da Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária do Estado de Pernambuco (ADAGRO), localizado no município de Garanhuns, em 2016. A prevalência esperada foi de 50% para a presença de Cu e Fe, intervalo de confiança de 95% e erro estatístico de 10%. Estes parâmetros forneceram um tamanho da amostra (n) a ser examinado de 97 vacas (THRUSFIELD, 2004).

As amostras biológicas foram obtidas entre 18 de maio e 09 de dezembro de 2017. Para a detecção de Cu foram utilizadas 309 amostras de soro sanguíneo de vacas leiteiras provenientes de 25 propriedades, distribuídas em 11 municípios do Agreste pernambucano. Para a pesquisa de Fe utilizou-se 318 amostras, oriundas de 26 fazendas, de 12 municípios. Foram coletadas amostras de vacas mestiças, em lactação, provenientes de rebanhos do Agreste Central (Sanharó, Pesqueira, Alagoinha, Poção, Belo Jardim, São Bento do Una, Cachoeirinha e Caruaru) e Agreste Meridional (Venturosa, Garanhuns e Pedra), no caso do Cu. Com relação ao Fe, além dos municípios supracitados, houve também a participação da cidade de Tacaimbó, situada no Agreste Central. As propriedades foram selecionadas em virtude do beneficiamento pelas águas dos rios Ipojuca, Ipanema, Mundaú, Capibaribe e Una. Os proprietários foram submetidos a uma entrevista, tomando como base um questionário epidemiológico com informações relacionadas à localização, sistema de criação, manejo nutricional, mineralização, fontes hídricas, maquinário agrícola, utilização de produtos químicos, proximidade de rodovias, lixões ou aterros sanitários e indústrias. Amostras de sangue foram coletadas de animais que consumiam a água, pastavam às margens ou que se alimentavam de forragem submetida à irrigação pelas águas dos rios selecionados. A seleção das propriedades ocorreu por conveniência e a coleta das amostras dentro dos rebanhos foi realizada de forma aleatória.

A coleta de sangue foi realizada pela venopunção da veia jugular, mamária ou coccígea, em tubos a vácuo siliconizados (Vacutainer[®]) sem anticoagulante. As amostras foram acondicionadas sob refrigeração em caixa isotérmica (4°C) e encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica da Clínica de Bovinos, campus Garanhuns, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CBG/UFRPE). Após a retração do coágulo, os tubos foram centrifugados a 1600 G por 15 min para obtenção do soro, que foi distribuído em tubos cônicos de polipropileno (Eppendorf[®]) e mantidos em freezer (-30°C) para posterior processamento laboratorial.

Inicialmente realizou-se o preparo das amostras assistido por radiação micro-ondas, colocando-se 1 ml de soro sanguíneo em frascos digestores de perfluoralcóxi (PFA) e adicionando 5 ml de ácido nítrico (HNO₃ a 65% PA), de acordo com Ekici et al. (2015). A digestão foi realizada pelo equipamento Multiwave 3000 Anton Paar[®], durante 17 minutos (etapa 1: 100 °C – 10 min, etapa 2: 140 °C – 2 min e etapa 3: 30 °C – 5 min) e 30 minutos para o resfriamento dos frascos digestores. Posteriormente foi acrescido 8 ml de água proveniente de osmose reversa para cada amostra analisada e, em seguida, armazenada em tubos coletores cônicos de polietileno (Falcon[®]) com capacidade para 14 ml. O procedimento foi realizado no Laboratório de Doenças Metabólicas e Nutricionais do Centro de Estudos Avançados em Caprinos e Ovinos do Departamento de Medicina Veterinária (LDMN/DMV) da UFRPE.

A determinação de Cu e Fe ocorreu por meio de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), utilizando-se aparelho modelo ICP OES Optima 7000 DV (PerkinElmer, EUA[®]). Os parâmetros utilizados na análise pelo ICP OES estão descritos na tabela 1. A curva analítica utilizada (0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 8,0 e 10 mg/l) foi estabelecida na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (DQF) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), local onde foi realizada esta etapa do processamento das amostras. O limite inferior da curva analítica (0,5 mg/l) corresponde ao limite superior da faixa para a deficiência marginal de Cu ou limite inferior para a normalidade em bovinos. No que diz respeito ao Fe, o comportamento é semelhante, portanto, as concentrações de Cu e Fe presentes nas amostras de soro sanguíneo analisadas que encontravam-se abaixo de 0,5 mg/l não foram detectadas.

Tabela 1. Parâmetros utilizados na análise pelo ICP OES.

Parâmetros instrumentais	ICP OES
Potência RF (kW)	1,3
Vazão de gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,8
Vazão de gás auxiliar (L min ⁻¹)	0,2
Vazão de gás do plasma (L min ⁻¹)	15
Taxa de aspiração da amostra (mL min ⁻¹)	1,0
Tempo de integração (s)	8
Tempo de estabilização (s)	20
Tempo de leitura (s)	27
Nebulizador	Concêntrico
Câmara de nebulização	Ciclônica
Visão de plasma	Axial
Altura de observação (mm)	15
Pontos por pico	7
Comprimento de onda (nm)	Cu – 327,393; Fe – 238,204

Para o estudo dos fatores de risco associados ao Cu e Fe no soro sanguíneo dos animais avaliados, realizou-se uma análise de associação das variáveis epidemiológicas com os resultados obtidos através do ICP-OES, ou seja, detectado ($\geq 0,5$ mg/l) e não-detectado ($< 0,5$ mg/l). Os testes de Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher foram utilizados para esta análise de associação. Posteriormente, para a identificação dos fatores de risco utilizou-se o modelo de regressão logística considerando como variável dependente os resultados das análises do ICP-OES (detectado ou não-detectado). As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância estatística menor que 0,20 na análise de associação. Essa probabilidade foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não fossem excluídos da análise (HOSMER; LEMESHOW, 1989). O programa EpiInfoTM 7 foi utilizado como auxílio para os cálculos da análise dos fatores de risco. O nível de significância adotado foi de 5,0%.

RESULTADOS

Nas tabelas 2 e 3 são apresentadas as análises dos fatores de risco associados à detecção do Cu e Fe, respectivamente, no soro sanguíneo das vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco. O Cu foi detectado em 63,1% (195/309) das amostras de soro sanguíneo analisadas, em 100,0% dos municípios (11/11) e 72,0% das propriedades (18/25). Os fatores de risco associados à detecção de Cu nas amostras analisadas foram: região do Agreste Meridional (OR=2,4; I.C.=1,1-5,3; p=0,022), sistema de criação semi-intensivo (OR=33,3; I.C.=14,9-74,1; p<0,001), falta de suplementação mineral (OR=10,1; I.C.=1,3-77,2; p=0,025); utilização da água para irrigação (OR=2,1; I.C.=1,3-3,5; p=0,003); utilização de produtos químicos, como fertilizantes e/ou agrotóxicos (OR=1,7; I.C.=1,1-2,8; p=0,020) e proximidade das propriedades em relação às indústrias (OR=1,8; I.C.=1,1-3,1; p=0,022).

Tabela 2. Análise dos fatores de risco associados à detecção de Cu no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.

Variável	N	Detectado n (%)	Valor P	Regressão logística OR (IC 95%)	Valor P
Região					
Agreste Meridional	43	34 (79,1%)	0,019^{1*}	2,4 (1,1 – 5,3)	0,022*
Agreste Central	266	161 (60,5%)			
Sistema de criação					
Intensivo	75	8 (10,7%)	< 0,001^{1*}	33,3 (14,9 – 74,1)	<0,001*
Semi-intensivo	234	187 (79,9%)			
Mineralização					
Sim	292	179 (61,3%)	0,007^{1*}	10,1 (1,3 – 77,2)	0,025*
Não	17	16 (94,1%)			
Utilização de água para irrigação					
Sim	108	80 (74,1%)	0,003^{1*}	2,1 (1,3 – 3,5)	0,003*
Não	201	115 (57,2%)			
Utilização de produtos químicos					
Sim	176	116 (65,9%)	0,020*	1,7 (1,1 – 2,8)	0,020*
Não	113	59 (52,2%)			
Propriedade próxima a lixões ou aterros sanitários					
Sim	22	22 (100,0%)	< 0,001^{2*}	**	
Não	287	173 (60,3%)			
Propriedade próxima à indústrias					
Sim	92	67 (72,8%)	0,021^{1*}	1,8 (1,1 – 3,1)	0,022
Não	217	128 (59,0%)			
Acesso dos animais à área industrial					
Sim	33	33 (100,0%)	< 0,001^{2*}	**	
Não	276	162 (58,7%)			

N- Número total de amostras; n – número de amostras detectadas; OR – *Odds Ratio* (Razão de Chance); ¹Teste do Qui-quadrado de Pearson; ²Teste do Exato de Fisher; *Associação significativa ao nível de 5,0%; ** Não foi possível calcular o modelo de regressão logística.

O Fe foi detectado em 74,8% (238/318) das amostras de soro sanguíneo dos bovinos do Agreste do Estado, em 66,6% dos municípios (8/12) e 69,2% das propriedades (18/26). Os fatores de risco associados à detecção deste elemento no soro sanguíneo foram: proximidade das propriedades em relação às rodovias (OR=3,0; I.C.=1,7-5,2; $p<0,001$) e sistema de criação intensivo (OR=3,4; 1,6-7,3; $p=0,001$).

Tabela 3. Análise dos fatores de risco associados à detecção de Fe no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.

Variável	N	Detectado n (%)	Valor P	Regressão logística OR (IC 95%)	Valor P
Propriedades próximas à rodovias					
Sim	165	140 (84,8%)	< 0,001 ^{1*}	3,0 (1,7 – 5,2)	< 0,001*
Não	153	99 (64,7%)			
Sistema de criação					
Intensivo	83	74 (89,2%)	< 0,001 ^{1*}	3,4 (1,6 – 7,3)	0,001*
Semi-intensivo	235	165 (70,2%)			
Mineralização					
Sim	301	222 (73,7%)	0,008	**	
Não	17	17 (100,0%)			
Acesso dos animais ao maquinário agrícola					
Sim	40	40 (100,00%)	< 0,001 ^{2*}	**	
Não	278	199 (71,58%)			

N- Número total de amostras; n – número de amostras detectadas; OR – *Odds Ratio* (Razão de Chance); ¹Teste do Qui-quadrado de Pearson; ²Teste do Exato de Fisher; *Associação significativa ao nível de 5,0%; **Não foi possível calcular o modelo de regressão logística.

DISCUSSÃO

Foi possível observar que os metais avaliados estão amplamente distribuídos nas amostras de soro sanguíneo das vacas do Agreste de Pernambuco, porém 36,9% (114/309) dos animais encontravam-se numa faixa de deficiência marginal para o Cu (0,19-0,52 mg/l) e 25,2% (80/318) para o Fe (0,49-0,68 mg/l), pois todos os animais utilizados no presente estudo estavam aparentemente saudáveis. No que se refere aos bovinos em que o Cu foi detectado nas amostras biológicas, o resultado deve-se a um conjunto de fatores, são eles:

manejo nutricional, sistema de criação semi-intensivo, região do Agreste Meridional, utilização da água dos rios para irrigação de pastagens e/ou capineiras, além do uso de produtos químicos (fertilizantes e/ou agrotóxicos) nas propriedades, proximidade destas em relação a lixões e/ou aterros sanitários e acesso dos animais à áreas industriais. Quanto ao Fe, podem ser incluídos o sistema de criação intensivo, proximidade das propriedades de rodovias, acesso dos animais ao maquinário agrícola (fornageiras, tratores, entre outros), além do não fornecimento de sal mineralizado, assim como no caso do Cu.

As principais fontes de Cu para ruminantes são os alimentos, como silagem, feno, cereais e grãos (SUTTLE, 2010). Orjales et al. (2018) verificaram que a ração concentrada foi a principal fonte de Cu para vacas leiteiras de fazendas do norte da Espanha. Em relação ao Fe, grãos, sementes e forragens contêm concentrações altas e variadas do elemento, dependendo das espécies de plantas, condições do cultivo e do grau de contaminação por outras fontes exógenas (SUTTLE, 2010). Nos rebanhos positivos para a presença de Cu e Fe nas amostras biológicas, 94,4% (17/18) suplementavam a alimentação dos animais com concentrado e 55,5% (10/18) forneciam silagem de milho como opção de volumoso. Estas práticas no manejo alimentar podem ter contribuído para a alta taxa de detecção dos elementos no soro sanguíneo dos animais.

Além do conhecimento da presença dos elementos nos rebanhos, a análise dos fatores que podem contribuir para uma maior ou menor biodisponibilidade que leve à carência ou intoxicação pelos metais fornece informações importantes na implantação de estratégias para o controle de várias enfermidades. No presente estudo, foram identificados seis fatores de risco relacionados à detecção do Cu no soro sanguíneo dos bovinos, e dois ao Fe, no entanto, o sistema de criação foi um fator comum para ambos os metais.

O sistema de criação semi-intensivo era adotado em 88,8% (16/18) das propriedades em que o Cu foi detectado no soro sanguíneo das vacas. Este sistema de criação aumentou em 33,3 vezes (I.C.=14,9–74,1; $p<0,001$) a detecção do metal nas amostras analisadas. O resultado provavelmente está relacionado ao consumo do solo e pastagem pelos bovinos (SANTOS et al., 2006; SUTTLE, 2010). Em condições tropicais as gramíneas contêm mais Cu do que as leguminosas (SUTTLE, 2010). Quanto ao Fe, o sistema intensivo estava presente em 22,2% (4/18) das fazendas em que o metal foi identificado e aumentou em 3,4 vezes (I.C.=1,6–7,3; $p=0,001$) a sua detecção nas amostras biológicas. As vacas criadas intensivamente recebiam ração concentrada, cevada, silagem de milho, palma, bagaço-de-cana e cana moída, conseqüentemente, a alimentação foi o principal fator que contribui para o

resultado observado. De acordo com Suttle (2010), a maioria dos grãos de cereais, como cevada, milho, aveia e trigo são ricos em Fe.

A mineralização era realizada em 88,8% (16/18) e 94,4% (17/18) das propriedades em que o Cu e o Fe foram detectados no soro sanguíneo dos bovinos do presente trabalho, respectivamente. No entanto, foi a falta de suplementação mineral que influenciou na identificação dos metais, pois aumentou em 10,1 vezes (I.C.=1,3–77,2; $p=0,025$) a detecção do Cu. Com relação ao Fe não foi possível saber se a falta da suplementação mineral foi um fator de risco, uma vez que o elemento foi detectado em 100,0% (17/17) das amostras biológicas dos bovinos que não recebiam sal mineralizado, porém houve uma associação significativa ($p=0,008$). Apesar de contraditório, este resultado pode estar relacionado a algumas condições, como o tipo de sal mineral utilizado, regularidade da oferta, qualidade do sal (biodisponibilidade, ou seja, percentual da fonte do elemento utilizado para a confecção do sal), quantidade ofertada e fatores sazonais. Sabe-se que na época das chuvas os animais geralmente estão em pastagens, logo, devem ser suplementados os minerais que podem estar deficientes nestas, principalmente sódio (Na), fósforo (P), cobalto (Co), zinco (Zn), selênio (Se), além do Cu. Não se justifica suplementar com magnésio (Mg), potássio (K), enxofre (S), manganês (Mn) e Fe. No período da seca deve ser realizada uma suplementação com sal e microelementos necessários para a reprodução, como iodo (I), Mn, Zn, Se e Cu, e manter as funções do sistema imunológico, com Co, Zn, Se e Cu (TOKARNIA et al., 2010).

A presença de antagonistas do Cu no sal mineral também é um ponto fundamental a ser considerado, pois a capacidade de um alimento para atender aos requerimentos de Cu ou causar intoxicação crônica por este metal depende mais da capacidade de absorção do elemento do que de sua concentração no mesmo, uma vez que há interações com outros constituintes da ração, particularmente aqueles ricos em molibdênio (Mo), S, Zn e Fe. A absorção do Cu é determinada em grande parte pelo sincronismo entre a liberação do elemento e de seus potenciais antagonistas no rúmen. Quando a dieta é enriquecida com Mo e S formam-se complexos triplos, não absorvíveis, denominados tiomolibdatos (TMs) ou cuprotiomolibdatos (Cu-TMs). Os Cu-TMs associam-se à proteínas de alto peso molecular, principalmente albumina, formando um complexo insolúvel e, assim, a absorção do Cu é reduzida (VÁSQUEZ; HERRERA; SANTIAGO, 2001; SUTTLE, 2010). De acordo com Santos et al. (2006), quantidades altas de Zn e Fe na dieta interferem no metabolismo do Cu, os autores relataram um surto de ataxia enzoótica em cabritos e cordeiros no município de Surubim, situado no Agreste de Pernambuco, provocado pelo excesso de ingestão de Fe presente no solo e forragens, pelas fêmeas prenhas. O elevado consumo de Fe por ruminantes

interfere na absorção do Cu de duas formas, aumentando a sua combinação com o sulfeto no rúmen e/ou através da adsorção do Cu no trato gastrointestinal, formando um complexo insolúvel e provocando maior eliminação do Cu nas fezes (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

Além disso, Gomes et al. (2013) e Marçal, Nascimento e Menck (2015) pesquisaram a presença de elementos traço tóxicos em amostras de sal mineralizado para bovinos. Gomes et al. (2013) relataram concentrações de chumbo (Pb) acima de 30 mg/kg, que é o limite máximo aceitável do metal neste tipo de amostra, de acordo com a National Research Council (1980), além de cromo (Cr) e cádmio (Cd) acima de 1,0 mg/kg no sal mineral, portanto, muito elevados, indicando que o mesmo pode ser uma fonte de intoxicação para vacas em lactação. Em dez diferentes marcas de suplementos minerais para bovinos comercializados em Londrina, Estado do Paraná, seis apresentaram níveis de Pb superiores ao limite máximo aceitável, enquanto que para o Cd todas as amostras analisadas superaram o limite, de acordo com Marçal, Nascimento e Menck (2015). Estas informações são importantes, pois Chand et al. (2017) verificaram que níveis de Pb apresentaram uma correlação positiva significativa com o Cd no sangue de bovinos e negativa com o Fe, enquanto o Cd apresentou correlação negativa significativa com Cu e Fe. Os autores concluíram que o Pb e o Cd influenciaram a concentração de Cu e Fe no sangue dos animais, provavelmente pela capacidade destes metais tóxicos em interferir com a biodisponibilidade dos oligoelementos, competindo com eles e/ou inibindo a sua absorção intestinal.

A região do Agreste Meridional aumentou em 2,4 vezes (I.C.=1,1-5,3; p=0,022) a detecção de Cu no soro das vacas. Isto pode ter ocorrido pela influência de aspectos edafoclimáticos e poluição das águas dos rios da região, principalmente do Mundaú. Em relação ao clima, relevo e vegetação, os três municípios do Agreste Meridional e os oito do Agreste Central apresentam semelhanças entre si. Entretanto, existem particularidades principalmente quanto ao município de Garanhuns, que possui um clima tropical quente sub-úmido seco e vegetação composta por floresta subperenefólia e subcaducifólia, segundo a Base de Dados do Estado de Pernambuco (BDE, 2016; BDE, 2017). Além disso, o município possui uma altitude de aproximadamente 842 m, temperatura média de 20,4 °C e pluviosidade média anual de 873 mm, que é a maior entre os municípios analisados (BDE, 2019; CLIMATE-DATA, 2019).

De acordo com Suttle (2010), quantidades significativas de minerais podem ser introduzidas em ecossistemas através da atmosfera. O autor relata que a precipitação elevou a concentração de S em uma determinada área da Nova Zelândia, e que os teores do elemento diminuiriam exponencialmente com a distância em relação à costa. Há também pesquisas que

relacionam as concentrações do Cu à sazonalidade, como Souza et al. (2009) e Nwude, Okoye e Babayemi (2010). Souza et al. (2009) verificaram que houve efeito significativo da época de amostragem sobre as concentrações médias de Cu no soro sanguíneo de bovinos, pois nas coletas realizadas no verão os níveis do metal foram mais elevados do que no inverno. Nwude, Okoye e Babayemi (2010) observaram que as concentrações de Cu foram mais elevadas no sangue de vacas durante a estação seca, em relação à chuvosa e ao pico da estação chuvosa. No Agreste de Pernambuco, entre os meses de maio e dezembro de 2017, período de realização das coletas das amostras biológicas, foram registrados índices pluviométricos mais elevados em relação ao ano anterior para este mesmo período, de acordo com a Apac (2019). No entanto, a região Nordeste do Brasil vem passando por uma grave estiagem desde dezembro de 2011 que se intensificou durante o verão e outono de 2012, gerando um quadro de deficiência hídrica em quase todo o semiárido (INPE, 2019). Esse déficit hídrico permanece atualmente, e pode ter contribuído para o resultado observado no presente estudo.

No que diz respeito à poluição do rio Mundaú, Araújo (2014) relatou que quatro indústrias lançam cargas poluidoras remanescentes dos processos industriais nos cursos de água, além disso a bacia recebe alta carga de esgoto doméstico, pois não apresenta sistema de esgotamento sanitário necessário para atender a população geral, conseqüentemente a qualidade da água está sendo comprometida. Em Garanhuns, as amostras de sangue foram coletadas dos bovinos em uma área bastante contaminada, que recebia efluentes industriais provenientes de laticínios, e isso pode ter influenciado a presença do Cu no soro sanguíneo dos animais, uma vez que a matéria orgânica é fonte deste metal, de acordo com Celere et al. (2007).

Em 44,4% (8/18) das propriedades avaliadas, as águas dos rios eram ou já tinham sido utilizadas para realizar a irrigação de pastagens e/ou capineiras. A utilização da água dos rios na irrigação de pastagens e/ou capineiras aumentou em 2,1 vezes (I.C.=1,3–3,5; $p=0,003$) vezes a detecção do Cu sérico nas vacas analisadas. Grigoletto et al. (2012) identificaram contaminação relevante por Cu na água do município de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo, durante a sua distribuição, porém, mantendo-se dentro dos níveis aceitos pela legislação, que é de 2,0 mg/l, estabelecido pela Portaria nº 2914/2011, do Ministério da Saúde. Segundo os autores, a contaminação pelo Cu não se deu pela fonte da água, mas provavelmente pela passagem da mesma através de canos contendo este elemento. De acordo com Toro (2012), o Cu nas águas de consumo humano normalmente tem origem na corrosão de tubagens de edifícios, uma vez que este elemento é utilizado para o revestimento de válvulas, tubagens ou

ainda em ligas metálicas para a fabricação destes materiais. Ainda segundo o autor, as principais fontes de contaminação da água pelo Cu são a corrosão das instalações hidráulicas prediais e a erosão de depósitos naturais. Desta forma, a influência da água utilizada na irrigação das pastagens e/ou capineiras sobre a detecção do Cu no soro sanguíneo dos bovinos provavelmente se deu em virtude dos equipamentos utilizados para realizar a irrigação.

Os produtos químicos, como fertilizantes e/ou agrotóxicos, eram ou já haviam sido utilizados em 52,9% (9/17) das propriedades. A utilização de produtos químicos aumentou em 1,7 vezes (I.C.=1,1–2,8; $p=0,020$) a detecção de Cu nas amostras analisadas. O resultado verificado pode ter ocorrido pela presença do metal nestas substâncias e, conseqüentemente, pela incorporação deste ao solo e às plantas que as vacas tiveram acesso e consumiram. Os fertilizantes à base de fósforo, sulfurosos, nitrogenados e potássicos são fontes de minerais (SUTTLE, 2010). Através da radiação ultrassônica, Rezende et al. (2012) determinaram a presença de Cu em fertilizantes fosfatados. Segundo os pesquisadores, o elemento é oriundo das rochas fosfáticas utilizadas na sua produção, como não é removido no processo de manufatura, o elemento é lançado no solo junto com os fertilizantes. Inácio et al. (2013) verificaram a contaminação por Cu em solos agrícolas e no tomate recolhido de hortas particulares existentes nas proximidades do Complexo Químico de Estarreja (CQE), Distrito de Aveiro, localizado no litoral norte de Portugal, em que eram utilizados produtos agrícolas. Segundo Andrezza et al. (2013), áreas de cultivo de vinhas, por exemplo, são predispostas a uma potencial contaminação por Cu, devido a intensa e contínua aplicação de produtos agrícolas contendo este elemento em sua formulação.

Não foi possível saber se a proximidade das propriedades de lixões e/ou aterros sanitários poderia ser um fator de risco para a contaminação das amostras biológicas pelo Cu, pois o metal foi detectado em todos os animais dos rebanhos criados próximos a estes locais, porém houve uma associação significativa ($p<0,001$). O resultado pode estar relacionado à presença do elemento no chorume, que contamina o solo e a pastagem, sendo posteriormente ingeridos pelos bovinos. Hypolito e Ezaki (2006) caracterizaram o conteúdo de Cu em dois aterros sanitários da Região Metropolitana de São Paulo, e observaram que os solos impactados pelo contato com chorume de ambos os aterros, quando comparados aos solos tomados como referência, mostraram elevados teores do metal. Celere et al. (2007) verificaram a presença de Cu no chorume gerado no aterro sanitário de Ribeirão Preto, São Paulo. Para os autores, consideráveis quantidades de plásticos e matéria orgânica devem estar sendo depositados no aterro sanitário, uma vez que são fontes importantes deste elemento. Barros, Dias e Araújo (2015) detectaram a presença de Cu no aterro sanitário de Hidrolândia,

Goiás. Segundo os autores, não houve indícios suficientes que comprovassem a contaminação do solo analisado, apesar da grande variedade de resíduos depositados na área do aterro sanitário do município, como embalagens de produtos químicos, resíduos eletroeletrônicos e lâmpadas fluorescentes.

A proximidade das propriedades em relação às indústrias aumentou 1,8 vezes (I.C.=1,1–3,1; $p=0,022$) a detecção do Cu sanguíneo nas vacas do Agreste pernambucano, já a regressão logística para o acesso dos animais à área industrial não pôde ser calculada, pois o metal foi identificado em 100,0% (33/33) das amostras de soro analisadas dos animais que tinham acesso à áreas industriais, porém houve associação significativa ($p<0,001$). O resultado pode está diretamente relacionado à poluição atmosférica, do solo, água e pastagens provocada pelas indústrias, uma vez que outros autores descreveram resultados semelhantes. Souza et al. (2009) verificaram que houve efeito significativo da área de criação sobre as concentrações médias de Cu no soro de bovinos de três municípios do Estado de Minas Gerais. Segundo os autores, nas vacas criadas em áreas desprovidas de indústrias, os níveis séricos de Cu foram inferiores em relação aos animais que viviam próximos às siderúrgicas. Ogabiela et al. (2011) avaliaram os níveis de metais pesados no sangue de vacas que pastavam ao redor do parque industrial de Challawa e em uma área moderadamente poluída de Zaria, na Nigéria, e segundo eles, elevadas concentrações de Cu foram observadas nas áreas analisadas, porém não houve diferença significativa entre elas. Orisakwe et al. (2017) verificaram que bovinos criados ao redor de uma mina de ouro contaminada na região de Abattour, na Nigéria, apresentaram elevadas concentrações sanguíneas de Cu.

Nas propriedades em que o Fe foi detectado no soro sanguíneo dos bovinos, 66,6% (12/18) delas eram próximas de rodovias. A proximidade das propriedades em relação às rodovias aumentou 3,0 vezes (I.C.=1,7–5,2; $p<0,001$) a detecção do Fe sérico nos bovinos do presente trabalho. Com o objetivo de investigar as concentrações de metais pesados, minerais e o metabolismo oxidativo em 50 vacas criadas próximas (300 m) e distantes (2,5 km) de rodovias na Província de Çankiri, na Turquia, Ekici et al. (2015) observaram que os níveis séricos de Fe foram mais elevados no grupo de vacas criadas próximas às rodovias. Segundo os autores, a poluição ambiental gerada pelo tráfego de veículos é reponsável pela deposição de metais no solo e folhas de plantas localizados próximos de rodovias e, consequentemente, estes elementos também são encontrados em amostras biológicas de animais que vivem nestes locais devido o contato com o ar e ingestão de solo, alimentos e água contaminados.

Em 11,1% (2/18) das fazendas em que o Fe foi identificado nas amostras biológicas, foi informado pelos proprietários que as vacas tinham acesso aos mesmos locais onde estavam presentes o maquinário agrícola, como forrageiras e tratores. Não foi possível verificar se este foi um fator de risco para a presença do metal no soro sanguíneo dos bovinos, pois em 100,0% (40/40) dos animais que tiveram contato com o maquinário agrícola, foi detectado Fe no sangue dos mesmos, no entanto, houve uma associação positiva ($p < 0,001$). De acordo com Sobrino e Tenório (2002), o Fe é um dos constituintes do aço inoxidável, inclusive durante o processo de fabricação deste material são gerados resíduos ricos em metais como Fe, Cr e Ni. Os autores relataram ainda que estes resíduos representam um grande problema ambiental para o Brasil, visto que aqui no país são depositados em aterros sanitários. O contato dos animais, principalmente através da lambertura, com as máquinas agrícolas ou qualquer outro tipo de material constituído por aço inoxidável pode ter sido a razão do resultado observado no presente estudo.

CONCLUSÃO

Não se tem conhecimento de outros estudos epidemiológicos associados a metais no soro sanguíneo de vacas leiteiras no país. Foi possível verificar que existe um percentual considerável de bovinos do Agreste de Pernambuco com uma taxa de deficiência marginal de Cu e Fe no soro sanguíneo. O manejo nutricional e o sistema de criação dos rebanhos foram os fatores que mais contribuíram para a biodisponibilidade dos metais. O conhecimento dos fatores de risco associados à detecção dos metais fornece informações e, conseqüentemente, subsídios para a adoção de práticas que tenham por objetivo a profilaxia de possíveis deficiências e/ou intoxicações nos animais, aumentando a produtividade e rentabilidade dos rebanhos. É necessário que se tomem precauções quanto à possível presença de elementos antagonistas do Cu em suplementos minerais, à utilização de equipamentos destinados à irrigação e de produtos químicos, como fertilizantes e agrotóxicos, bem como à proximidade das propriedades em relação às indústrias e rodovias, pois isto pode contribuir na prevenção de enfermidades relacionadas aos metais avaliados.

REFERÊNCIAS

ANDREAZZA, R.; CAMARGO, F.A.O.; ANTONIOLLI, Z.I.; QUADRO, M.S.; BARCELOS, A.A. Biorremediação de áreas contaminadas com cobre. **Revista de Ciências Agrárias**, v.36, n.2, p.127-136, 2013.

APAC, 2019. **Agência Pernambucana de Águas e Clima**. Meteorologia. Acumulados Mensais Anteriores. Disponível em: <http://www.apac.pe.gov.br/meteorologia/acum_mensal_old.php>. Acesso em 15 jan. 2019.

ARAÚJO, L.B. Influência dos municípios pernambucanos na poluição da bacia do rio Mundaú com esgoto doméstico. **Revista Especialize On-line IPOG**, v.1, n.7, p.1-13, 2014.

ARSLAN, H.H.; SARIPINAR AKSU, D.S.; OZDEMIR, S.; YAVUZ, O.; OR, M.E.; BARUTCU, U.B. Evaluation of the relationship of blood heavy metal trace element levels and antioxidative metabolism in cattle which are living near the trunk roads. **Journal of the Faculty of Veterinay Medicine, Kafras University**, v.17, p.77-82, 2011.

BARROS, R.G.; DIAS, P.P.; ARAÚJO, V.K.A. Investigação de passivo ambiental na água do aterro sanitário de Hidrolândia, GO. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v.19, n.3, p.73-82, 2015.

BDE, 2016. **Base de Dados do Estado**. Meio Ambiente. Cobertura Vegetal Primitiva. Disponível em: <http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?codFormatacao=699&CodInformacao=634&Cod=1>. Acesso em 08 jan. 2019.

BDE, 2017. **Base de Dados do Estado**. Meio Ambiente. Tipologia Climática. Disponível em: <http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?codFormatacao=706&CodInformacao=633&Cod=1>. Acesso em 08 jan. 2019.

BDE, 2019. **Base de Dados do Estado**. Posição e Extensão. Posição Geográfica das Sedes dos Municípios. Disponível em: <http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?codFormatacao=703&CodInformacao=280&Cod=1>. Acesso em 08 jan. 2019.

CELERE, M.S.; OLIVEIRA, A.S.; TREVILATO, T.M.B.; MUÑOZ, S.I.S. Metais presentes no chorume coletado no aterro sanitário de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, e sua relevância para saúde pública. **Caderno de Saúde Pública**, v.23, n.4, p.939-947, 2007.

CHAND, N; TYAGI, S.; PRASAD, R.; SIROHI, A.S.; SRIVASTAVA, N.; KUMAR, S.; YADAV, B.P.S. Heavy metal and trace mineral profile in blood and hair of cattle reared around industrial effluent contaminated area. **Journal of Animal Research**, v.7, n.4, p.685-689, 2017.

CLIMATE-DATA, 2019. **Dados climáticos para cidades mundiais**. América do Sul. Brasil. Pernambuco. Garanhuns. Clima Garanhuns. Disponível em: <<https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/pernambuco/garanhuns-4458/>>. Acesso em 09 jan. 2019.

EKICI, H.; SIMSEK, Ö.; ARIKAN, S.; EREN, M.; GÜNER, B. Comparing levels of certain heavy metals and minerals and oxidative metabolism in cows raised near and away from highways. **Turkish Journal Veterinary and Animal Sciences**, v.39, p.322-327, 2015.

GOMES, R.C.; FEIJÓ, G.L.D.; CHIARI, L. **Evolução e Qualidade da Pecuária Leiteira**. EMBRAPA Gado de Corte – Nota Técnica, p.1-4, 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/10180/21470602/EvolucaoQualidadePecuaria.pdf/64e8985a-5c7c-b83e-ba2d-168ffaa762ad>>. Acesso em 15 mar. 2019.

GOMES, A.C.S.; LINDINO, C.A.; GONÇALVES JÚNIOR, A.C.; GOMES, G.D. Determinação de Cd, Cr e Pb no leite e na alimentação bovina do Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.72, n.3, p.211-218, 2013.

GRIGOLETTO, T.L.B.; FUZARI, B.H.C.; ANDRADE, A.R.; CAMPOS, M.L.A.M. Fatores químicos e físicos que afetam a contaminação por chumbo e cobre em água potável: uma abordagem para o estudo de caso em química analítica. **Química Nova**, v.35, n.10, p.1995-2001, 2012.

HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S. **Applied Logistic Regression**. New York: John Wiley and Sons. 1989. 241p.

HYPOLITO, R.; EZAKI, S. Íons de metais pesados em sistema solo-lixo-chorume-água de aterros sanitários da região metropolitana de São Paulo-SP. **Águas Subterrâneas**, v.20, n.1, p.99-114, 2006.

IBGE, 2017. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Pesquisa da Pecuária Municipal. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=resultados>>. Acesso em 08 jan. 2019.

IBGE, 2019. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Brasil em Síntese. Disponível em: <<https://brasilemsintese.ibge.gov.br/agropecuaria.html>>. Acesso em 15 jan. 2019.

INÁCIO, M.; NEVES, O.; PEREIRA, V.; SILVA, E. Concentração de As, Cu, Hg e Zn em solos e produtos agrícolas (*Brassica oleracea L.*, *Lycopersicon esculentum Mill* e *Zea mays L.*) numa área industrial no NW de Portugal. **Revista de Ciências Agrárias**, v.36, n.2, p.229-237, 2013.

INPE, 2019. **Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais**. A seca de 2012-15 no semiárido do Nordeste do Brasil no contexto histórico. Disponível em: <<http://climanalise.cptec.inpe.br/~rclimanl/revista/pdf/30anos/marengoetal.pdf>>. Acesso em 15 jan. de 2019.

LÓPEZ ALONSO, M.; BENEDITO, J.L.; MIRANDA, M.; CASTILO, C.; HERNÁNDEZ, J.; SHORE, R.F. Arsenic, cádmium, lead, copper and zinc in cattle from Galicia, NW Spain. **The Science of the Total Environment**, v.246, p.237-248, 2000.

MARÇAL, W.S.; NASCIMENTO, M.R.; MENCK, M.F. Níveis de metais pesados em suplementos minerais para bovinos comercializados em Londrina. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.9, n.3,. p.592-601, 2015.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Subcommittee on Mineral Toxicity in animals. In: **Mineral Tolerance of Domestic Animals**. Washington: National Academy of Sciences, 1980, 256-276p.

NWUDE, D.O.; OKOYE, P.A.C.; BABAYEMI, J.O. Blood heavy metal levels in cows at Slaughter at Awka Abattoir, Nigeria. **International Journal of Dairy Science**, v.5, n.4, p.264-270, 2010.

OGABIELA, E.E.; YEBPELLA, G.G.; ADESINA, O.B.; UDIBA, U.U.; ADE-AJAYI, F.A.; MAGOMYA, A.M.; HAMMUEL, C.; GANDU, I.; MMEREOLE, U.J.; ABDULLAHI, M. Assessment of metals levels in cow blood from cow's grazed around Zango, Zaria and Challawa Industrial Estate, Kano – Nigeria. **Journal Applied Environmental Biological Sciences**, v.1, n.4, p.69-73, 2011.

ORISAKWE, O.E.; OLADIPO, O.O.; AJAEZI, G.C.; UDOWELLE, N.A. Horizontal and vertical distribution of heavy metals in farm produce and livestock around lead-contaminated goldmine in Dareta and Abare, Zamfara State, Northern Nigeria. **Journal of Environmental and Public Health**, v.2017, p.1-12, 2017.

ORJALES, I.; HERRERO-LATORRE, C.; MIRANDA, M.; REY-CRESPO, F.; RODRÍGUEZ-BERMÚDEZ, R.; LÓPEZ-ALONSO, M. Evaluation of trace element status of organic dairy cattle. **Animal**, v.12, n.6, p.1296-1305, 2018.

REZENDE, H.C.; FREITAS, A.P.; COELHO, N.M.M.; ARAÚJO, C.S.T. **Extração de Cd, Pb, Cu e Ni em fertilizantes fosfatados empregando radiação ultrasônica**. 52º Congresso Brasileiro de Química. Química e Inovação: Caminho para a Sustentabilidade. Recife, 2012. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2012/trabalhos/4/1659-14337.html>>. Acesso em 08 jan. de 2019.

SANTOS, N.V.M.; SARKIS, J.E.S.; GUERRA, J.L.; MAIORKA, P.C.; HORTELANI, M.A.; SILVA, F.F.; ORTOLANI, E.L. Avaliação epidemiológica, clínica, anatomopatológica e etiológica de surtos de ataxia em cabritos e cordeiros. **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1207-1213, 2006.

SOBRINHO, P.J.N.; TENÓRIO, J.A.S. **Reciclagem de cromo e níquel a partir de resíduos siderúrgicos**. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais. Natal, 2002. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/266343687_RECICLAGEM_DE_CROMO_E_NIQUEL_A_PARTIR_DE_RESIDUOS_SIDERURGICOS>. Acesso em 06 fev. de 2019.

SOUZA, M.V.; VIANNA, M.W.S.; ZANDIM, B.M.; FERNANDES, R.B.A.; FONTES, M.P.F. Metais pesados em amostras biológicas de bovinos. **Ciência Rural**, v.39, n.6, p.1774–1781, 2009.

SUTTLE, N.F. **Mineral nutrition of livestock**. 4^a ed. Pondicherry: Mixed Sources, 2010.

THRUSFIELD, M.V. **Epidemiologia Veterinária**. 2^a ed. São Paulo: Roca, 2004.

TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V.; BARBOSA, J.D.; BRITO, M.F.; DÖBEREINER, J. **Deficiências minerais em animais de produção**. 1^a ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2010.

TOMZA-MARCINIAK, A.; PILARCZYK, B.; BAKOWSKA, M.; PILARCZYK, R.; WÓJCIK, J. Heavy metals and other elements in serum of cattle from organic and conventional farms. **Biological Trace Element Research**, v. 143, p. 863-870, 2011^a.

TOMZA-MARCINIAK, A.; PILARCZYK, B.; BAKOWSKA, M.; PILARCZYK, R.; WÓJCIK, J. MARCINIAK, A.; HENDZEL, D. Relationship between selenium and selected heavy metals concentration in serum of cattle from a non-polluted área. **Biological Trace Element Research**, v.144, p.517-524, 2011^b.

TORO, L.M.H. **Riscos para a saúde humana resultantes da exposição ao cobre.** Grupo Técnico Regional – Águas de Consumo Humano, p.1-4, 2012. Disponível em: <https://www.google.com/search?rlz=1C2CAFA_enBR646BR646&ei=VqCLXIXwGNqf5OUPrJy4oAo&q=Riscos+para+a+sa%C3%BAde+humana+resultantes+da+exposi%C3%A7%C3%A3o+ao+cobre.&oq=Riscos+para+a+sa%C3%BAde+humana+resultantes+da+exposi%C3%A7%C3%A3o+ao+cobre.&gs_l=psy-ab.3...6430.7089..7965...0.0..0.201.201.2-1.....0....1j2..gws-wiz.....0..0i71.G1hN3FWm234>. Acesso em 15 mar. 2019.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock.** 3ª ed. New York: CAB International, 1999.

VÁSQUEZ, E.F.A.; HERRERA, A.P.N.; SANTIAGO, G.S. Interação cobre, molibdênio e enxofre em ruminantes. **Ciência Rural**, v.31, n.6, p.1101-1106, 2001.

VILELA, D.; FERREIRA, R.P.; FERNANDES, E.N.; JUNTOLLI, F.V. **Pecuária de Leite no Brasil – Cenários e Avanços Tecnológicos.** 1ª ed. Brasília: Embrapa, 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164236/1/Pecuarria-de-leite-no-Brasil.pdf>>. Acesso em 26 fev. 2019.

6.2. Artigo 2

Análise epidemiológica da presença de cádmio e cromo no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil

Alexandre Tadeu Mota Macedo, Rodolpho Almeida Rebouças, Uila Almeida Aragão de Alcantara, Felipe Rosendo Correia, Paulo Ricardo da Silva, Natália Juliane Araújo de Sant'ana, Ana Paula Silveira Paim, Júnior Mário Baltazar de Oliveira, José Augusto Bastos Afonso e Pierre Castro Soares

RESUMO

Objetivou-se determinar as concentrações de cádmio (Cd) e cromo (Cr), além de investigar os fatores de risco associados a presença destes metais no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco. Para a detecção dos metais foram utilizadas 392 amostras de soro sanguíneo de vacas leiteiras procedentes de 26 propriedades, distribuídas em 12 municípios do Agreste pernambucano. As amostras biológicas foram coletadas de vacas mestiças, em lactação, provenientes de rebanhos do Agreste Central e Meridional. Um questionário epidemiológico foi aplicado em cada fazenda com o objetivo de identificar os possíveis fatores de risco associados a presença dos elementos nas amostras. O soro sanguíneo foi submetido à digestão por radiação micro-ondas e, posteriormente, os metais determinados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), empregando a curva analítica de 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 8,0 e 10 mg/l. Os fatores de risco associados a presença de Cd e Cr nas amostras de soro sanguíneo estavam relacionados a região, manejo nutricional, sistema de criação, utilização de produtos químicos nas fazendas e de água para irrigação, acesso dos animais a áreas industriais e proximidade das propriedades de rodovias. O conhecimento dos fatores de risco é necessário para a adoção de medidas que visem controlar a bioacumulação e intoxicações de bovinos pelos metais, além de prevenir a transferência para a carne e o leite.

Palavras-chave: bovinos, diagnóstico, epidemiologia, metais, profilaxia.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the concentrations of cadmium (Cd) and chromium (Cr) and to investigate the risk factors associated with the presence of these metals in the blood serum of dairy cows in the Agreste of Pernambuco. For the detection of metals were used 392 blood serum samples from dairy cows of 26 farms in 12 cities in the Agreste of State. The biological samples were collected from crossbred lactating cows from Central and Meridional Agreste. An epidemiological questionnaire was applied in each farm in order to identify the possible risk factors associated with the presence of the elements in the biological samples. The blood serum were subjected to digestion by microwave radiation and, subsequently, the trace elements were determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES), using the analytical curve of 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 8.0 and 10

mg/l. The risk factors associated with the presence of Cd and Cr in the blood serum samples were related to region, nutritional management, creation system, use of chemical products on farms and water to irrigation, access of animals to industrial areas and proximity to properties of highways. The knowledge of these risk factors is necessary for the adoption of measures aimed at the control bioaccumulation and poisoning of bovine by metals, in addition to preventing the transfer to meat and milk.

Keywords: bovine, diagnosis, epidemiology, metals, prophylaxis.

INTRODUÇÃO

O agronegócio brasileiro tem crescido a taxas elevadas, suprimindo o mercado nacional e contribuindo decisivamente para as exportações, com destaque para a carne bovina. Nos últimos 13 anos observou-se uma forte expansão da produção de leite no país, principalmente devido ao mercado interno. A pecuária leiteira tem importância significativa, pois está presente em todo o território nacional e gera uma grande quantidade de empregos (VILELA et al., 2016). No Brasil, atualmente a produção de leite é superior a 33 bilhões de litros e o seu valor estimado ultrapassa R\$ 37 bilhões (IBGE, 2017).

Os bovinos têm importância econômica e social, mas também como indicadores da contaminação ambiental, devido a proximidade de convivência e a similaridade em termos fisiológicos com o ser humano, além da coincidência de *habitats* de vida (SOUZA et al., 2009). O contato dos animais com metais através do consumo de água ou alimentos contaminados pode resultar em afecções que muitas vezes não são perceptíveis clinicamente e, além disso, podem levar à contaminação da carne e do leite. Os metais, ao integrarem-se a cadeia trófica alimentar, atingem os bovinos e, conseqüentemente, o homem, através da ingestão de produtos ou subprodutos de origem animal, o que representa potencial risco à saúde pública (MARÇAL et al., 2004).

O cádmio (Cd) é um metal tóxico que apresenta-se distribuído na maioria dos ecossistemas agrícolas. Os sinais clínicos da intoxicação por este elemento em ruminantes incluem perda de apetite, retardo no crescimento, comprometimento do desenvolvimento testicular e, nos ovinos, paraqueratose (SUTTLE, 2010). Já o cromo (Cr) é considerado um elemento ocasionalmente benéfico ou essencial (SUTTLE, 2010; TOKARNIA et al., 2010), no entanto, a biorredução do Cr^{+6} para o Cr^{+3} pode causar dano tecidual peroxidativo, além de distúrbios do metabolismo, inibição de monoxigenases ligadas ao citocromo P450 e hidroxilação da testosterona (SUTTLE, 2010). O Cr também é um elemento carcinogênico e de efeitos deletérios para a saúde humana (NUNES; OLIVEIRA; BENINI, 2012).

Nwude, Babayemi e Abhulimen (2011), Ogabiela et al. (2011), Tomza-Marciniak et al. (2011^a), Ekici et al. (2015), Orisakwe et al. (2017) e Orjales et al. (2018) relataram a presença de Cd e Cr no sangue de bovinos. Entretanto, estudos epidemiológicos relacionados a presença de metais no soro sanguíneo de bovinos são pouco relatados. Desse modo, objetivou-se determinar as concentrações de Cd e Cr, além de investigar os fatores de risco associados a presença destes metais no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada com a licença da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) nº 29/2017. Para o cálculo do tamanho da amostra (n) considerou-se um efetivo de 55.945 vacas em produção do Agreste Central de Pernambuco. Este dado foi fornecido mediante solicitação realizada ao escritório da Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária do Estado de Pernambuco (ADAGRO), localizado no município de Garanhuns, em 2016. A prevalência esperada foi de 50% para a presença dos metais no soro sanguíneo, intervalo de confiança de 95% e erro estatístico de 5%. Estes parâmetros forneceram um número de 385 vacas a serem coletadas (THRUSFIELD, 2004).

As amostras biológicas foram obtidas entre maio e dezembro de 2017. Para detecção de Cd e Cr foram utilizadas 392 amostras de soro sanguíneo de vacas leiteiras provenientes de 26 propriedades, distribuídas em 12 municípios do Agreste pernambucano (Tabela 1). As amostras biológicas foram coletadas de vacas mestiças, em lactação, provenientes de rebanhos do Agreste Central (Sanharó, Pesqueira, Alagoinha, Poção, Belo Jardim, Tacaimbó, São Bento do Una, Cachoeirinha e Caruaru) e Agreste Meridional (Venturosa, Garanhuns e Pedra). As propriedades foram selecionadas em virtude do beneficiamento pelas águas dos rios Ipojuca, Ipanema, Mundaú, Capibaribe e Una. O estudo epidemiológico empregado neste trabalho foi do tipo transversal. Os proprietários foram submetidos a uma entrevista, tomando como base um questionário epidemiológico com informações relacionadas à localização, sistema de criação, manejo nutricional, mineralização, fontes hídricas, maquinário agrícola, utilização de produtos químicos, proximidade das fazendas de rodovias, lixões ou aterros sanitários e indústrias. Foram coletadas amostras de sangue de animais que consumiam a água, pastavam às margens ou que se alimentavam de forragem submetida à irrigação pelas águas dos rios supracitados. A seleção das propriedades

ocorreu por conveniência e a coleta das amostras dentro dos rebanhos foi realizada de forma aleatória.

Tabela 1. Distribuição dos municípios, número de animais e de propriedades do Agreste de Pernambuco onde as amostras de sangue dos bovinos foram coletadas.

Município	Nº de animais	Propriedades
Sanharó	89	8
Pesqueira	65	3
Venturosa	15	1
Alagoinha	30	2
Garanhuns	13	1
Poção	21	1
Belo Jardim	35	2
Tacaimbó	15	1
São Bento do Una	59	3
Cachoeirinha	14	1
Caruaru	21	2
Pedra	15	1
TOTAL	392	26

A coleta de sangue foi realizada através da venopunção das veias jugular, mamária ou coccígea, em tubos a vácuo siliconizados (Vacutainer®) sem anticoagulante. As amostras foram acondicionadas sob refrigeração em caixa isotérmica (4 °C) e encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica da Clínica de Bovinos, campus Garanhuns, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CBG/UFRPE). Após a retração do coágulo, os tubos foram centrifugados a 1600 G por 15 min para obtenção do soro, que foi distribuído em tubos cônicos de polipropileno (Eppendorf®) e mantidos em freezer (-30 °C) para posterior processamento laboratorial.

Inicialmente realizou-se o preparo das amostras assistido por radiação micro-ondas, colocando-se 1 ml de soro sanguíneo em frascos digestores de perfluoralcóxi (PFA) e adicionando 5 ml de ácido nítrico (HNO₃ a 65% PA), de acordo com Ekici et al. (2015). A digestão foi realizada através do equipamento Multiwave 3000 Anton Paar®, durante 17 minutos (etapa 1: 100 °C – 10 min, etapa 2: 140 °C – 2 min e etapa 3: 30 °C – 5 min) e 30 minutos para o resfriamento dos frascos digestores. Posteriormente foi acrescido 8 ml de água

proveniente de osmose reversa para cada amostra analisada e, em seguida, armazenada em tubos coletores cônicos de polietileno (Falcon[®]) com capacidade para 14 ml. O procedimento foi realizado no Laboratório de Doenças Metabólicas e Nutricionais do Centro de Estudos Avançados em Caprinos e Ovinos do Departamento de Medicina Veterinária (LDMN/DMV) da UFRPE.

A determinação de Cd e Cr ocorreu por meio de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), utilizando-se aparelho modelo ICP OES Optima 7000 DV (PerkinElmer, EUA[®]). Os parâmetros utilizados na análise pelo ICP OES estão descritos na tabela 2. A curva analítica utilizada (0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 8,0 e 10 mg/l) foi estabelecida na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (DQF) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), local onde foi realizada esta etapa do processamento das amostras.

Tabela 2. Parâmetros utilizados na análise pelo ICP OES.

Parâmetros instrumentais	ICP OES
Potência RF (kW)	1,3
Vazão de gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,8
Vazão de gás auxiliar (L min ⁻¹)	0,2
Vazão de gás do plasma (L min ⁻¹)	15
Taxa de aspiração da amostra (mL min ⁻¹)	1,0
Tempo de integração (s)	8
Tempo de estabilização (s)	20
Tempo de leitura (s)	27
Nebulizador	Concêntrico
Câmara de nebulização	Ciclônica
Visão de plasma	Axial
Altura de observação (mm)	15
Pontos por pico	7
Comprimento de onda (nm)	Cd – 228,802; Cr – 267,716

Os dados quantitativos foram expressos em média e desvio padrão, já os qualitativos em frequências relativas e absolutas. Inicialmente, testou-se a normalidade das concentrações obtidas dos metais Cd e Cr em amostras de soro sanguíneo provenientes dos municípios estudados, para isso, os dados foram submetidos aos testes de Kolmogorov-

Smirnov e Shapiro-Wilk para a avaliação da distribuição dos resultados. Em seguida, realizou-se uma análise de variância (Teste F) e pelos testes de Tukey e Duncan para a comparação dos resultados obtidos em cada município para o soro sanguíneo (REIS, 2003). O programa IBM SPSS *Statistics* 23.0 foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos supracitados.

Para o estudo dos fatores de risco associados à detecção de Cd e Cr no soro sanguíneo das vacas foi realizada uma análise de associação das variáveis epidemiológicas com os resultados obtidos através do ICP-OES. Os testes de Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher foram utilizados para esta análise de associação. Posteriormente, para a identificação dos fatores de risco utilizou-se o modelo de regressão logística considerando como variável dependente os resultados das análises do ICP-OES (detectado ou não-detectado). As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância estatística menor que 0,20 na análise de associação. Essa probabilidade foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não fossem excluídos da análise (HOSMER; LEMESHOW, 1989). O programa EpiInfoTM 7 foi utilizado como auxílio para os cálculos da análise dos fatores de risco. O nível de significância adotado foi de 5,0 %.

RESULTADOS

A média geral das concentrações de Cd no soro sanguíneo das vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco foi de $30,0 \pm 42,0$ $\mu\text{g/l}$. Os níveis séricos mais elevados do metal foram observados nos bovinos provenientes dos municípios de Cachoeirinha ($83,0 \pm 3,0$ $\mu\text{g/l}$), no Agreste Central, e Pedra ($74,0 \pm 3,0$ $\mu\text{g/l}$), no Agreste Meridional. Com relação ao Cr, a média geral das concentrações séricas do metal foi de $1,19 \pm 1,86$ mg/l . Os valores mais altos do elemento ocorreram no município de Venturosa ($6,85 \pm 0,22$ mg/l), no Agreste Meridional (Tabela 3).

Tabela 3. Concentrações (média e desvio padrão) do Cd e Cr no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.

Municípios	Cd¹ (µg/l)	Cr¹ (mg/l)
Sanharó	45,0±36,0 ^B	0,53±0,52 ^C
Pesqueira	ND	1,79±0,68 ^B
Venturosa	ND	6,85±0,22 ^A
Alagoinha	12,0±69,0 ^C	2,44±3,17 ^B
Garanhuns	ND	0,21±0,12 ^C
Poção	ND	0,58±0,31 ^C
Belo Jardim	ND	ND
Tacaimbó	ND	ND
São Bento do Una	69,0±39,0 ^C	0,03±0,02 ^C
Cachoeirinha	83,0±3,0 ^A	0,07±0,02 ^C
Caruaru	73,0±4,0 ^{AB}	0,18±0,03 ^C
Pedra	74,0±3,0 ^A	0,19±0,01 ^C
Médias	30,0±42,0	1,19±1,86

ND – abaixo do limite mínimo da curva analítica; ¹Teste de Tukey; Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística ao nível de 5%. No cálculo das médias e desvio padrão, os valores ND foram considerados como zero.

As tabelas 4 e 5 mostram as análises dos fatores de risco associados à detecção do Cd e Cr, respectivamente, no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco. O Cd foi detectado em 29,8% (117/392) das amostras analisadas, em 50,0% dos municípios (6/12) e 42,3% das propriedades (11/26). Os fatores de risco associados à detecção de Cd nas amostras biológicas nos animais do presente estudo foram: proximidade das propriedades em relação às rodovias (OR=2,1; I.C.=1,3-3,3; p=0,001), utilização de produtos químicos, como fertilizantes e/ou agrotóxicos (OR=1,7; I.C.=1,1-2,7; p=0,027) e acesso dos animais às áreas industriais (OR=4,1; I.C.=1,9-8,6; p<0,001).

Tabela 4. Análise dos fatores de risco associados à detecção de Cd no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.

Variável	N	Detectado n (%)	Valor P	Regressão	
				logística OR (IC 95%)	Valor P
Propriedades próximas às rodovias					
Sim	208	77 (37,02%)	<0,001 ^{1*}	2,1 (1,3 - 3,3)	0,001*
Não	184	40 (21,74%)			
Sistema de criação					
Intensivo	114	1 (0,88%)	<0,001 ^{2*}	**	
Semi-intensivo	278	116 (41,73%)			
Utilização de produtos químicos					
Sim	198	61 (30,81%)	0,026 ^{1*}	1,7 (1,1 - 2,7)	0,027*
Não	174	36 (20,69%)			
Acesso dos animais à área industrial					
Sim	33	20 (60,61%)	<0,001 ^{1*}	4,1 (1,9 - 8,6)	< 0,001*
Não	359	97 (27,02%)			

N- Número total de amostras; n – número de amostras detectadas; OR – *Odds Ratio* (Razão de Chance); ¹Teste do Qui-quadrado de Pearson; ²Teste do Exato de Fisher; * Associação significativa ao nível de 5,0%; ** Não foi possível calcular o modelo de regressão logística.

O Cr foi detectado em 72,9% (286/392) das amostras de soro sanguíneo dos bovinos analisadas, em 83,3% dos municípios (10/12) e 80,7% das propriedades (21/26). Os fatores de risco associados à detecção deste elemento nas amostras avaliadas foram: região do Agreste Meridional (OR=18,8; I.C.=2,5-138,5; p=0,004), sistema de criação semi-intensivo (OR=1,8; I.C.=1,1-2,9; p=0,011), utilização de água para irrigação (OR=2,3; I.C.=1,3-4,0; p=0,001), utilização de produtos químicos, como fertilizantes e/ou agrotóxicos (OR=3,1; I.C.=1,9-4,9; p<0,001) e acesso dos animais à área industrial (OR=13,7; I.C.=1,8-101,6; p=0,01).

Tabela 5. Análise dos fatores de risco associados à detecção de Cr no soro sanguíneo de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.

Variável	N	Detectado n (%)	Valor P	Regressão logística OR (IC 95%)	Valor P
Região					
Agreste Meridional	43	42 (97,67%)	<0,001 ^{1*}	18,8 (2,5 - 138,5)	0,004*
Agreste Central	349	241 (69,05%)			
Sistema de criação					
Intensivo	114	72 (63,16%)	0,010 ^{1*}	1,8 (1,1 - 2,9)	0,011*
Semi-intensivo	278	211 (75,90%)			
Utilização de água para irrigação					
Sim	123	102 (82,93%)	0,001 ^{1*}	2,3 (1,3 - 4,0)	0,001*
Não	269	181 (67,29%)			
Acesso dos animais ao maquinário agrícola					
Sim	40	40 (100,00%)	<0,001 ^{1*}	**	
Não	352	243 (69,03%)			
Utilização de produtos químicos					
Sim	198	161 (81,31%)	<0,001 ^{1*}	3,1 (1,9 - 4,9)	<0,001*
Não	174	102 (58,62%)			
Acesso dos animais à área industrial					
Sim	33	32 (96,97%)	<0,001 ^{1*}	13,7 (1,8 - 101,6)	0,01*
Não	359	251 (69,92%)			

N- Número total de amostras; n – número de amostras detectadas; OR – *Odds Ratio* (Razão de Chance); ¹Teste do Qui-quadrado de Pearson; * Associação significativa ao nível de 5,0%; ** Não foi possível calcular o modelo de regressão logística.

DISCUSSÃO

A concentração média de Cd no soro sanguíneo das vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco foi superior à observada por López-Alonso et al. (2000) em vacas da Galícia, na Espanha (0,4 µg/l); Tomza-Marciniak et al. (2011^a) em bovinos de fazendas orgânicas (0,7±0,8 µg/l) e convencionais (0,7±0,5 µg/l) e Tomza-Marciniak et al. (2011^b) em animais de uma área não poluída (0,6±0,8 µg/l), ambos na Polônia e Ekici et al. (2015) em vacas criadas próximas (2,0±16,0 µg/l) e distantes (1,0±0,9 µg/l) de rodovias na Província de Çankiri, na

Turquia. Entretanto, o resultado verificado nesta pesquisa foi muito próximo ao de Souza et al. (2009), em amostras de sangue coletadas de vacas leiteiras durante o verão ($25,0 \mu\text{g/l}$), em três municípios de Minas Gerais, no Brasil. A concentração sérica média do Cd no presente estudo foi inferior ao resultado de Ogabiela et al. (2011) em bovinos criados na área industrial de Challawa, em Kano ($0,12 \pm 0,04 \text{ mg/l}$) e em Zaria ($0,17 \pm 0,14 \text{ mg/l}$), na Nigéria e de Chand et al. (2017) em animais criados em vilas localizadas às margens do rio Kali ($1,01 \pm 0,03 \text{ mg/l}$), com 1 km ($0,74 \pm 0,04 \text{ mg/l}$) e mais de 2 km de distância do mesmo ($0,34 \pm 0,05 \text{ mg/l}$), além de um local utilizado como controle, que ficava a uma grande distância do rio ($0,23 \pm 0,02 \text{ mg/l}$), na cidade de Meerut, Estado de Uttar Pradesh, na Índia.

As divergências verificadas entre as concentrações de Cd no soro sanguíneo dos bovinos deste trabalho e as relatadas por pesquisadores de outras regiões do Brasil e de vários países provavelmente se devem a um conjunto de fatores. Há diferenças relacionadas a idade e sexo dos animais, sistemas de criação, proximidade das fazendas de rodovias e rios, bem como de metodologias para a digestão e quantificação do metal, localização geográfica, condições climáticas, manejo nutricional, contaminação ou não das áreas em que as vacas eram criadas, principalmente devido às atividades industriais, o que pode está diretamente relacionado aos resultados observados.

De acordo com Suttle (2010), as concentrações normais de Cd no sangue de ruminantes estão marginalmente acima de $10,0 \mu\text{g/l}$. Já Souza et al. (2009) consideraram baixas as concentrações de Cd no sangue das vacas em Minas Gerais e, relataram ainda que, em sua maioria, foram menores que o limite de detecção do aparelho. Ogabiela et al. (2011) afirmaram que os níveis de Cd no sangue de bovinos das áreas avaliadas na Nigéria foram superiores aos valores descritos na literatura e que os animais avaliados não eram seguros para o consumo humano. Segundo Braga (2002), mesmo que o efeito tóxico dos metais ao organismo não seja perceptível clinicamente, é importante ressaltar outra característica destes elementos, a bioacumulação, fazendo a sua ação ser potencializada ao longo da cadeia alimentar.

Os níveis séricos mais elevados de Cd foram observados nas vacas dos municípios de Cachoeirinha e Pedra, provavelmente em virtude de uma combinação de fatores, como a alimentação, baseada principalmente em ração concentrada, suplementação mineral, silagem de milho e pastagem; o sistema de criação semi-intensivo e utilização de produtos químicos (fertilizantes e/ou agrotóxicos) na propriedade localizada em Cachoeirinha, além da proximidade desta de um grande lixão. É importante ressaltar ainda o comprometimento das águas do rio Una, que beneficia a fazenda de Cachoeirinha, onde pôde ser vista uma grande

quantidade de lixo, tanto no leito como em suas margens, inclusive com a presença de eletrodomésticos. Os proprietários de ambas fazendas informaram no questionário epidemiológico que tinham conhecimento sobre a poluição das fontes hídricas.

Gomes et al. (2013) e Marçal, Nascimento e Menck (2015) relataram níveis elevados de Cd em amostras de sal mineralizado para bovinos no Estado do Paraná. Segundo Suttle (2010) e Gonçalves Júnior et al. (2015), o solo, as plantas, fertilizantes superfosfatos e lamas de esgoto estão entre as principais fontes deste metal. O Cd também está presente na fabricação de pilhas e baterias, algumas baterias recarregáveis, que são empregadas em aparelhos eletrônicos, como telefones celulares, computadores, filmadoras, entre outros, são constituídas de níquel-cádmio, e contêm em sua composição Fe, Cd e Ni (SOUZA; LEÃO; PINA, 2005). Em relação ao rio Una, sabe-se que em vários pontos do mesmo ocorre o lançamento de esgotos domésticos, além de resíduos de sangue despejados por um matadouro de suínos, animais mortos e materiais plásticos, conseqüentemente, a qualidade de suas águas é imprópria para uso, em decorrência do lançamento de efluentes e resíduos sólidos (ALVES et al., 2017).

Com relação ao Cr, a concentração média do metal no soro sanguíneo das vacas do Agreste pernambucano foi mais elevada em relação à verificada por Tomza-Marciniak et al. (2011^a) em vacas leiteiras de fazendas orgânicas ($0,02 \pm 0,01$ mg/l) e convencionais ($0,06 \pm 0,02$ mg/l), na Pomerânia Ocidental, Noroeste da Polônia. Porém, os níveis séricos deste elemento no presente estudo foram inferiores aos relatados por Ogabiela et al. (2011) em bovinos criados na área industrial de Challawa, em Kano ($2,12 \pm 1,54$ mg/l) e em Zaria ($2,81 \pm 0,90$ mg/l), na Nigéria e Ekici et al. (2015) em animais criados próximos ($4,62 \pm 1,10$ mg/l) e distantes ($4,31 \pm 0,78$ mg/l) de rodovias na Turquia. As diferenças verificadas entre os resultados relatados por estes pesquisadores e o presente trabalho estão relacionadas principalmente às condições em que os estudos foram realizados, destacando-se os locais de criação dos animais e a contaminação ambiental.

Segundo Suttle (2010), a intoxicação por Cr é rara, pois mesmo as fontes solúveis, como cloreto e cromato, são toleradas em altas concentrações pelos animais. As concentrações deste metal são normalmente baixas nos tecidos ($< 0,1$ mg/kg) e distinguem-se facilmente dos níveis associados à exposição ao excesso do elemento ($> 10,0$ mg/kg). Entretanto, Ogabiela et al. (2011) consideraram elevados os níveis do metal nas amostras de sangue avaliadas e reafirmaram que o resultado observado pode representar uma ameaça à saúde dos seres humanos através da cadeia alimentar.

As concentrações mais elevadas de Cr foram verificadas no município de Venturosa e os principais fatores que podem ter contribuído para este resultado foram o bom manejo nutricional da propriedade, baseado na administração de ração concentrada, cevada, caroço de algodão, palma, silagem de milho e suplementação mineral, além do sistema de criação semi-intensivo. De acordo com Suttle (2010) e Gomes et al. (2013), este metal pode estar presente em níveis elevados nos alimentos, como concentrado, cevada, milho, feno, cana-de-açúcar, silagem e sal mineralizado. O metal também é abundante no solo, principalmente nos solos das culturas (SUTTLE, 2010). A água do rio Ipanema pode ter sido outra fonte de Cr para as vacas, pois no período em que foi realizada a coleta neste município, no final do mês de maio de 2017, havia chovido bastante na região, e o rio estava com um grande volume de água. Ribeiro et al. (2012) detectaram a contaminação pelo Cr nas águas do rio São Francisco, em Minas Gerais, provavelmente em virtude da contaminação provocada pelos lançamentos de esgotos domésticos. Nascimento et al. (2016) relataram que o rio Ipanema tem sofrido com o desgaste ambiental, em consequência da construção de residências em suas margens, de forma desordenada, e pelo despejo de efluentes químicos e resíduos domésticos, que prejudicam qualidade de suas águas.

No que se refere ao estudo dos fatores de risco, foi possível observar que a distribuição do Cd nas amostras de soro sanguíneo das vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco foi relativamente baixa. A origem do metal nas amostras pode ter ocorrido por algumas razões, como alimentação e suplementação mineral fornecida aos animais, utilização de produtos químicos nas fazendas, acesso das vacas à área industrial, sistema de criação semi-intensivo e proximidade das propriedades de rodovias. Em 90,9% (10/11) das propriedades onde o metal foi detectado os bovinos consumiam ração concentrada, em 81,8% (9/11) suplementação mineral, 56,5% (6/11) silagem de milho, 36,4% (4/11) dos rebanhos pastavam e recebiam palma e 27,3% (3/11) casca de mandioca. As plantas e o sal mineralizado são fontes do metal (SUTTLE, 2010; GOMES et al., 2013; MARÇAL; NASCIMENTO; MENCK, 2015).

Já o Cr esteve presente em um grande número de amostras de soro sanguíneo nos animais do presente estudo e assim como foi verificado em relação ao Cd, condições relacionadas à alimentação, suplementação mineral, utilização de produtos químicos, acesso dos bovinos à área industrial e sistema semi-intensivo de criação podem ter contribuído para o resultado. A região do Agreste Meridional, utilização das águas dos rios para irrigação e acesso dos animais ao maquinário agrícola também estão envolvidos na presença do metal nas amostras analisadas. Nas fazendas em que este elemento foi detectado, em 95,2% (20/21)

delas as vacas recebiam ração concentrada, 90,5% (19/21) sal mineralizado, 57,1% (12/21) silagem de milho, 47,6% (10/21) palma, 28,6% (6/21) cevada, 23,8% (5/21) pasto, bagaço-decana, casca de mandioca e 9,5% (2/21) capim de corte. As principais fontes de Cr para bovinos são os alimentos (SUTTLE, 2010), além disso, Gomes et al. (2013) também relatam níveis altos deste metal ($> 1,0$ mg/kg) no sal mineral de bovinos.

Nesta pesquisa foram identificados três fatores de risco associados à detecção do Cd no soro sanguíneo dos bovinos e cinco ao Cr, entretanto, dois deles foram comuns para ambos os metais, a utilização de produtos químicos e o acesso dos animais à área industrial. A utilização de produtos químicos (fertilizantes e/ou agrotóxicos) ocorreu em 45,4% (5/11) das propriedades onde o Cd foi detectado e em 52,4% (11/21) dos rebanhos em que o Cr foi identificado nas amostras de soro sanguíneo das vacas do Agreste de Pernambuco. A utilização de produtos químicos aumentou em 1,7 vezes (I.C.=1,1-2,7; $p=0,027$) a detecção do Cd e em 3,1 vezes (I.C.=1,9-4,9; $p<0,001$) a do Cr nas amostras analisadas. De acordo com Nava et al. (2011), os fertilizantes utilizados para suprir micronutrientes podem apresentar metais pesados tóxicos em sua composição, como resultado, há severas consequências para o meio ambiente, uma vez que as plantas cultivadas na presença destes elementos oferecem risco de contaminação, pois se acumulam em seus tecidos. Os autores utilizaram cinco diferentes fertilizantes e concluíram que estes disponibilizaram Cd, Cr e Pb para as plantas de soja, além disso, o aumento dos teores destes metais no solo influenciaram negativamente na absorção e acúmulo pelas plantas dos nutrientes Zn e Ca. Logo, a ingestão do solo e de alimentos contaminados por Cd e Cr, provenientes de fertilizantes, pelas vacas da região analisada, contribuiu para a presença destes elementos no soro sanguíneo dos animais.

O acesso dos bovinos à área industrial ocorreu em 18,2% (2/11) dos rebanhos em que o Cd foi identificado e em 14,3% (3/21) onde foi detectado o Cr nas amostras biológicas. O acesso das vacas à área industrial aumentou em 4,1 vezes (I.C.=1,9-8,6; $p<0,001$) a detecção do Cd e 13,7 vezes (I.C.=1,8-101,6; $p<0,01$) a do Cr no soro sanguíneo destes animais. Ogabiela et al. (2011) relatam a presença de Cd e Cr, em concentrações elevadas, em bovinos criados e alimentados predominantemente com gramíneas cultivadas próximo do distrito industrial de Challawa, em Kano, na Nigéria. Leonidis et al. (2010) verificaram níveis elevados de Cd em vacas leiteiras criadas em fazendas próximo da siderúrgica de Sidenor, de uma fábrica de processamento de Al e de embalagens na cidade de Tessalônica, na Grécia. O Cr está presente no lodo das estações de tratamento de indústrias e pode contaminar o solo e as águas superficiais e subterrâneas (NUNES; OLIVEIRA; BENINI, 2012). No presente estudo, as áreas industriais que os animais tinham acesso eram principalmente os laticínios. Segundo

Villa, Silva e Nogueira (2007), efluentes provenientes de indústrias de laticínios, quando lançados em corpos d'água sem tratamento, reduzem drasticamente a concentração de oxigênio e colocam em risco o ecossistema aquático. As vacas que tinham acesso às áreas industriais provavelmente tiveram contato com o Cd e o Cr através da ingestão do solo, pastagem e água contaminados pelos metais.

O sistema de criação semi-intensivo era adotado em 90,9% (10/11) das fazendas onde foi detectado Cd e em 80,9% (17/21) em que foi identificado o Cr no soro sanguíneo dos bovinos. Não foi possível saber se este sistema de criação foi um fator de risco para a identificação de Cd nas amostras biológicas, porém houve uma associação significativa ($p < 0,001$). Em relação ao Cr, o sistema semi-intensivo de criação aumentou em 1,8 vezes (I.C.=1,1-2,9; $p = 0,011$) a detecção do elemento nas amostras de soro sanguíneo, em consequência da ingestão de solo e pastagem pelas vacas, que são fontes abundantes de ambos metais (SUTTLE, 2010; GONÇALVES JÚNIOR et al., 2015).

As vacas do presente estudo eram criadas próximas à rodovias em 54,5% (6/11) das fazendas onde o Cd foi identificado nas amostras analisadas. A proximidade das propriedades em relação às rodovias aumentou em 2,1 vezes (I.C.=1,3-3,3; $p < 0,001$) a detecção do metal no soro sanguíneo dos bovinos. Arslan et al. (2011) verificaram níveis mais elevados de Cd no sangue de bovinos que viviam próximos (0-500 m) de estradas por um período de no mínimo três anos, em comparação aos animais criados mais distantes das mesmas (2-3 km). Segundo os autores, os metais pesados advém de várias e diversas fontes em áreas urbanas, como emissões de veículos, sendo o tráfego uma importante influência na poluição de Cd.

Nas fazendas em que o Cr foi detectado no soro sanguíneo das vacas, 14,3% (3/21) estavam localizadas no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco. Esta região aumentou em 18,8 vezes (I.C.=2,5-138,5; $p = 0,004$) a identificação do metal nas amostras avaliadas. Os aspectos edafoclimáticos são semelhantes entre os municípios avaliados nas duas regiões, ou seja, Agreste Central e Meridional, contudo algumas diferenças puderam ser verificadas em Garanhuns, com relação ao clima, vegetação, altitude, temperatura e pluviosidade médias anuais (BDE, 2016; BDE, 2017; BDE, 2019; CLIMATE-DATA, 2019). Há pesquisas que associam a presença e concentrações de alguns metais, como Cu, Zn, Pb e Cd à sazonalidade (SOUZA et al., 2009; NWUDE; OKOYE; BABAYEMI, 2010), porém não verificamos estudos que estabeleciam esse tipo de relação para o Cr. É possível, portanto, que este resultado esteja relacionado a uma associação de fatores, como a contaminação do solo e plantas pelo metal, em virtude das proximidades das propriedades de indústrias, principalmente

laticínios, e das águas dos rios Ipanema e Mundaú, por efluentes industriais e esgotos domésticos (VILLA; SILVA; NOGUEIRA, 2007; ARAÚJO, 2014; SUTTLE, 2010; NASCIMENTO et al., 2016).

As águas dos rios Ipojuca, Ipanema, Mundaú, Capibaribe e Una eram utilizadas na irrigação de pastagens e/ou capineiras em 33,3% (7/21) das propriedades em que o Cr foi identificado nas amostras biológicas. A utilização da água dos rios para irrigação aumentou em 2,3 vezes (I.C.=1,3-4,0; $p=0,001$) a detecção do elemento no soro sanguíneo das vacas do Agreste pernambucano. Este elemento está presente nos esgotos domésticos e lodo das estações de tratamento de indústrias e podem contaminar o solo e as águas superficiais e subterrâneas (NUNES; OLIVEIRA; BENINI, 2012; RIBEIRO et al., 2012). Sabe-se que os rios avaliados nesta pesquisa infelizmente recebem o despejo de efluentes industriais contaminados e esgotos domésticos (COMPESA, 2016; NASCIMENTO et al., 2016; ARAÚJO, 2014; PHA, 2010; ALVES et al., 2017), conseqüentemente, houve influência sobre o resultado obtido.

Os bovinos tinham acesso ao local onde estavam presentes o maquinário agrícola, principalmente forrageiras e tratores, em 9,5% (2/21) das fazendas em que o Cr foi detectado nas amostras analisadas. Não foi possível verificar se o acesso dos animais ao maquinário agrícola foi um fator de risco, pois o metal foi detectado em 100,0% (40/40) das amostras de soro sanguíneo das vacas que tinham acesso ao maquinário das propriedades, porém houve uma associação significativa ($p<0,001$). Segundo Sobrinho e Tenório (2004), os resíduos gerados no processo de fabricação de aço inoxidável representam um problema para as siderúrgicas devido ao teor de metais pesados e a forma hexavalente do Cr. Sobrinho e Tenório (2002) relataram a recuperação de Cr e Ni a partir de poeiras geradas na produção de aço inoxidável. Logo, como o Cr é um metal que faz parte da constituição do aço, o contato das vacas com o maquinário agrícola pode ter exercido influência na presença deste elemento no soro sanguíneo dos animais.

CONCLUSÃO

O estudo epidemiológico realizado no presente trabalho é mais frequentemente verificado para doenças infecciosas, não tendo sido observadas pesquisas desta natureza para metais no soro sanguíneo de bovinos na região analisada. O Cr encontra-se difundido entre os rebanhos avaliados do Agreste de Pernambuco, diferentemente do que foi visto para o Cd. Compreender os fatores de risco associados à detecção destes metais no sangue de bovinos é

importante pois a partir daí é possível adotar uma série de medidas a fim de se evitar intoxicações e a bioacumulação dos elementos no organismo animal, além de permitir o controle da transferência destes para a carne e o leite, o que é essencial para à saúde pública. É fundamental, portanto, que os proprietários fiquem atentos à utilização correta de fertilizantes, solicitem de forma periódica a análise da água e alimentos consumidos pelas vacas leiteiras, além do solo, para avaliar a composição e qualidade dos mesmos. Manter os bovinos afastados de rodovias, áreas industriais e maquinário agrícola também é necessário para o controle do Cd e Cr no soro sanguíneo dos animais.

REFERÊNCIAS

ALVES, S.M.S.; SILVA, E.S.; MATIAS, G.F.; NEVES, D.M.; ARAÚJO, M.R.; LIMA, E.S.; ARAÚJO, M.S.L.C. **Avaliação da qualidade hidroambiental do rio Una em um trecho de São Bento do Una, Agreste pernambucano**. Anais do Congresso Nordestino de Biólogos (Congrebio). João Pessoa, 2017. Disponível em: <<http://congresso.rebibio.net/congrebio2017/trabalhos/pdf/congrebio2017-et-09-011.pdf>>.

Acesso em 20 jan. 2019.

ARAÚJO, L.B. Influência dos municípios pernambucanos na poluição da bacia do rio Mundaú com esgoto doméstico. **Revista Especialize On-line IPOG**, v.1, n.7, p.1-13, 2014.

ARSLAN, H.H.; SARIPINAR AKSU, D.S.; OZDEMIR, S.; YAVUZ, O.; OR, M.E.; BARUTCU, U.B. Evaluation of the relationship of blood heavy metal trace element levels and antioxidative metabolism in cattle which are living near the trunk roads. **Journal of the Faculty of Veterinay Medicine, Kafras University**, v.17, p.77-82, 2011.

BDE, 2016. **Base de Dados do Estado**. Meio Ambiente. Cobertura Vegetal Primitiva. Disponível em: <http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?codFormatacao=699&CodInformacao=634&Cod=1>. Acesso em 08 jan. 2019.

BDE, 2017. **Base de Dados do Estado**. Meio Ambiente. Tipologia Climática. Disponível em: <http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?codFormatacao=706&CodInformacao=633&Cod=1>. Acesso em 08 jan. 2019.

BDE, 2019. **Base de Dados do Estado**. Posição e Extensão. Posição Geográfica das Sedes dos Municípios. Disponível em: <http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?codFormatacao=703&CodInformacao=280&Cod=1>. Acesso em 08 jan. 2019.

BRAGA, B. **Introdução à engenharia ambiental**. 2ª ed. São Paulo: Prentice Hall, 2002.

CHAND, N; TYAGI, S.; PRASAD, R.; SIROHI, A.S.; SRIVASTAVA, N.; KUMAR, S.; YADAV, B.P.S. Heavy metal and trace mineral profile in blood and hair of cattle reared around industrial effluent contaminated area. **Journal of Animal Research**, v.7, n.4, p.685-689, 2017.

CLIMATE-DATA, 2019. **Dados climáticos para cidades mundiais**. América do Sul. Brasil. Pernambuco. Garanhuns. Clima Garanhuns. Disponível em: <<https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/pernambuco/garanhuns-4458/>>. Acesso em 09 jan. 2019.

COMPESA, 2016. **Companhia Pernambucana de Saneamento**. Plano de Comunicação do Programa de Saneamento Ambiental da Bacia Hidrográfica do Rio Ipojuca. Volume I: Mapeamento, Análises das Áreas e dos Públicos. Disponível em: <https://servicos.compesa.com.br/wp-content/uploads/2016/02/volume1_plano_executivo-ilovepdf-compressed.pdf>. Acesso em 20 jan. 2019.

EKICI, H.; SIMSEK, Ö.; ARIKAN, S.; EREN, M.; GÜNER, B. Comparing levels of certain heavy metals and minerals and oxidative metabolism in cows raised near and away from highways. **Turkish Journal Veterinary and Animal Sciences**, v.39, p.322-327, 2015.

GOMES, A.C.S.; LINDINO, C.A.; GONÇALVES JÚNIOR, A.C.; GOMES, G.D. Determinação de Cd, Cr e Pb no leite e na alimentação bovina do Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.72, n.3, p.211-218, 2013.

GONÇALVES JÚNIOR, A.C.; SOUSA, R.F.B.; COELHO, G.F.; GUIMARÃES, V.F.; SCHWANTES, D.; SILVA, T.R.B.; SANTOS, M.G.; PARIZOTTO, A.A.; SELZLEIN, C.; CAMPAGNOLO, M.A. Dinâmica dos metais Cd e Pb no solo e a capacidade de adaptação das plantas em ambientes contaminados. **Journal of Agronomic Sciences**, v.4, p.31-55, 2015.

HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S. **Applied Logistic Regression**. New York: John Wiley and Sons. 1989. 241p.

IBGE, 2017. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Pesquisa da Pecuária Municipal. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=resultados>>. Acesso em 08 jan. 2019.

LEONIDIS, A.; CRIVINEANU, V.; GORAN, G.V.; CODREANU, M.D. The level heavy metals in blood and milk from cattle farmed near polluting industries in the Province of Thessalonic. **Lucrări Stiintifice Medicină Veterinară**, v.43, p.153-158, 2010.

LÓPEZ ALONSO, M.; BENEDITO, J.L.; MIRANDA, M.; CASTILO, C.; HERNÁNDEZ, J.; SHORE, R.F. Arsenic, cadmium, lead, copper and zinc in cattle from Galicia, NW Spain. **The Science of the Total Environment**, v.246, p.237-248, 2000.

MARÇAL, W.S.; BUTURE, I.O.; CARVALHO, M.C.; FORTES, M.S.; SILVA, R.A. Níveis de chumbo e cádmio em suplementos minerais para bovinos comercializados em Londrina. **Ciências Agrárias**, v.25, n.4, p.359-364, 2004.

MARÇAL, W.S.; NASCIMENTO, M.R.; MENCK, M.F. Níveis de metais pesados em suplementos minerais para bovinos comercializados em Londrina. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.9, n.3, p.592-601, 2015.

NASCIMENTO, S.P.G.; SANTOS, J.R.U.; SANTOS, E.O.; PINTO, J.E.S.S. **Fatores da degradação ambiental da bacia hidrográfica do Rio Ipanema**. 4º GeoAlagoas: Simpósio sobre as geotecnologias e geoinformação no Estado de Alagoas. Maceió, 2016. Disponível em: <<http://dados.al.gov.br/dataset/335fcc77-1d45-4ad6-9542->

[c29330187507/resource/3e76ccce-a6a5-44dc-b354-](https://doi.org/10.29330/187507/resource/3e76ccce-a6a5-44dc-b354-2680743ef685/download/fatoresdadegradacaoambientaldabaciahidrograficadorioipanema.pdf)

[2680743ef685/download/fatoresdadegradacaoambientaldabaciahidrograficadorioipanema.pdf](https://doi.org/10.29330/187507/resource/3e76ccce-a6a5-44dc-b354-2680743ef685/download/fatoresdadegradacaoambientaldabaciahidrograficadorioipanema.pdf)

>. Acesso em 20 jan. 2019.

NAVA, I.A.; GONÇALVES JÚNIOR, A.C.; NACKE, H.; GUERINI, V.L.; SCHWANTES, D. Disponibilidade dos metais pesados tóxicos cádmio, chumbo e cromo no solo e tecido foliar de soja adubada com diferentes fontes de NPK+Zn. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.5, p.884-892, 2011.

NUNES, R.M.; OLIVEIRA, R.M.S.; BENINI, S.M. **Avaliação do risco do cromo presente no lodo de indústrias de curtume**. VIII Fórum Ambiental de Alta Paulistana, v.8, n.12, p.222-232, 2012. Disponível em: <http://www.amigosdanatureza.org.br/publicacoes/index.php/forum_ambiental/article/view/368/379>. Acesso em 28 fev. 2019.

NWUDE, D.O.; OKOYE, P.A.C.; BABAYEMI, J.O. Blood heavy metal levels in cows at Slaughter at Awka Abattoir, Nigeria. **International Journal of Dairy Science**, v.5, n.4, p.264-270, 2010.

NWUDE, D.O.; BABAYEMI, J.O.; ABHULIMEN, I.O. Metal quantification in cattle: a case of cattle at slaughter at Ota Abattoir, Nigeria. **Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences**, v.3, n.9, p.271-274, 2011.

OGABIELA, E.E.; YEBPELLA, G.G.; ADESINA, O.B.; UDIBA, U.U.; ADE-AJAYI, F.A.; MAGOMYA, A.M.; HAMMUEL, C.; GANDU, I.; MMEREOLE, U.J.; ABDULLAHI, M. Assessment of metals levels in cow blood from cow's grazed around Zango, Zaria and Challawa Industrial Estate, Kano – Nigeria. **Journal Applied Environmental Biological Sciences**, v.1, n.4, p.69-73, 2011.

ORISAKWE, O.E.; OLADIPO, O.O.; AJAEZI, G.C.; UDOWELLE, N.A. Horizontal and vertical distribution of heavy metals in farm produce and livestock around lead-contaminated goldmine in Dareta and Abare, Zamfara State, Northern Nigeria. **Journal of Environmental and Public Health**, v.2017, p.1-12, 2017.

ORJALES, I.; HERRERO-LATORRE, C.; MIRANDA, M.; REY-CRESPO, F.; RODRÍGUEZ-BERMÚDEZ, R.; LÓPEZ-ALONSO, M. Evaluation of trace element status of organic dairy cattle. **Animal**, v.12, n.6, p.1296-1305, 2018.

PHA, 2010. **Plano Hidroambiental da Bacia Hidrográfica do Rio Capibaribe: Resumo Executivo/Projetos Técnicos**. Recife, 2010. Disponível em: <http://www.apac.pe.gov.br/down/PHA_Capibaribe_TOMO_V_Mapas.pdf>. Acesso em 20 jan. 2019.

REIS, J. C. **Estatística aplicada à pesquisa em Ciência Veterinária**. Olinda: J.C.R., 2003. 651p.

RIBEIRO, E.V.; MAGALHÃES JÚNIOR, A.P.; HORN, A.H.; TRINDADE, W.M. Metais pesados e qualidade da água do rio São Francisco no segmento entre Três Marias e Pirapora – MG: índice de contaminação. **Geonomas**, v.20, n.1, p.49-63, 2012.

SOBRINHO, P.J.N.; TENÓRIO, J.A.S. **Reciclagem de cromo e níquel a partir de resíduos siderúrgicos**. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais. Natal, 2002. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/266343687_RECICLAGEM_DE_CROMO_E_NIQUEL_A_PARTIR_DE_RESIDUOS_SIDERURGICOS>. Acesso em 06 de fev. de 2019.

SOBRINHO, P.J.N.; TENÓRIO, J.A.S. Utilização de um aparato em escala de laboratório para o estudo da recuperação do cromo contido em resíduos gerados na produção de aço inoxidável. **Revista Escola de Minas Gerais**, v.57, n.3, p.177-182, 2004.

SOUZA, R.M.P.; LEÃO, V.A.; PINA, P.S. Remoção de metais pesados em resíduos sólidos: o caso das baterias de celular. **Revista Escola de Minas**, v.58, n.4, p.375-379, 2005.

SOUZA, M.V.; VIANNA, M.W.S.; ZANDIM, B.M.; FERNANDES, R.B.A.; FONTES, M.P.F. Metais pesados em amostras biológicas de bovinos. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1774–1781, 2009.

SUTTLE, N.F. **Mineral Nutrition of Livestock**. 4^a ed. Pondicherry: Mixed Sources, 2010.

THRUSFIELD, M.V. **Epidemiologia Veterinária**. 2^a ed. São Paulo: Roca, 2004

TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V.; BARBOSA, J.D.; BRITO, M.F.; DÖBEREINER, J. **Deficiências Minerais em Animais de Produção**. 1^a ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2010.

TOMZA-MARCINIAK, A.; PILARCZYK, B.; BAKOWSKA, M.; PILARCZYK, R.; WÓJCIK, J. Heavy metals and other elements in serum of cattle from organic and conventional farms. **Biological Trace Element Research**, v. 143, p. 863 – 870, 2011^a.

TOMZA-MARCINIAK, A.; PILARCZYK, B.; BAKOWSKA, M.; PILARCZYK, R.; WÓJCIK, J. MARCINIAK, A.; HENDZEL, D. Relationship between selenium and selected heavy metals concentration in serum of cattle from a non-polluted área. **Biological Trace Element Research**, v.144, p.517-524, 2011^b.

VILELA, D.; FERREIRA, R.P.; FERNANDES, E.N.; JUNTOLLI, F.V. **Pecuária de Leite no Brasil – Cenários e Avanços Tecnológicos**. 1^a ed. Brasília: Embrapa, 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164236/1/Pecuarria-de-leite-no-Brasil.pdf>>. Acesso em 26 fev. 2019.

VILLA, R.D.; SILVA, M.R.A.; NOGUEIRA, R.F.P. Potencial de aplicação do processo foto-fenton/solar como pré-tratamento de efluente da indústria de laticínios. **Química Nova**, v.10, n.8, p.1799-1803, 2007.

6.3. Artigo 3

Fatores de risco associados à presença de chumbo e cádmio no leite cru de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil

Alexandre Tadeu Mota Macedo, Rodolpho Almeida Rebouças, Uila Almeida Aragão de Alcantara, Felipe Rosendo Correia, Paulo Ricardo da Silva, Natália Juliane Araújo de Sant'ana, Ana Paula Silveira Paim, Júnior Mário Baltazar de Oliveira, José Augusto Bastos Afonso e Pierre Castro Soares

RESUMO

A presença de metais tóxicos no leite bovino representa um perigo para a saúde pública. Em razão da importância econômica e social do leite, bem como dos riscos associados a sua contaminação por estes elementos químicos, objetivou-se determinar as concentrações e analisar os fatores de risco relacionados à presença de Pb e Cd no leite cru de vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco. Para a avaliação dos metais foram utilizadas 375 amostras de leite cru de vacas leiteiras provenientes de 25 propriedades, distribuídas em 11 municípios do Agreste do Estado. Os animais utilizados neste estudo eram vacas mestiças, de idades variadas e em diferentes momentos da lactação, provenientes de rebanhos do Agreste Central e Meridional. Um questionário epidemiológico foi aplicado em cada fazenda com a finalidade de identificar os possíveis fatores de risco associados à presença dos elementos nas amostras biológicas. O leite cru foi submetido à digestão por radiação micro-ondas e, posteriormente, os metais foram determinados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), utilizando a curva analítica de 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 8,0 e 10 mg/l. Os fatores de risco associados à presença de Pb e Cd nas amostras de leite cru identificados estavam relacionados principalmente ao manejo nutricional, região, água e sistema de criação adotado nas propriedades, além da proximidade das fazendas em relação às rodovias e o acesso dos animais ao maquinário agrícola. As informações referentes aos fatores de risco são fundamentais para que sejam tomadas medidas que visem o controle sanitário do leite, reduzindo, portanto, os perigos de sua ingestão para a saúde pública.

Palavras-chave: diagnóstico, epidemiologia, metais pesados, profilaxia, ruminantes.

ABSTRACT

The presence of toxic metals in bovine milk represents a danger to public health. Due to the economic and social importance of the milk, as well as the risks of its contamination by these chemical elements, the objective of this study was to determine concentrations and to analyze the risk factors related to the presence of Pb and Cd in the raw milk of dairy cows of Agreste of Pernambuco. For the evaluation of the metals 375 samples of raw milk from dairy cows from 25 farms were used, distributed in 11 cities of Agreste of State. The animals used in this study were crossbred cows of varied ages and at different moments lactation periods from

herds of Agreste Central and Meridional. An epidemiological questionnaire was applied in each farm in order to identify the possible risk factors associated with the presence of the elements in the biological samples. The raw milk was subjected to digestion by microwave radiation and, subsequently, the metals were determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES), using the analytical curve of 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 8.0 and 10 mg/l. The risk factors associated with the presence of Pb and Cd in the raw milk samples identified were mainly related to the nutritional management, region, water and the creation system adopted in the properties, besides the proximity of the farms in relation to the highways and the access from animals to agricultural machinery. Information on risk factors is essential for measures to be taken to control milk quality, thus reducing the hazards of its intake to public health.

Keywords: diagnosis, epidemiology, heavy metals, prophylaxis, ruminants.

INTRODUÇÃO

O agronegócio é um importante segmento econômico do Brasil, responsável por 33% do Produto Interno Bruto (PIB), 42% das exportações e 37% dos empregos. A pecuária leiteira tem uma importância significativa, uma vez que está presente em todo o território nacional, apresenta um volume de produção crescente e destaca-se pela geração de emprego e renda. É importante considerar a interiorização da geração desses empregos e a renda em virtude da produção primária, pelo processamento em laticínios e por meio da comercialização de insumos veterinários e agrônômicos, bem como pela prestação de serviços. Nos municípios menos dinâmicos e com restritas alternativas econômicas, o PIB municipal tem no leite uma importante atividade (VILELA et al., 2016).

O Agreste é a região em que há a maior produção de leite bovino do Estado de Pernambuco. O leite é um alimento muito importante e benéfico na dieta humana (QIN et al., 2009; GARBA; ABDULLAHI; ABDULLAHI, 2018). A contaminação deste alimento é motivo de grande preocupação sanitária em função do seu elevado consumo pela população e enorme extensão do país, que acaba se tornando um fator limitante para uma fiscalização adequada (GOMES et al., 2013). Gonçalves, Mesquita e Gonçalves (2008), Souza et al. (2009), Gomes et al. (2013) e Marcolino (2014) identificaram a presença de chumbo (Pb) e cádmio (Cd) em amostras de leite no Brasil, este último, inclusive, em cinco municípios do Agreste Meridional de Pernambuco.

Nos humanos, o Pb acomete todos os órgãos e sistemas do organismo, levando principalmente a distúrbios neurológicos, hematológicos, endócrinos, renais, cardiovasculares, gastrintestinais, efeitos carcinogênicos, sobre o crescimento e a reprodução

(MOREIRA; MOREIRA, 2004). Já a exposição ao Cd pode levar à hipertensão, atrofia muscular, osteoporose, câncer, distúrbios hepáticos, gástricos, cardíacos, respiratórios, na visão, alterações na memória e cognitivas (FERNANDES; MAINIER, 2014).

Há trabalhos que avaliaram a relação entre áreas consideradas contaminadas, principalmente devido a atividades industriais, com a presença de metais no leite proveniente de vacas que pastavam próximas a esses locais (SOUZA et al., 2009; LEONIDIS et al., 2010; NOROUZIRAD et al., 2018). No Agreste de Pernambuco existem indústrias principalmente de laticínios, têxteis e fábricas produtoras de baterias para veículos automotores. Pesquisas relatando a ocorrência de metais tóxicos no leite de bovinos no Nordeste do Brasil são escassas, inclusive não se tem conhecimento sobre um estudo epidemiológico com essa temática e desta magnitude no país. É fundamental, portanto, o conhecimento a respeito da presença destes elementos nocivos à saúde animal e humana no leite bovino, assim como investigar as possíveis fontes de contaminação. Desta forma, objetivou-se com este trabalho determinar as concentrações e analisar os fatores de risco associados ao Pb e Cd no leite cru de vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada com a licença da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) nº 29/2017. O estudo epidemiológico empregado neste trabalho foi do tipo transversal. Para o cálculo do tamanho da amostra (n) considerou-se um efetivo de 55.945 vacas em produção do Agreste Central de Pernambuco. Este dado foi fornecido mediante solicitação realizada ao escritório da Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária do Estado de Pernambuco (ADAGRO), localizado no município de Garanhuns, em 2016. A prevalência esperada foi de 50% para a presença dos metais no leite cru, intervalo de confiança de 95% e erro estatístico de 10%. Estes parâmetros forneceram um número de 97 vacas a serem coletadas (THRUSFIELD, 2004).

Foram analisadas 375 amostras de leite cru de vacas leiteiras provenientes de 25 propriedades, distribuídas em 11 municípios do Agreste de Pernambuco, coletadas entre maio e dezembro de 2017 (Tabela 1). Os animais utilizados neste estudo eram vacas mestiças, de idades variadas e em diferentes momentos da lactação, provenientes de nove municípios do Agreste Central (Sanharó, Pesqueira, Alagoinha, Poção, Belo Jardim, Tacaimbó, São Bento do Una, Cachoeirinha e Caruaru) e dois do Agreste Meridional (Venturosa e Garanhuns). As amostras de leite cru foram coletadas de bovinos que consumiam a água, pastavam às margens

ou que se alimentavam de forragem submetida à irrigação pelas águas dos rios Ipojuca, Ipanema, Mundaú, Capibaribe e Una. Em cada propriedade foi aplicado um questionário epidemiológico com informações relacionadas à localização, sistema de criação, manejo nutricional, mineralização, fontes hídricas, maquinário agrícola, utilização de produtos químicos, proximidade de rodovias, lixões ou aterros sanitários e indústrias. As propriedades foram selecionadas por conveniência e a coleta das amostras de leite ocorreu de forma aleatória nos animais dos rebanhos.

Tabela 1. Municípios, número de animais e de propriedades do Agreste de Pernambuco onde as amostras de leite cru dos bovinos foram coletadas.

Municípios	Nº de animais	Propriedades
Sanharó	89	8
Pesqueira	65	3
Venturosa	15	1
Algoíinha	30	2
Garanhuns	13	1
Poção	21	1
Belo Jardim	35	2
Tacaimbó	15	1
São Bento do Una	59	3
Cachoeirinha	14	1
Caruaru	19	2
TOTAL	375	25

As amostras de leite cru foram coletadas manualmente após a realização do pré-dipping, durante as ordenhas da manhã ou da tarde, em recipientes plásticos de 50 ml, mantidas sob refrigeração em caixa isotérmica (4 °C) e encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica da Clínica de Bovinos, campus Garanhuns, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CBG/UFRPE). O leite foi armazenado e mantido em freezer (-30 °C) para posterior processamento laboratorial.

A digestão das amostras biológicas foi realizada através de radiação por micro-ondas, em que 1ml de leite cru foi posto em frascos digestores de perfluoralcóxi (PFA) sendo acrescentado, em seguida, 5 ml de ácido nítrico (HNO₃ a 65% PA). O equipamento Multiwave 3000 Anton Paar® foi utilizado neste procedimento, que durou 17 minutos (etapa

1: 100 °C – 10 min, etapa 2: 140 °C – 2 min e etapa 3: 30 °C – 5 min) e o resfriamento dos frascos digestores ocorreu em 30 minutos. Foram acrescentados posteriormente 9 ml de água proveniente de osmose reversa para cada amostra, a solução foi armazenada em tubos coletores cônicos de polietileno (Falcon®) com capacidade para 15 ml. A digestão do leite ocorreu no Laboratório de Doenças Metabólicas e Nutricionais do Centro de Estudos Avançados em Caprinos e Ovinos do Departamento de Medicina Veterinária (LDMN/DMV) da UFRPE.

A determinação de Pb e Cd ocorreu por meio de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), utilizando-se aparelho modelo ICP OES Optima 7000 DV (PerkinElmer, EUA®). Os parâmetros utilizados na análise pelo ICP OES estão descritos na tabela 2. A curva analítica utilizada (0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 8,0 e 10 mg/l) foi estabelecida na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (DQF) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), local onde foi realizada esta etapa do processamento das amostras.

Tabela 2. Parâmetros utilizados na análise pelo ICP OES.

Parâmetros instrumentais	ICP OES
Potência RF (kW)	1,3
Vazão de gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,8
Vazão de gás auxiliar (L min ⁻¹)	0,2
Vazão de gás do plasma (L min ⁻¹)	15
Taxa de aspiração da amostra (mL min ⁻¹)	1,0
Tempo de integração (s)	8
Tempo de estabilização (s)	20
Tempo de leitura (s)	27
Nebulizador	Concêntrico
Câmara de nebulização	Ciclônica
Visão de plasma	Axial
Altura de observação (mm)	15
Pontos por pico	7
Comprimento de onda (nm)	Pb – 220,353; Cd – 228,802

Os dados quantitativos foram expressos em média e desvio padrão e os qualitativos em frequências relativas e absolutas. Inicialmente, testou-se a normalidade das

concentrações obtidas dos metais Pb e Cd em amostras de leite cru provenientes dos municípios estudados, para isso, os dados foram submetidos aos testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk para a avaliação da distribuição dos resultados. Em seguida, realizou-se uma análise de variância (Teste F) e pelos testes de Tukey e Duncan para a comparação dos resultados obtidos em cada município para o leite cru (REIS, 2003). O programa IBM SPSS *Statistics* 23.0 foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos supracitados.

O estudo dos fatores de risco associados à detecção dos metais nas amostras de leite cru foi realizado por meio de uma análise de associação das variáveis epidemiológicas com os resultados obtidos através do ICP-OES. Para a realização desta análise de associação foram usados os testes de Qui-quadrado de Pearson e Exato de Fisher. Em seguida, para a identificação dos fatores de risco utilizou-se o modelo de regressão logística considerando como variável dependente os resultados das análises do ICP-OES (detectado ou não-detectado). As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância estatística menor que 0,20 na análise de associação. Essa probabilidade foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não fossem excluídos da análise (HOSMER; LEMESHOW, 1989). O programa EpiInfoTM 7 foi utilizado como auxílio para os cálculos da análise dos fatores de risco. O nível de significância adotado foi de 5,0 %.

RESULTADOS

A média geral das concentrações de Pb no leite cru das vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco foi de $1,13 \pm 0,75$ mg/l. Os valores mais elevados do metal foram observados no leite dos bovinos provenientes do município de Caruaru ($1,68 \pm 0,69$ mg/l), no Agreste Central. Com relação ao Cd, a concentração média foi de $1,0 \pm 4,0$ µg/l, e os maiores níveis deste metal nas amostras biológicas ocorreram nos municípios de Pesqueira ($3,0 \pm 7,0$ µg/l), no Agreste Central, e Venturosa ($4,0 \pm 6,0$ µg/l), no Agreste Meridional (Tabela 3).

Tabela 3. Concentrações (média e desvio padrão) de Pb e Cd no leite cru de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.

Municípios	Pb¹ (mg/l)	Cd¹ (µg/l)
Sanharó	1,59±0,82 ^{AB}	1,0±3,0 ^{AB}
Pesqueira	0,91±0,69 ^C	3,0±7,0 ^A
Venturosa	0,53±0,54 ^C	4,0±6,0 ^A
Alagoinha	0,81±0,62 ^C	1,0±3,0 ^{AB}
Garanhuns	0,79±0,43 ^C	ND
Poção	0,68±0,56 ^C	ND
Belo Jardim	1,01±0,56 ^{BC}	ND
Tacaímbó	1,03±0,41 ^{ABC}	ND
São Bento do Una	1,18±0,66 ^{ABC}	ND
Cachoeirinha	1,01±0,77 ^{BC}	ND
Caruaru	1,68±0,69 ^A	ND
Médias	1,13±0,75	1,0±4,0

ND – abaixo do limite mínimo da curva analítica; ¹Teste de Tukey; Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística ao nível de 5%. No cálculo das médias e desvio padrão, os valores ND foram considerados como zero.

Nas tabelas 4 e 5 estão dispostas as análises dos fatores de risco associados a detecção do Pb e Cd, respectivamente, no leite cru de vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco. O Pb foi detectado em 86,4% (324/375) das amostras de leite cru analisadas, em 100,0% dos municípios (11/11) e 100,0% das propriedades (25/25). Os fatores de risco associados a detecção do Pb nas amostras biológicas foram: proximidade das propriedades em relação à rodovias (OR=2,1; I.C.=1,1-4,0; p=0,022) e a não realização da análise da água consumida pelos bovinos (OR=2,0; I.C.=1,1-3,9; p=0,033).

Tabela 4. Análise dos fatores de risco associados a detecção de Pb no leite cru de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.

Variável	N	Detectado n (%)	Valor P	Regressão	Valor P
				logística OR (IC 95%)	
Propriedades próximas à rodovias					
Sim	206	189 (91,8%)	0,020^{2*}	2,1 (1,1 – 4,0)	0,022*
Não	169	142 (84,0%)			
Análise da água					
Sim	95	78 (82,1%)	0,031^{1*}	2,0 (1,1 – 3,9)	0,033*
Não	280	253 (90,4%)			

N- Número total de amostras; n – número de amostras detectadas; OR – *Odds Ratio* (Razão de Chance); ¹Teste do Qui-quadrado de Pearson; ²Teste do Exato de Fisher; *Associação significativa ao nível de 5,0%.

O Cd foi detectado em 7,2% (27/375) das amostras de leite, em 36,4% (4/11) dos municípios e 28,0% (7/25) das propriedades. Três fatores de risco associados a detecção deste metal no leite cru dos bovinos foram identificados: a região do Agreste Meridional (OR=3,3; I.C.=1,1-9,7; p=0,024), sistema de criação intensivo (OR=5,9; I.C.=2,5-14,1; p<0,001) e acesso dos animais ao maquinário agrícola, como tratores e forrageiras (OR=8,1; I.C.=3,4-19,2; p<0,001).

Tabela 5. Análise dos fatores de risco associados à detecção do Cd no leite cru de vacas leiteiras do Estado de Pernambuco, Brasil.

Variável	N	Detectado n (%)	Valor P	Regressão	
				logística OR (IC 95%)	Valor P
Região					
Agreste Meridional	28	5 (17,9%)	0,018^{1*}	3,3 (1,1 – 9,7)	0,024[*]
Agreste Central	347	21 (6,1%)			
Sistema de criação					
Intensivo	114	18 (15,8%)	< 0,001^{1*}	5,9 (2,5 – 14,1)	< 0,001[*]
Semi-intensivo	261	8 (3,15)			
Acesso dos animais ao maquinário agrícola					
Sim	40	11 (27,5%)	< 0,001^{1*}	8,1 (3,4 – 19,2)	< 0,001[*]
Não	335	15 (4,5%)			

N- Número total de amostras; n – número de amostras detectadas; OR – *Odds Ratio* (Razão de Chance); ¹Teste do Qui-quadrado de Pearson; *Associação significativa ao nível de 5,0%.

DISCUSSÃO

A concentração média de Pb no leite cru das vacas leiteiras do Agreste de Pernambuco foi superior a observada por Gonçalves, Mesquita e Gonçalves (2008), no leite pasteurizado no Centro do Estado de Goiás (0,26±0,23 mg/l); Leonidis et al. (2010), no leite cru de vacas criadas próximo de uma indústria de fundição de Pb e Zn na cidade de Tessalônica, na Grécia (0,85 mg/l); Gomes et al. (2013), no leite *in natura* do município de Marechal Cândido Rondon, Estado do Paraná (0,47±0,31 mg/l) e Marcolino (2014), no município de Jucati, no Agreste Meridional de Pernambuco (0,12 mg/l). Porém, o resultado observado no presente estudo foi semelhante ao relatado por Swarup et al. (2005), para o metal presente no leite cru de vacas criadas em diferentes áreas com presença de atividades industriais na Índia (1,09±0,43 mg/l). As diferenças entre as concentrações de Pb no leite observadas neste trabalho e as relatadas por Gonçalves, Mesquita e Gonçalves (2008), Gomes et al. (2013) e Marcolino (2014) provavelmente se devem ao fato de que estes pesquisadores realizaram seus estudos em áreas consideradas não contaminadas. Entretanto, as semelhanças entre os níveis deste metal no leite das vacas do Agreste pernambucano e os verificados por

Swarup et al. (2005) e Leonidis et al. (2010) estão ligadas principalmente ao acesso dos bovinos a áreas industriais poluídas.

Marcolino (2014) já havia relatado valores elevados ($0,09 \pm 0,04$ mg/l) para o Pb no leite cru proveniente de cinco municípios do Agreste Meridional de Pernambuco, chegando a concentrações de 0,30 mg/l. O autor observou que os níveis do metal estavam acima do limite máximo permitido pela legislação brasileira, que é de 0,02 mg/kg, estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2013). No presente trabalho foi verificado que a concentração média de Pb no leite cru proveniente dos animais avaliados foi 12 vezes maior em comparação ao estudo supracitado e muito superior ao que estabelece a ANVISA (2013). Esse resultado é motivo de extrema preocupação para a saúde pública e provavelmente está ligado às condições em que o estudo foi realizado.

Os valores mais elevados de Pb foram observados no leite dos bovinos provenientes de Caruaru. Este resultado possivelmente está diretamente relacionado à poluição das águas do rio Ipojuca (COMPESA, 2016), além disso, outros fatores podem ter contribuído, como a alimentação, baseada em pastagem, capim de corte, casca de mandioca, ração concentrada (SUTTLE, 2010) e suplementação mineral (GOMES et al., 2013; MARÇAL; NASCIMENTO; MENCK, 2015); ao sistema de criação semi-intensivo; utilização da água do rio para irrigação e de produtos químicos (fertilizantes e/ou agrotóxicos) e proximidade das fazendas em relação às rodovias (SUTTLE, 2010). Os proprietários de ambas as fazendas avaliadas neste município informaram no questionário epidemiológico que tinham conhecimento sobre a poluição do rio Ipojuca, um deles chegou a afirmar, inclusive, que o grande volume de águas observado no período das coletas, em dezembro de 2017, era devido ao despejo de esgotos domésticos e de efluentes industriais.

Com relação ao Cd, a concentração média deste elemento no leite cru das vacas do Agreste pernambucano foi inferior a relatada por Gonçalves, Mesquita e Gonçalves (2008), no leite pasteurizado no Leste do Estado de Goiás ($40,0 \pm 60,0$ µg/l); Leonidis et al. (2010), no leite cru de vacas que viviam em áreas não poluídas, na Grécia (124,0 µg/l); Pilarczyk et al. (2013), no leite de vacas da raça Simental, na Polônia ($3,0 \pm 0,4$ µg/l) e Marcolino (2014), na cidade de Jupi, no Agreste Meridional de Pernambuco (22,0 µg/l). No entanto, os valores observados no presente trabalho foram superiores aos verificados por Zhou et al. (2019), no leite cru de vacas provenientes das principais áreas produtoras de leite na China, que descreveram concentrações deste elemento entre 0,02 e 0,09 µg/l. As diferenças verificadas entre as concentrações de Cd observadas no presente estudo e as descritas por Gonçalves, Mesquita e Gonçalves (2008), Leonidis et al. (2010), Pilarczyk et al. (2013) e

Marcolino (2014) possivelmente devem-se a um conjunto de fatores, são eles: diferenças entre os tipos de amostras de leite utilizadas, bem como de metodologias para a digestão e quantificação do metal, localização geográfica, sistemas de criação dos animais, diferenças raciais entre os bovinos, contaminação ou não das áreas onde as vacas eram criadas, entre outros. Já as divergências entre os níveis do Cd no leite bovino do Agreste pernambucano e os relatados por Zhou et al. (2019) podem estar ligadas também a localização geográfica e diferenças entre metodologias utilizadas, mas principalmente pelo fato das amostras terem sido coletadas de animais em regiões consideradas como não poluídas.

Okada et al. (1997) analisaram 218 amostras de leite, sendo 139 *in natura* e 79 pasteurizadas, provenientes da região do Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, e relataram que os níveis de Cd em todas as amostras foram menores que o limite de quantificação do método, que foi de 20,0 µg/l. Souza et al. (2009) também não detectaram o metal em 40 amostras de leite cru em três municípios de Minas Gerais, mesmo com o menor limite de detecção alcançado. Gomes et al. (2013) relataram que em 57,1% (4/7) das propriedades em que foram coletadas amostras de leite *in natura* no município de Marechal Cândido Rondon, no Paraná, o Cd esteve abaixo do limite de quantificação. No presente trabalho, em 92,8% (348/375) das amostras de leite cru analisadas, este metal também encontrava-se abaixo do limite mínimo da curva analítica utilizada. As concentrações mais elevadas de Cd foram verificadas no leite das vacas de Pesqueira e Venturosa, mesmo assim estiveram abaixo do limite máximo permitido pela legislação brasileira, que é de 0,05 mg/kg (ANVISA, 2013).

Foi possível verificar a ampla distribuição do Pb nas amostras de leite cru em rebanhos do Agreste de Pernambuco, provavelmente devido à uma combinação de vários fatores, dentre eles, a possível contaminação do solo e alimentos pelo metal, a proximidade das propriedades de rodovias e a poluição das águas dos rios da região. Sabe-se que a principal ameaça na pecuária para ruminantes quanto ao Pb vem do solo, uma vez que os animais o consomem juntamente com a forragem contaminada durante o pastejo. Além disso, se a pastagem contaminada com Pb é ensilada, ocorre migração descendente do metal no silo que pode levar a um aumento de até quatro vezes a concentração do elemento nas camadas mais baixas, chegando a níveis elevados, capazes de causar a intoxicação de um rebanho leiteiro (SUTTLE, 2010).

Gomes et al. (2013) identificaram o Pb na silagem, milho, cana e sal mineralizado. Marçal (2005) verificou níveis muito elevados de Pb em amostras de solo e capim, em uma área vizinha de uma fábrica produtora de baterias automotivas, já que este é o principal metal na manufatura de baterias. Em 64,0% (16/25) dos rebanhos positivos para a

presença deste metal tóxico nas amostras de leite, era adotado o sistema de criação semi-intensivo, além disso, em 56,0% (14/25) deles as vacas se alimentavam com silagem de milho, 44,0% (11/25) de palma, 32,0% (8/25) de pastagem, 24% (6/25) de bagaço-de-cana e casca de mandioca, 12,0% (3/25) de capim de corte e 8,0% (2/25) de cana moída. Logo, o sistema de criação bem como a alimentação fornecida aos animais podem ter contribuído para a elevada taxa de detecção deste metal pesado no leite cru das vacas.

Com relação ao Cd, houve uma distribuição bem menor entre as amostras de leite cru, municípios e propriedades, quando comparado ao Pb. Gomes et al. (2013) atribuíram a presença do metal no leite *in natura* à contaminação do sal mineralizado, uma vez que os teores deste elemento foram excedidos em 100% (3/3) das amostras analisadas. No presente trabalho, a presença do elemento nas amostras de leite esteve relacionada principalmente a localização das propriedades, sistema de criação e acesso dos animais ao maquinário agrícola. O emprego de produtos químicos nas fazendas, principalmente fertilizantes, é um ponto importante a ser considerado, pois em 57,1% (4/7) dos rebanhos positivos estes produtos eram utilizados. Segundo Suttle (2010), fertilizantes superfosfatos são uma das principais fontes de Cd. Gonçalves Júnior et al. (2015) relataram a contaminação do solo por este metal devido a ação antrópica em áreas agrícolas pelo uso de fertilizantes. De acordo com os autores, o uso destes produtos químicos é um dos grandes responsáveis pelo incremento da produção de alimentos, porém é necessário cuidado com as suas fontes, pois a poluição do solo com metais tóxicos já existe e pode ser agravada. Além disso, ressaltaram que apesar das plantas possuírem mecanismos de adaptação a ambientes contaminados, uma vez que os metais são absorvidos, entram na cadeia trófica tornando os animais susceptíveis, como os bovinos e o próprio homem, à contaminação indireta.

O conhecimento obtido através da análise dos fatores de risco sobre a presença de metais nas amostras analisadas é fundamental na implementação de práticas que visem o controle da contaminação do leite por estes elementos nocivos à saúde animal e humana, dada a importância deste alimento sobretudo para as crianças. Foram identificados dois fatores de risco relacionados à detecção do Pb nas amostras de leite cru das vacas do Agreste de Pernambuco e três ao Cd.

Em 76,0% (19/25) das fazendas onde o Pb foi identificado no leite cru das vacas do Agreste pernambucano, os proprietários informaram que nunca realizaram a análise da água fornecida aos animais a fim de avaliar a sua qualidade. A não realização da análise da água aumentou em duas vezes (I.C.=1,1–3,9; p=0,033) a detecção do Pb nas amostras de leite

analisadas. De acordo com Suttle (2010), a dispersão do lodo de esgoto é uma fonte contínua de contaminação antropogênica pelo Pb.

Infelizmente o lançamento de efluentes industriais contaminados e esgotos domésticos nas águas dos rios avaliados no presente estudo é um problema antigo e conhecido. No rio Ipojuca são encontrados dejetos provenientes dos esgotos ou do lixo jogado pela população, além de produtos químicos despejados por indústrias e lavanderias da região. De acordo com a Agência Estadual de Meio Ambiente (CPRH), em 2013, cerca de 20 empresas do município de Caruaru foram autuadas pelo lançamento indevido de substâncias no rio, porém o esgoto doméstico ainda é o fator mais preocupante. Há uma ocupação desordenada de imóveis nas margens do rio, que possuem canos de esgotamento direcionado para as águas, onde existe o despejo sem nenhum tipo de tratamento (COMPESA, 2016).

Ao longo dos anos o rio Ipanema tem sofrido com o desgaste ambiental, em virtude da construção de residências, de uma forma desordenada, em suas margens e, conseqüentemente, pelo despejo de efluentes químicos e resíduos domésticos, que agravam o ciclo hidrológico da bacia e a qualidade das águas (NASCIMENTO et al., 2016). Araújo (2014) avaliou a interferência humana, através de despejos domésticos, na bacia do rio Mundaú, onde estão cadastradas 12 indústrias e quatro delas lançam cargas poluidoras remanescentes dos processos industriais nos cursos de água do rio, de acordo com a CPRH. Além disso, os autores identificaram ainda que a bacia recebe alta carga de esgoto doméstico, pois apenas Garanhuns, dentre as cidades da bacia, é servida com sistemas públicos de coleta e tratamento de esgotos, porém só 11% é tratado, dessa forma, a maioria das águas servidas dos núcleos urbanos é lançada na rede de drenagem, ou segue a céu aberto alcançando os riachos e rios.

O rio Capibaribe, que tem o monitoramento da qualidade de suas águas realizado pela CPRH, apresenta-se poluído em todas as suas unidades de análise, devido, principalmente, às elevadas concentrações de amônia, fósforo e coliformes termotolerantes, em virtude do lançamento de esgotos domésticos e efluentes industriais acima da capacidade de autodepuração do rio (PHA, 2010). Alves et al. (2017) relataram que vários pontos amostrados do rio Una recebem constantemente o lançamento de esgotos domésticos, além de resíduos de sangue despejados por um matadouro de suínos, animais mortos e materiais plásticos. Os autores concluíram que a qualidade da água do rio Una é imprópria para uso, em decorrência do lançamento de efluentes e resíduos sólidos. Vários trabalhos evidenciam, portanto, a péssima qualidade das águas dos rios avaliados e que eram fornecidas aos animais, sem nenhum tipo de análise, na grande maioria das fazendas. O consumo da água dos rios

supracitados pelas vacas do Agreste de Pernambuco, sem uma análise prévia, e portanto, possivelmente contaminada por metais como o Pb, contribuiu para a elevada detecção deste elemento nas amostras de leite cru.

O sistema de criação intensivo era adotado em 28,6% (2/7) das propriedades em que o Cd foi detectado nas amostras de leite cru dos bovinos. O sistema intensivo aumentou em 5,9 vezes (I.C.=2,5–14,1; $p < 0,001$) a detecção do Cd no leite cru das vacas. O solo e as plantas estão entre as principais fontes deste metal nas propriedades rurais (SUTTLE, 2010). Apesar do sistema intensivo não ter sido predominante entre as propriedades onde o Cd foi identificado nas amostras de leite, em 85,7% (6/7) destas fazendas era fornecida palma aos bovinos, em 71,4% (5/7) silagem de milho, 42,9% (3/7) bagaço-de-cana, 14,3% (1/7) casca de mandioca, caroço de algodão e cana moída, portanto, é possível que estes alimentos apresentassem algum grau de contaminação pelo metal, assim como o solo onde foram cultivados. Logo, o manejo adotado nestas fazendas contribuiu para a alta taxa de detecção deste metal nas amostras de leite das vacas dos rebanhos avaliados.

Observou-se que das fazendas em que o Pb foi detectado no leite cru dos animais analisados, 60,0% (15/25) delas estavam localizadas próximo de rodovias. A proximidade das propriedades em relação às rodovias aumentou em 2,1 vezes (I.C.=1,1–4,0; $p = 0,022$) a detecção do Pb nas amostras de leite. Marcolino (2014) também observou a influência da proximidade das rodovias na elevação das concentrações deste metal em um estudo realizado utilizando 147 amostras de leite bovino *in natura*, provenientes de 14 propriedades distribuídas em cinco municípios do Agreste Meridional de Pernambuco. Já Arslan et al. (2011) observaram níveis mais elevados de Pb no soro sanguíneo de bovinos criados próximos (0 a 500 m) em relação aos animais que viviam longe (2 a 3 km) de estradas, por um período de pelo menos três anos, em duas cidades da Turquia. Os autores atribuíram o resultado a exaustão do tráfego, sendo, portanto, este metal um indicador da poluição ambiental. Segundo Landrigan (2002), o Pb na forma de tetraetila (CTE) foi adicionado pela primeira vez à gasolina em 1922, com a finalidade de melhorar a performance dos motores, conferindo-lhes maior potência e economia de combustível. A utilização do metal como aditivo na gasolina, entretanto, foi uma catástrofe para a saúde pública, pois provocou a contaminação do ar, solo, água e alimentos, levando à intoxicação de pessoas em todo o mundo, especialmente crianças. De acordo com Suttle (2010), apesar da adição de Pb na gasolina ter sido proibida há mais de três décadas na Escócia, os gases eliminados do escapamento de automóveis provocaram o acúmulo deste elemento ao lado das principais estradas do país e contribuíram para a sua deposição atmosférica generalizada, que ainda afeta

vastas áreas. Sabe-se que diferentemente dos poluentes orgânicos, os metais pesados não são facilmente degradados, persistindo no ambiente durante anos, muito tempo depois das fontes de poluição terem sido removidas (BABIN-FENSKE; ANAND, 2011).

O Brasil foi um dos primeiros países a retirar o Pb de suas gasolinas automotivas, em 1989, devido a crescente preocupação com o meio ambiente e por ser um metal tóxico para o ser humano, mas também por inviabilizar a adoção de catalisadores de veículos. Atualmente o Pb é utilizado apenas na gasolina de aviação, seu uso inclusive é prejudicial aos carros modernos, pois são equipados com catalisadores e sonda-lâmbda (PETROBRAS, 2019). O resultado do presente trabalho, assim como a pesquisa realizada por Marcolino (2014), entretanto, evidenciam a influência da proximidade das rodovias de fazendas produtoras de leite na contaminação do leite bovino pelo Pb no Agreste do Estado, muito provavelmente em virtude do acúmulo do metal ao lado das estradas e da sua presença no ar.

A região do Agreste Meridional aumentou em 3,3 vezes (I.C.=1,1–9,7; $p=0,024$) a detecção do Cd no leite cru dos animais. Marcolino (2014) relatou a presença deste metal em amostras de leite *in natura* no Agreste Meridional de Pernambuco. Não foram encontrados registros de estudos sobre essa temática na região do Agreste Central do Estado. As características referentes ao clima, relevo e vegetação dos municípios avaliados são semelhantes, independentemente da região em que estão inseridos. Peculiaridades, no entanto, foram observadas no município de Garanhuns, principalmente relacionadas ao clima, vegetação, altitude, temperatura e pluviosidade média anual (BDE, 2016; BDE, 2017; BDE, 2019; CLIMATE-DATA, 2019). Neste município, o leite foi coletado em uma área em que as águas do rio Mundaú estavam comprometidas, pois recebiam efluentes industriais provenientes de laticínios, além disso, como já foi mencionado anteriormente, o referido rio recebe alta carga de esgoto doméstico. De acordo com Villa, Silva e Nogueira (2007), efluentes provenientes de indústrias de laticínios apresentam uma elevada demanda química e bioquímica de oxigênio como consequência da grande quantidade de lipídios, carboidratos e proteínas, conferindo ao sistema uma alta carga orgânica, conseqüentemente, quando lançados em corpos d'água sem tratamento, reduzem drasticamente a concentração de oxigênio e colocam em risco o ecossistema aquático. Segundo Suttle (2010), lamas de esgotos estão entre as principais fontes de Cd, logo, os aspectos observados nesta região, podem ter contribuído para o resultado.

Em 28,6% (2/7) das fazendas onde o Cd foi identificado nas amostras de leite cru, as vacas tinham acesso ao maquinário agrícola, como tratores e/ou forrageiras. O acesso dos animais ao maquinário agrícola aumentou em 8,1 vezes (I.C.=3,4–19,2; $p<0,001$) a

identificação do metal nas amostras analisadas. Apesar do resultado observado no presente estudo, não foram encontradas pesquisas na literatura consultada estabelecendo esta relação entre o contato de bovinos com máquinas agrícolas e associando este fato a uma possível contaminação do leite pelo metal, no entanto, sabe-se que é um elemento empregado principalmente na fabricação de pilhas e baterias. Segundo Souza, Leão e Pina (2005), algumas baterias recarregáveis, que são empregadas em aparelhos eletrônicos, como telefones celulares, computadores, filmadoras, entre outros, são constituídas de níquel-cádmio, e contêm em sua composição Fe, Cd e Ni. De acordo com D'Aguiar, Freitas e Morrone (2009), o Cd é obtido através do minério, submetido a um processo de refinamento para se transformar em barras ou ânodos, e a sua principal propriedade é a resistência à corrosão, além de possuir qualidades para ser usado na metalurgia. Os autores relatam que as operações que mais apresentam riscos de contaminação pelo metal para os humanos são a galvanoplastia (cadmiação de metais); produção de ligas com prata, cobre, latão e bronze (utilizadas em eletrônica, refrigeração, próteses, etc); fabricação de pigmentos e de acumuladores de Cd e Ni. Como no questionário epidemiológico utilizado não foram abordadas perguntas sobre o descarte de pilhas, baterias, entre outros equipamentos e/ou materiais que contenham o Cd em sua constituição, é difícil chegar a uma conclusão sobre este fator de risco verificado.

CONCLUSÃO

O Pb possui distribuição ubíqua no leite produzido no Agreste do Estado de Pernambuco, já um comportamento oposto foi verificado para o Cd. As informações referentes aos fatores de risco relacionados à presença de metais tóxicos no leite cru são fundamentais para que sejam implementadas medidas que visem o controle sanitário do leite, reduzindo, portanto, os perigos de sua ingestão para a saúde pública. A adoção de práticas como a realização de análise da água e alimentos fornecidos aos bovinos, a fim de assegurar a sua qualidade para o consumo animal, assim como do solo das propriedades rurais, podem melhorar a qualidade do leite em relação à contaminação pelo Pb e Cd. Além disso, construir salas de ordenha e/ou manter vacas leiteiras o mais distante possível de rodovias pode reduzir a contaminação do leite pelo Pb.

REFERÊNCIAS

ALVES, S.M.S.; SILVA, E.S.; MATIAS, G.F.; NEVES, D.M.; ARAÚJO, M.R.; LIMA, E.S.; ARAÚJO, M.S.L.C. **Avaliação da qualidade hidroambiental do rio Una em um trecho de São Bento do Una, Agreste pernambucano**. Anais do Congresso Nordestino de Biólogos (Congrebio). João Pessoa, 2017. Disponível em: <
<http://congresso.rebibio.net/congrebio2017/trabalhos/pdf/congrebio2017-et-09-011.pdf>>.

Acesso em 20 jan. 2019.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC N° 42, de 29 de agosto de 2013. Disponível em: <
http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0042_29_08_2013.pdf/c5a17d2d-a415-4330-90db-66b3f35d9fbd>. Acesso em 20 jan. 2019.

ARAÚJO, L.B. Influência dos municípios pernambucanos na poluição da bacia do rio Mundaú com esgoto doméstico. **Revista Especialize On-line IPOG**, v.1, n.7, p.1-13, 2014.

ARSLAN, H.H.; SARIPINAR AKSU, D.S.; OZDEMIR, S.; YAVUZ, O.; OR, M.E.; BARUTCU, U.B. Evaluation of the relationship of blood heavy metal trace element levels and antioxidative metabolism in cattle which are living near the trunk roads. **Journal of the Faculty of Veterinay Medicine, Kafras University**, v.17, p.77-82, 2011.

BABIN-FENSKE, J.; ANAND, M. Patterns of insect communities along a stress gradient following decommissioning of a Cu-Ni smelter. **Environmental Pollution**, v.159, p.3036–3043, 2011.

BDE, 2016. **Base de Dados do Estado**. Meio Ambiente. Cobertura Vegetal Primitiva. Disponível em: <
http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?codFormatacao=699&CodInformacao=634&Cod=1>. Acesso em 08 jan. 2019.

BDE, 2017. **Base de Dados do Estado**. Meio Ambiente. Tipologia Climática. Disponível em: <http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?codFormatacao=706&CodInformacao=633&Cod=1>. Acesso em 08 jan. 2019.

BDE, 2019. **Base de Dados do Estado**. Posição e Extensão. Posição Geográfica das Sedes dos Municípios. Disponível em: <http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?codFormatacao=703&CodInformacao=280&Cod=1>. Acesso em 08 jan. 2019.

CLIMATE-DATA, 2019. **Dados climáticos para cidades mundiais**. América do Sul. Brasil. Pernambuco. Garanhuns. Clima Garanhuns. Disponível em: <<https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/pernambuco/garanhuns-4458/>>. Acesso em 09 jan. 2019.

COMPESA, 2016. **Companhia Pernambucana de Saneamento**. Plano de Comunicação do Programa de Saneamento Ambiental da Bacia Hidrográfica do Rio Ipojuca. Volume I: Mapeamento, Análises das Áreas e dos Públicos. Disponível em: <https://servicos.compesa.com.br/wp-content/uploads/2016/02/volume1_plano_executivo-ilovepdf-compressed.pdf>. Acesso em 20 jan. 2019.

D'AGUIAR, A.E.F.; FREITAS, J.B.P.; MORRONE, L.C. Estudo dos riscos ocupacionais na operação de remediação ambiental em área contaminada por cádmio. **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho**, v. 4,5 e 6, p.12-19, 2009.

FERNANDES, L.H.; MAINIER, F.B. Os riscos da exposição ocupacional ao cádmio. **Sistemas & Gestão**, v.9, p.194-199, 2014.

GARBA, S.T.; ABDULLAHI, S.; ABDULLAHI, M. Heavy metal content of cow's milk from Maiduguri Metropolis and its environs, Borno State Nigeria. **American Journal of Engineering Research**, v.7, p.63-73, 2018.

GOMES, A.C.S.; LINDINO, C.A.; GONÇALVES JÚNIOR, A.C.; GOMES, G.D. Determinação de Cd, Cr e Pb no leite e na alimentação bovina do Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.72, n.3, p.211-218, 2013.

GONÇALVES, J.R.; MESQUITA, A.J.; GONÇALVES, R.M. Determinação de metais pesados em leite integral bovino pasteurizado no Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.365-374, 2008.

GONÇALVES JÚNIOR, A.C.; SOUSA, R.F.B.; COELHO, G.F.; GUIMARÃES, V.F.; SCHWANTES, D.; SILVA, T.R.B.; SANTOS, M.G.; PARIZOTTO, A.A.; SELZLEIN, C.; CAMPAGNOLO, M.A. Dinâmica dos metais Cd e Pb no solo e a capacidade de adaptação das plantas em ambientes contaminados. **Journal of Agronomic Sciences**, v.4, p.31-55, 2015.

HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S. **Applied Logistic Regression**. New York: John Wiley and Sons. 1989. 241p.

LANDRIGAN, P.J. The worldwide problem of lead in petrol. **Bulletin of the World Health Organization**, v.80, n.10, p.768, 2002.

LEONIDIS, A.; CRIVINEANU, V.; GORAN, G.V.; CODREANU, M.D. The level heavy metals in blood and milk from cattle farmed near polluting industries in the Province of Thessalonic. **Lucrări Stiintifice Medicină Veterinară**, v.43, p.153-158, 2010.

MARÇAL, W.S. Intoxicação por chumbo em gado bovino em zona rural próxima a indústria metalífera. **Veterinária Notícias**, v.11, n.1, p.87-93, 2005.

MARÇAL, W.S.; NASCIMENTO, M.R.; MENCK, M.F. Níveis de metais pesados em suplementos minerais para bovinos comercializados em Londrina. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.9, n.3, p.592-601, 2015.

MARCOLINO, G.V. **Detecção de metais pesados em leite integral cru de vacas criadas no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco**. 2014. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco.

MOREIRA, F.R.; MOREIRA, J.C. Os efeitos do chumbo sobre o organismo e seu significado para a saúde. **Revista Panamericana de Saúde Pública**, v.15, n.2, p.119-129, 2004.

NASCIMENTO, S.P.G.; SANTOS, J.R.U.; SANTOS, E.O.; PINTO, J.E.S.S. **Fatores da degradação ambiental da bacia hidrográfica do Rio Ipanema**. 4º GeoAlagoas: Simpósio sobre as geotecnologias e geoinformação no Estado de Alagoas. Maceió, 2016. Disponível em: <http://dados.al.gov.br/dataset/335fcc77-1d45-4ad6-9542-c29330187507/resource/3e76ccce-a6a5-44dc-b354-2680743ef685/download/fatoresdadegradacaoambientaldabaciahidrograficadorioipanema.pdf>. Acesso em 20 jan. 2019.

NOROUZIRAD, R.; GONZÁLEZ-MONTAÑA, J.R.; MARTÍNEZ-PASTOR, F.; HOSSEINI, A.S.; KHABAZKHOOB, M.; MALAYERI, F.A.; BANDANI, H.M.; PAKNEJAD, M.; FOROUGH-NIA, B.; MOGHADDAM, A.F. Lead and cadmium levels in raw bovine milk and dietary risk assessment in areas near petroleum extraction industries. **Science of the Total Environment**, v.365, p.308-314, 2018.

OKADA, I.A.; SAKUMA, A.M.; MAIO, F.D.; DOVIDAUSKAS, S; ZENEBON, O. Avaliação dos níveis de chumbo e cádmio em leite em decorrência de contaminação ambiental na região do Vale do Paraíba, Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.32, n.2, p.140-143, 1997.

PETROBRAS, 2019. **Gasolina Comum**. Disponível em: http://www.br.com.br/?uril=wc:path%3A%2FLIB_PortalConteudo%2FHome%2FProdutos%2Be%2Bservicos%2FPara%2BSeu%2BVeiculo%2FGasolina%2FGasolina%2BComum%2FGasolina%2BComum. Acesso em 18 jan. 2019.

PHA, 2010. **Plano Hidroambiental da Bacia Hidrográfica do Rio Capibaribe: Resumo Executivo/Projetos Técnicos**. Recife, 2010. Disponível em: http://www.apac.pe.gov.br/down/PHA_Capibaribe_TOMO_V_Mapas.pdf. Acesso em 20 jan. 2010.

PILARCZYK, R.; WÓJCIK, J.; CZERNIAK, P.; SABLİK, P.; PILARCZYK, B.; TOMZAMARCINIAK, A. Concentrations of toxic heavy metals and trace elements in raw milk of Simmental and Holstein-Friesian cows from organic farm. **Environmental Monitoring Assessment**, v.185, p.8383-8392, 2013.

QIN, L.Q.; WANG, X.P.; LI, W.; TONG, X.; TONG, W.J. The minerals and heavy metals in cow's milk from China and Japan. **Journal of Health Science**, v.55, n.2, p.300-305, 2009.

REIS, J. C. **Estatística aplicada à pesquisa em Ciência Veterinária**. 1ª ed. Olinda: J.C.R., 2003.

SOUZA, R.M.P.; LEÃO, V.A.; PINA, P.S. Remoção de metais pesados em resíduos sólidos: o caso das baterias de celular. **Revista Escola de Minas**, v.58, n.4, p.375-379, 2005.

SOUZA, M.V.; VIANNA, M.W.S.; ZANDIM, B.M.; FERNANDES, R.B.A.; FONTES, M.P.F. Metais pesados em amostras biológicas de bovinos. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1774–1781, 2009.

SUTTLE, N.F. **Mineral Nutrition of Livestock**. 4ª ed. Pondicherry: Mixed Sources, 2010.

SWARUP, D.; PATRA, R.C; NARESH, R.; KUMAR, P.; SHEKHAR, P. Blood lead levels in lactating cows reared around polluted localities; transfer of lead into milk. **Science of the Total Environment**, v.349, p.67–71, 2005.

THRUSFIELD, M.V. **Epidemiologia Veterinária**. 2ª ed. São Paulo: Roca, 2004

VILELA, D.; FERREIRA, R.P.; FERNANDES, E.N.; JUNTOLLI, F.V. **Pecuária de Leite no Brasil – Cenários e Avanços Tecnológicos**. 1ª ed. Brasília: Embrapa, 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164236/1/Pecuarria-de-leite-no-Brasil.pdf>>. Acesso em 26 fev. 2019.

VILLA, R.D.; SILVA, M.R.A.; NOGUEIRA, R.F.P. Potencial de aplicação do processo foto-fenton/solar como pré-tratamento de efluente da indústria de laticínios. **Química Nova**, v.10, n.8, p.1799-1803, 2007.

ZHOU, X.; QU, X.; ZHENG, N.; SU, C.; WANG, J.; SOYEURT, H. Large scale study of the within and between spatial variability of lead, arsenic, and cadmium contamination of cow milk in China. **Science of the Total Environment**, v.650, p.3054-3061, 2019.

7. ANEXOS

7.1. Anexo 1 – Questionário epidemiológico



Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE
Departamento de Medicina Veterinária – DMV
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – PPGCV

Discente: Alexandre Mota Tadeu Macedo
Orientador: Prof^o Dr. Pierre Castro Soares
Coorientador: Prof. Dr. José Augusto Bastos Afonso

Questionário epidemiológico dos fatores de risco da presença de metais em soro e leite de vacas criadas no Estado de Pernambuco, Brasil

Propriedade:

Proprietário:

Endereço:

Email:

Data: ____/____/____

Investigador:

2 - Ovina **Estado:**

3 - Bovina **Telefone:**

4 - Equina ()

Outra(s): _____

5. Qual sistema de criação? n^o _____

1 - Intensivo ()

2 - Extensivo ()

3 - Semi intensivo ()

6. Qual tamanho do rebanho?

1 - Abaixo de 50 animais ()

2 - Entre 51 e 100 animais ()

3 - Entre 101 e 200 animais ()

4 - Acima de 201 animais ()

7. Qual a alimentação dos animais?

1 - Pasto ()

2 - Capim de corte ()

3 - Silagem ()

4 - Feno ()

5 - Outra(s) _____

Qual (is) o(s) tipo (s) de capim(ns) utilizado(s): _____

DADOS DA PROPRIEDADE

1. Qual a localização da propriedade?

1 - Agreste Meridional ()

2 - Agreste Central ()

3 - Agreste Setentrional ()

2. Qual município?

3. A propriedade é próxima a rodovias/BR?

1 - Sim ()

2 - Não ()

Qual (is): _____

4. Qual(is) espécie(s) é (são) criada(s) na propriedade?

1 - Caprina ()

8. Utiliza concentrado na alimentação dos animais?

1 - Sim ()

- 2 - Não ()
3 - Qual(is): _____

9. Realiza mineralização?

- 1- Sim ()
2- Não ()
3- Qual(is): _____

10. A propriedade é próxima a fontes hídricas (rios/açudes/barreiro, barragem, outras)?

- 1- Sim ()
2- Não ()
Qual(is): _____

11. Em relação à fonte hídrica, trata-se de água:

- 1- Parada ()
2- Corrente ()
3- Mista ()
4 - Outra(s) _____

12. Esta água é consumida pelos animais?

- 1- Sim ()
2- Não ()

13. Esta água é utilizada para irrigação do pasto ou capineira?

- 1- Sim ()
2- Não ()
Qual(is): _____

14. Já foi realizada, em algum momento, a análise desta água, afim de avaliar a sua qualidade?

- 1- Sim ()
2- Não ()

15. A propriedade possui maquinário agrícola?

- 1- Sim ()
2- Não ()
Qual(is): _____

16. Os animais têm acesso a este maquinário?

- 1- Sim ()
2- Não ()

17. A propriedade utiliza produtos químicos (fertilizantes, agrotóxicos)

- 1- Sim ()
2- Não ()
Qual(is): _____

18. A propriedade fica próxima a aterros sanitários/lixão?

- 1- Sim ()
2- Não ()
Qual(is): _____

19. Os animais têm acesso a este local?

- 1- Sim ()
2- Não ()

20. A propriedade fica próxima a indústrias/complexos industriais/agroindustriais?

- 1- Sim ()
2- Não ()
Qual(is): _____

21. Os animais têm acesso a este local?

- 1- Sim ()
2- Não ()

22. Qual tipo de ordenha?

- 1- Mecânica ()
2- Manual ()

23. Quantos animais são ordenhados?

- 1- Abaixo de 50 animais ()
2- Entre 51 e 100 animais ()
3- Entre 101 e 200 animais ()
4- Acima de 201 animais ()

24. Qual a média de produção de leite da propriedade?

25. Qual o destino do leite produzido na propriedade?

- 1 - É comercializado *in natura* pelo próprio produtor ()
2 - É comercializado para laticínios ()
3 - É beneficiado na propriedade ()
Outra(s): _____

26. Os animais estão sendo/foram medicados recentemente?

- 1- Sim ()
2- Não ()
Qual(is) medicamento(s) foi (foram) utilizado(s): _____

27. Foi respeitado o período de carência do medicamento?

- 1- Sim ()
2- Não ()

28. Realiza vacinação dos animais?

1- Sim ()

2-Não ()

Qual(is): _____

29. Comercializa animais (compra e venda)?

1- Sim ()

2- Não ()

30. Quando compra animais, realiza quarentena?

1- Sim ()

2- Não ()

31. Onde são criados os bezerros?

1 – Baias individuais ()

2 - Bezerreiro ()

3 - Piquete ()

32. Há controle da mamada do colostro?

1- Sim ()

2- Não ()

33. Como é feito o aleitamento?

1 – Ao pé ()

2 – Mamada controlada ()

3 - Mamadeira ()

4 – Balde ()

34. Quantidade de leite oferecida/dia:

35. De onde é proveniente o leite oferecido?

1 – Da mãe ()

2 – Banco de colostro ()

36. Em relação à fonte hídrica para os bezerros, trata-se de água:

1- Parada ()

2- Corrente ()

3- Mista ()

4 – Outra(s) _____

37. Idade ao desmame?

38. Qual a alimentação após o desmame?

1 - Pasto ()

2 - Capim de corte ()

3 – Silagem ()

4 – Feno ()

39. Qual o tipo de ordenha?

1 – Manual ()

2 – Mecânica ()

7.2. Anexo – Termo de Autorização



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

TERMO DE AUTORIZAÇÃO

Eu, _____,
portador do CPF de número _____ e RG _____
autorizo a coleta de água, alimento e material biológico necessários para a execução de projeto de pesquisa de doutorado do discente Alexandre Tadeu Mota Macedo do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, sob a orientação do Prof. Dr. Pierre Castro Soares (DMV/UFRPE) e co-orientação do Prof. Dr. José Augusto Bastos Afonso (CBG/UFRPE), bem como publicação dos resultados obtidos para a comunidade científica.

_____, ____/____/____

Assinatura do proprietário

7.3. Anexo 3 – Licença da CEUA da UFRPE



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
 Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n,
 Dois Irmãos - CEP: 52171-900 - Recife/PE

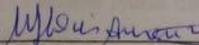
CEUA - UFRPE
 Aprovado em
10/05/2017
 Validade
10/05/2019

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA- C05

Licença condicional para o uso de animais em experimentação e/ou ensino

A Comissão de ética no uso de animais CEUA da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no uso de suas atribuições, autoriza a execução do projeto discriminado abaixo. O presente projeto também se encontra de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11794/2008.

Número da licença	29/ 2017
Número do processo	23082.009185/2017-15
Data de emissão da licença	12 de abril de 2017.
Título do Projeto	Concentração de metais pesados no soro sanguíneo e leite cru integral de vacas leiteiras e soro sanguíneo de bezerros lactentes criados no agreste pernambucano.
Finalidade (Ensino, Pesquisa, Extensão)	Pesquisa.
Responsável pela execução do projeto	Pierre Castro Soares.
Colaboradores	Alexandre Tadeu Mota Macedo; Rodolpho Almeida Rebouças.
Tipo de animal e quantidade total autorizada	Espécie: Bovino (vacas) idade 3 a 8 anos, peso aproximado 500kg, quant. 300 (fêmeas) . Bovino (Bezerros) idade de 5 a 30 dias , peso aproximado 45g, quant. 100 machos e 200 fêmeas). Total: 600.



Prof. Dra. Marleyne José Afonso Accioly Lins Amorim
 (Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA /UFRPE)

Prof. Dr. Marleyne Amorim
 Presidente CEUA/UFRPE
 SIAPE 384977