

Ministério da Saúde  
**Fundação Oswaldo Cruz**  
Escola Nacional de Saúde Pública

**Avaliação da contaminação do leite materno por pesticidas  
organoclorados persistentes em mulheres doadoras do Banco de leite do  
Instituto Fernandes Figueira, RJ**

*Por*

*Sueli Alexandra de Mesquita*

Dissertação apresentada à  
ENSP/FIOCRUZ visando a  
obtenção do título de Mestre em  
Ciências na área de Saúde Pública.

*Orientador: Josino Costa Moreira*

*Rio de Janeiro, setembro de 2001*

*Aos meus pais, meu irmão e meus  
amigos.*

*A todos que ajudaram na realização  
desse trabalho, e não foram poucos...*

*"Que um dia eu esteja pronto e  
amadurecido no grande meio-dia, pronto  
e amadurecido tal qual o bronze ardente,  
a nuvem prenhe, pronto para mim  
próprio e para o meu querer mais  
secreto, um arco no ardor de sua flecha,  
uma flecha no ardor de seu astro."*

*(Friedrich Nietzsche)*

Ministério da Saúde  
**Fundação Oswaldo Cruz**  
Escola Nacional de Saúde Pública

**Avaliação da contaminação do leite materno por pesticidas  
organoclorados persistentes em mulheres doadoras do Banco de leite do  
Instituto Fernandes Figueira, RJ**

*por*

*Sueli Alexandra de Mesquita*

Membros efetivos da Banca Examinadora:

Prof. Dr. João Aprígio Guerra de Almeida  
Prof.<sup>a</sup>Dr.<sup>a</sup>Ana Elisa Xavier de Oliveira e Dias  
Prof. Dr. Josino Costa Moreira

*Rio de Janeiro, setembro de 2001*

## Agradecimentos

---

Aos meus pais **Braz Alexandre de Mesquita** e **Maria Beatriz Martins de Moraes**, meu irmão **Alex Alexandre de Mesquita**, **Cristiane**, **Luisa** e **Carolina Mesquita**. A vocês dedico esse trabalho pelo apoio e carinho com o qual eu sempre pude contar. Obrigada!

Agradeço aos meus orientadores **Josino Costa Moreira**, pela paciência e confiança e **Paula de Novaes Sarcinelli**, sem a qual esse trabalho não teria sido possível, não fosse sua atenção, amizade e paciência desde o início.

À **ENSP** e o seu auxílio em forma de bolsa de mestrado.

Ao **Banco de Leite do Instituto Fernandes Figueira**, e principalmente ao seu diretor. **João Aprígio de Almeida Guerra**, por servir de inspiração à todos que o conhecem, pelo amor com o qual conduz o seu trabalho.

À toda a equipe do Banco de Leite, principalmente o professor **Franz**, a secretária **Angela** e a **Zulene**; que me ajudou muito durante a coleta, obrigada !

Às **mães doadoras** do Banco de Leite do IFF.

À **Ana Cristina**, Anita, pela ajuda nas análises e nas rampas do CG e antes de tudo, pela amizade, e apoio nos momentos difíceis;

Às professoras **Rita Mattos**, **Célia Souza** e **Ana Elisa Xavier**, pela atitude sempre colaborativa.

Aos amigos do laboratório (não quero esquecer ninguém): **Elaine e Lucineide** (amigas de todas as horas!), **Alan, Jefferson** (pela sua engenhosidade no CG!), **Sérgio, Armando, Flávia Leite, Regina, Mário** (sempre disposto a ajudar , obrigada, Marinho!), **Flor, Martha, Laura, Andrezinho, Marquinhos e Paulinha** (mais uma vez!), **Denise** (na tradução do abstract, obrigada.), **Simone e Cristiane** (chumbo), **Fátima Moreira, Leandro** (metais), **Renata** (estagiária do Aníbal), **Perpétua, Sônia** (solventes), **Fátima Costa, à todos os novos estagiários da UNI-RIO que estão chegando** além das meninas da "velha guarda" **Miriam, Marina, Teca e Flávia Moraes.**

A turma de Mestrado em Saúde Pública 1999: **Luis Alberto Echenique Domingues, "Gaúcho", Alciléia Fátima Costa, Antônio Fidalgo, Anary Baungarthem e Cléber Hooper, "Clebinho"**, sem duvida a turma mais festeira de todos os tempos!

E das outras sub-áreas: **AnaCristina Oliveira, Gabriela Rieveres, Elenice da Cunha, Giane Serra, Eduardo, Teresa , Manoel Pereira, AnaPaula, Regina, Carlos. "magrinho"** Espero não ter esquecido ninguém, afinal foram muitas festas e viagens...

Ao **Alexandre "girafa"**(Unirio) pela ajuda e dedicação na análise das amostras, muito obrigada!

Particularmente aos meus grandes amigos : **Rose** (minha irmã), **Júnior, Çane, Alexandre e Luciana Mentor** (minha amiga de sempre, Lulu), que me ajudaram com carinho e compreensão nesse momento delicado, obrigado por vocês fazerem parte da minha vida!

Ao meu namorado, amigo e companheiro **Anderson Gonçalves de Oliveira**, por seu apoio sua paciência, seu amor e carinho. Dedico também a você esse desafio e reafirmo o quanto você é uma pessoa admirável. Obrigada!

Finalmente agradeço a todos contribuíram de diversas formas para realização desse trabalho. Muito obrigada !



## Resumo

---

Pesticidas organoclorados são substâncias altamente resistentes à degradação tanto por meios químicos quanto biológicos, pouco solúveis em água, semi-voláteis e altamente lipofílicos, características responsáveis pela bioacumulação desses compostos no meio ambiente pela biomagnificação através da cadeia trófica. Em humanos, a principal fonte de exposição em populações não expostas ocupacionalmente é através da alimentação. Atualmente a maioria dos organoclorados têm uso restrito ou foram definitivamente proibidos no Brasil, assim como em várias partes do mundo.

O leite materno é bastante utilizado para avaliação da exposição a compostos lipofílicos por ser uma rota importante de excreção dessas substâncias, ser um bom indicador da carga corpórea e ser de fácil obtenção.

As amostras de leite humano, utilizadas no presente trabalho, foram provenientes do Banco de Leite do Instituto Fernandes Figueira, que forneceu uma boa amostragem da população do município do Rio de Janeiro e Grande Rio. Para essas amostras foi encontrada uma evidente contaminação multiresidual de pesticidas organoclorados com a prevalência do p,p' DDE em 100% das amostras, seguido do p,p' DDT ( 90%) e do  $\beta$ - HCH (84%), embora os valores para a maior parte dos compostos, estejam abaixo do descrito pela literatura como limites aceitáveis.

A IDA (ingestão diária aceitável) média calculada para o  $\Sigma$  DDT, foi de 0.00341 mg.kg<sup>-1</sup> de peso.dia<sup>-1</sup>, inferior portanto ao valor de referência da FAO/WHO (*Codex Alimentarius*) que é de 0005. mg.kg<sup>-1</sup> de peso.dia<sup>-1</sup>. A razão IDA<sub>obs.</sub>/IDA<sub>ref</sub> foi de 0.68 (68%). Entretanto para 18% da população estudada os valores calculados estão acima da ingestão diária aceitável recomendada.



## Abstract

---

Organochlorine pesticides are highly resistant to chemical and biological degradation, semi-volatile and highly lipophilic, with low water solubility, characteristics responsible for their bioaccumulation in the environment and their bioamplification through the food chain. In humans, the main exposure source is the diet, in non occupationally exposed populations.

Nowadays, most of the organochlorine pesticides have their use and production restricted, or were definitively banished in several parts of the world.

The maternal milk is frequently used to evaluate the exposition to lipophilic compounds considering that lactation is an important route of excretion for these substances due to the high lipid content of the milk.

Organochlorines in milk are considered as good indicators of the body burden. Besides samples are easily obtained.

The studied group under study in the present work was constituted of 50 women usual milk donors from the Bank of milk of Fernandes Figueira Institute which contributed to the construction of a representative sample of the population of the district of Rio de Janeiro and its metropolitan areas. The examined samples presented no evident multiresidual contamination with the prevalence of the p,p'DDE in 100% of the samples, followed by the p,p'DDT (90%) and of  $\beta$  - HCH (84%).

The average IDA calculated for  $\Sigma$  DDT, was  $0.00341 \text{ mg/kg}^{-1}$  of  $\text{weight.day}^{-1}$ , lower than the value of reference of FAO/WHO (*Codex Alimentarius*) of  $0.005 \text{ mg.kg}^{-1}$  of  $\text{weight.day}^{-1}$ . The rate  $\text{IDA}_{\text{obs}} / \text{IDA}_{\text{ref}}$  was of 0.68 (68%), however 18% of the studied population samples presented values above the recommended acceptable daily intake for the examined compounds.

## Lista de Tabelas

---

	Página
<b>Tabela 1:</b> Parâmetros físico-químicos dos organoclorados estudados.	7
<b>Tabela 2:</b> Classe toxicológica segundo a ANVS, 1985.	8
<b>Tabela 3:</b> Produção do Banco de Leite Humano do IFF/FIOCRUZ no ano de 1999.	20
<b>Tabela 4:</b> Número de amostras analisadas por rota.	27
<b>Tabela 5:</b> Linearidade de resposta do detector de captura de elétrons (HP 6890) para a faixa de concentração de 1,25-20 ng.g <sup>-1</sup> .	36
<b>Tabela 6:</b> Percentagem de recuperação do pesticidas organoclorados submetidos ao método de Stevenson, 1991.	37
<b>Tabela 7:</b> Reprodutibilidade dos organoclorados (%CV)	39
<b>Tabela 8:</b> Limites de detecção do equipamento e do método	39
<b>Tabela 9:</b> Valores médios de características maternas.	41
<b>Tabela10:</b> Níveis de Pesticidas Organoclorados em ng.g <sup>-1</sup> de gordura.	48
<b>Tabela 11:</b> Níveis de Pesticidas Organoclorados em ng.ml <sup>-1</sup> de leite.	49
<b>Tabela 12:</b> Valores da IDA em ng.g <sup>-1</sup> de peso/dia para o $\Sigma$ DDT em leite materno.	49
<b>Tabela 13:</b> Valores de p,p' DDT em ng.g <sup>-1</sup> .	50

## Lista de figuras

---

	<b>Página</b>
<b>Figura 1:</b> Metabolismo do p,p'DDT em ratos e alguns dos metabólitos encontrados em humanos.	<b>10</b>
<b>Figura 2:</b> Principais vias de absorção e excreção das substâncias lipofílicas persistentes.	<b>11</b>
<b>Figura 3:</b> Curvas de linearidade do p,p'DDD e do Aldrin	<b>40</b>
<b>Figura 4:</b> Tempo de residência no Rio de Janeiro e Grande Rio	<b>42</b>
<b>Figura 5 :</b> Gráfico de frequência de moradia das doadoras por bairros pertencentes à rota.	<b>43</b>
<b>Figura 6 :</b> Frequência percentual de pesticidas organoclorados nas amostras de leite humano.	<b>45</b>
<b>Figura 7:</b> Níveis médios de $\beta$ -HCH no leite humano de doadoras residentes nos municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias	<b>51</b>
<b>Figura 8:</b> IDA (Ingesta diária aceitável) média para o $\Sigma$ DDT por rota do Instituto Fernandes Figueira.	<b>55</b>



## Lista de Abreviaturas

---

<b>ANVS</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>BLH</b>	Banco de Leite Humano
<b>CESTEH</b>	Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana
<b>CG-DCE</b>	Cromatografia em fase gasosa acoplada com detector de captura de elétrons
<b>DDD</b>	Diclorodifenildicloroetano
<b>DDE</b>	Diclorodifenildicloroetileno
<b>DDT</b>	Diclorodifenitricloroetano
<b>FAO</b>	Organização para Alimentação e Agricultura
<b>HCB</b>	Hexaclorociclobenzeno
<b>HCH</b>	Hexaclorociclohexano
<b>IDA</b>	Ingesta diária aceitável
<b>IFF</b>	Instituto Fernandes Figueira
<b>LHO</b>	Leite humano ordenhado
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>PNIAM</b>	Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno
<b>POP</b>	Poluente orgânico persistente
<b>US.EPA</b>	Agência de Proteção Ambiental do Estados Unidos
<b>WHO</b>	Organização Mundial de Saúde

# Índice

---

**Lista de tabelas**

**Lista de figuras**

**Resumo**

**Abstract**

## **Capítulo 1 - Introdução**

<b>1.1 - Histórico</b>	<b>1</b>
<b>1.2 - Características dos Pesticidas</b>	
1.2.1 - Gerais	5
1.2.2 - Físico-químicas	6
1.2.3 - Toxicológicas	8
<b>1.3 - Legislação</b>	<b>12</b>
<b>1.4 - Leite Humano</b>	<b>14</b>
1.4.1 - Características Bioquímicas	14
1.4.2 - Síntese	14
1.4.3 - Fatores que modificam os níveis de compostos lipofílicos no leite	15
<b>1.5 - Rede de Bancos de Leite</b>	<b>18</b>
1.5.1 - O Banco de Leite Humano do IFF	18
1.5.2 - Etapas de processamento do leite humano no Banco do IFF	21
<b>1.6 - Objetivos</b>	<b>25</b>

## **Capítulo II - Materiais e Métodos**

<b>2.1 - Amostragem</b>	<b>26</b>
2.1.1 - Recepção	26
<b>2.2 - Reagentes e soluções</b>	<b>28</b>
<b>2.3 - Lavagem de material</b>	<b>29</b>
<b>2.4 - Vidraria</b>	<b>29</b>
<b>2.5 - Equipamentos e condições operacionais</b>	<b>30</b>
<b>2.6 - Metodologia analítica</b>	<b>31</b>
2.6.1 - Extração	31
2.6.2 - <i>Clean up</i> com colunas de florisil	32
2.6.3 - Análise cromatográfica	33
<b>2.7 - Qualidade analítica</b>	<b>34</b>

## **Capítulo III - Resultados e discussão**

<b>3.1- Validação da Metodologia</b>	<b>36</b>
<b>3.2 -Resultados da pesquisa dos hábitos de vida das doadoras participantes...</b>	<b>41</b>
<b>3.3-Níveis de organoclorados no leite humano</b>	<b>44</b>
3.3.1 - Níveis médios de organoclorados em ng.g <sup>-1</sup> de gordura	45
3.3.2- Níveis médios de organoclorados em ng. ml <sup>-1</sup> de leite	46
<b>3.4 - Avaliação da ingestão IDA - Ingestão Diária Aceitável</b>	<b>49</b>
<b>3.5 -Discussão</b>	<b>49</b>

## **Capítulo IV - Conclusão**

## **Capítulo V - Referências bibliográficas**

## **Anexos**





# Capítulo I - Introdução

---

## 1.1 -Histórico

A Revolução Industrial do século XVIII trouxe para a sociedade um significativo avanço das ciências e da produção tecnológica, e em consequência mudanças profundas no que diz respeito a relação do homem com a natureza. Se por um lado, houve uma melhora significativa da qualidade de vida, já que as técnicas agrícolas podiam desfrutar de um suporte tecnológico que aumentava a produção, por outro a busca do aumento da produtividade levou ao uso indiscriminado de certos insumos químicos responsáveis por graves desequilíbrios ecológicos, como poluição dos mananciais e do solo das regiões cultivadas tratadas com esses insumos (Zandoná e Zápia, 1993).

Por muitos séculos procurou-se desenvolver métodos e substâncias capazes de controlar ou exterminar certos tipos de insetos e microorganismos que infestavam a lavoura. Na literatura é relatado o uso de ácido sulfúrico como fumigante na China 1000 a.C. Entretanto, foi à partir do final da Segunda Guerra Mundial que houve um significativo desenvolvimento da chamada química moderna, e com ela a síntese de diversos compostos orgânicos que se destinavam ao combate de certos tipos de pragas da lavoura (Ecobichon, 1991). Desde então, o uso de insumos químicos na produção agrícola veio crescendo. No entanto, apesar do aumento do uso destes compostos, não se considerou os riscos de uma possível exposição à saúde do trabalhador rural e da população em geral, que através do consumo dos alimentos produzidos, ou do contato com fontes de água contaminadas, também era indiretamente exposta. Um dos maiores problemas apresentados por esses compostos é que eles não possuem seletividade para as espécies alvo, já que o sistema fisiológico e bioquímico das espécies alvo e não alvo são extremamente semelhantes e dentre as espécies não alvo inclui-se o homem. Essa constatação aponta para o fato de que não se pode falar em pesticidas completamente seguros para a saúde humana, o que existe são compostos que, dependendo da dosagem e da atenção dispensada no uso e na aplicação, apresentam menor risco à saúde (Ecobichon,1991).

A utilização de pesticidas para a agricultura representou um aumento significativo da produção de alimentos, tanto em relação à eficiência agrícola, quanto à qualidade. Entretanto, ao lado desses benefícios restaram os resíduos que se acumulam principalmente nos alimentos (Shattenberg & HSU,1992).

No início do século vinte, compostos químicos inorgânicos a base de enxofre e metais como arsênio, mercúrio, chumbo e outros começaram a ser utilizados largamente, uma vez que produtos naturais como o piretro, comprovadamente eficazes como pesticidas, mostravam-se muito caro para o uso em larga escala.

No período que compreendeu as duas grandes Guerras Mundiais, a indústria de compostos "chlor-alkali" forneceu o material cru para a produção em massa de compostos organoclorados. Esse pode ser considerado o início da "Era da Química Orgânica", onde a busca por biocidas mais seletivos levou à síntese de diversos compostos orgânicos (Turnbull, 1996).

Em 1932, um composto conhecido com o 2,4-D foi descoberto por suas propriedades herbicidas, sendo considerado como um dos primeiros pesticidas organoclorados sintéticos. Sua estrutura composta de um grupamento fenoxi-ácido lhe conferia uma certa labilidade, tornando-o facilmente degradado no meio ambiente. Já em 1933 um outro organoclorado mais persistente foi sintetizado, o hexaclorobenzeno (HCB), utilizado como fungicida de sementes. (Burton & Bennett, 1995).

Com o final da Segunda Guerra Mundial, a necessidade de se aumentar a produção de alimentos desencadeou a modernização da agricultura através da produção de maquinarias complexas, um aumento da extensão dos campos cultivados e o uso de fertilizantes químicos e dos novos pesticidas sintéticos.

Em 1874, o DDT (triclora bis (clorofenil) etano) foi sintetizado por Othmar Zeidler. Entretanto suas propriedades inseticidas só foram descobertas, durante a Segunda Guerra, em 1939, por Paul Müller que trabalhava para os laboratórios da Companhia Suíça J.R Geigy S.A, que patenteou o DDT em 1940. Mais tarde, Paul Müller receberia o Prêmio Nobel de Medicina em reconhecimento aos serviços prestados durante a Guerra, onde milhares de vidas foram salvas, graças ao uso do DDT, que evitou a morte de civis vítimas da epidemia de tifo que assolou Nápoles, na Itália, durante a guerra.

Tanto as tropas quanto os civis foram pulverizados com DDT, evitando assim que a epidemia se espalhasse por toda a Europa (Parke, 1981).

Foi ainda durante a Guerra que outros inseticidas orgânicos foram sintetizados, isso porque várias regiões onde as tropas serviam eram áreas endêmicas de diversas doenças tropicais como a malária.

Nessa época tem-se ainda o surgimento do HCH, hexaclorociclohexano conhecido erradamente como BHC. Inicialmente, o HCH foi produzido como uma mistura isomérica de ciclohexanos organoclorados, conhecidos tecnicamente como HCH, e que compreendia uma mistura dos isômeros  $\alpha$  (55-77%),  $\beta$  (5-14%),  $\gamma$  (10-18%),  $\delta$  (6-10%) e  $\epsilon$  (3-4%). Mais tarde descobriu-se que apenas o  $\gamma$ -HCH ou *lindano* possuía atividade inseticida. O  $\gamma$ -HCH foi sintetizado por Michael Faraday em 1825 e a existência dos isômeros foi descoberta por Van der Linden em 1912, e a descoberta de suas propriedades inseticidas foi feita por Dupaire e Rancourt, na França em 1942 (Metcalf, 1955).

No início, estes novos biocidas foram aclamados como um verdadeiro milagre da ciência moderna, que poderia vir a solucionar um dos mais importantes problemas do pós-guerra: a falta de alimentos. Somente mais tarde começariam a ser associados a esses compostos efeitos adversos à saúde humana e ao meio ambiente. Rachel Carson em 1962, em seu livro *Primavera Silenciosa* (Silent Spring) descrevia os efeitos tóxicos agudos que os compostos organoclorados provocavam no meio ambiente, tanto na América quanto na Europa através de sua rápida bioacumulação. Espécies como o falcão peregrino, aproximaram-se da extinção na Inglaterra, assim como diversas aves e mamíferos que morreram provavelmente pela contaminação por compostos organoclorados (Turnbull, 1996).

Desde então, os pesticidas têm ocupado lugar de destaque no combate a pragas da lavoura e vetores das várias doenças que ainda persistem em certos países tropicais. Doenças como o Mal Chagas, malária, febre amarela, tifo, dengue entre outras impõem a esses países a utilização desses agentes.

Alguns pesticidas, já à partir dos anos 70 tiveram sua produção, sua comercialização e uso proibidos, devido aos comprovados efeitos deletérios a saúde que esses compostos possuem. Entretanto no Brasil foi à partir de 1985 que através da portaria nº 329 do Ministério da Agricultura, os pesticidas organoclorados tiveram sua produção, seu uso e venda proibidos, com algumas exceções, como o uso de Endossulfan em lavouras de café, cacau, algodão e soja, do Dicofol em cultura de cítricos e algodão, Aldrin no controle de formigas e cupins e HCH em campanhas de Saúde Pública. Em 1993 uma nova portaria do Ministério da Agricultura proibiu o uso do Mirex e do Aldrin (Bortoleto, 1993) e finalmente em 1998 o Ministério da Saúde proibiu o uso tanto no agricultura quanto para uso doméstico de Aldrin, Endrin, HCH, Lindano (isômero  $\gamma$ -HCH) e do DDT (Portaria nº11 M.S/ D.O.U ,21.01.98).

Os trabalhadores do meio rural estão expostos ocupacionalmente a esses compostos diariamente, entretanto uma análise mais atenta é capaz de mostrar que toda a população está exposta a contaminação indireta através do consumo de alimentos contaminados. Assim, vários estudos estão sendo elaborados no sentido de determinar as concentrações desses pesticidas no organismo humano, partindo-se de populações não expostas ocupacionalmente (Zandoná e Zápia, 1993).

## **1.2 -Características dos pesticidas organoclorados**

### **1.2.1 - Características Gerais**

Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (U.S EPA), pesticida é toda substância ou mistura usada na prevenção, destruição ou combate de pragas. Pesticidas também podem ser definidos como qualquer agente físico, químico ou biológico capaz de exterminar plantas, animais ou microorganismos indesejáveis (Ecobichon, 1991). O grupo dos pesticidas ou agrotóxicos pode também ser classificado, segundo sua função em: inseticidas, fungicidas, herbicidas, rodenticidas, antibióticos, acaricidas, molusquicidas.

Os inseticidas, por sua vez, podem ser ainda subdivididos em classes segundo suas características químicas, como os inseticidas organofosforados, organometálicos e compostos que possuem em sua molécula um ou mais átomos de cloro e portanto são classificados como pesticidas organoclorados.

No grande grupo dos organoclorados, alguns são enquadrados no grupo dos Poluentes Orgânicos Persistentes, compostos altamente resistentes a degradação por meios biológicos, químicos ou fotolíticos. Os POP's possuem pelo menos um anel aromático em sua estrutura, e são assim chamados devido a certas propriedades físico-químicas que lhes conferem um alto poder de persistência no meio ambiente, como baixa solubilidade na água e alta solubilidade em lipídios, o que facilita sua acumulação no organismo animal, principalmente no tecido adiposo o que aliado ao seu tempo de meia-vida longo, aumenta seu potencial de bioacumulação (Ritter et al.,1995).

A alta lipofilicidade desses compostos também é responsável pela sua biomagnificação através da cadeia alimentar, aumentando consideravelmente os riscos dos organismos no topo dessa cadeia. Além disso, os compostos organoclorados são semi-voláteis e em países tropicais, constantemente submetidos a altas temperaturas, esses compostos se volatilizam facilmente à partir da superfície das plantas e do solo e são transportados pela atmosfera, condensando-se nas regiões mais frias do globo (Ritter et al.,1995).

A exposição crônica e a baixas concentrações por longos períodos a estes pesticidas representa um grande risco para a saúde humana, sua longa meia-vida resulta em acúmulo dessas substâncias no organismo animal, por isso essa exposição tem sido associada a efeitos como imunotoxicidade, efeitos dérmicos, problemas relacionados a reprodução e carcinogenicidade (Ritter et. al, 1995).

### **Interação ambiental e bioacumulação**

A interação dos compostos organoclorados persistentes depende muito de suas propriedades físico-químicas. Os compostos hidrofóbicos e semi-voláteis possuem baixa solubilidade em água e uma taxa baixa de decomposição. Características como alta lipossolubilidade e baixa taxa de decomposição são responsáveis pela acumulação desses compostos em meios biológicos, principalmente no tecido adiposo animal. Além disso, a volatilização desses compostos, seguida do transporte atmosférico, facilitam sua distribuição por todo o planeta. Esses dois processos, combinados permitem aos organoclorados uma interferência local tanto ao nível de cadeia alimentar, quanto em áreas distantes do seu local de aplicação (Cotham & Bidleman, 1991)

A bioacumulação dos compostos organoclorados é sem dúvida o aspecto mais significativo da contaminação ambiental, uma vez que a partição desses compostos no solo, na água e na atmosfera é bem menor que em materiais orgânicos. Além da bioacumulação, que segundo Leblanc 1995, é a absorção do composto através da alimentação, do meio abiótico e/ou biótico, onde a concentração no organismo pode ou não exceder a da fonte. Os compostos organoclorados sofrem o processo de biomagnificação através da cadeia alimentar, onde a concentração desses compostos aumenta ao longo da cadeia alimentar. Nesse sentido os predadores do topo da cadeia tornam-se mais susceptíveis à contaminação (Leblanc, 1995).

#### **1.2.2- Características físico-químicas**

A **Tabela 1** mostra alguns dos parâmetros físico-químicos dos compostos organoclorados estudados.

**Tabela 1** : Características físico - químicas dos organoclorados estudados (Richardson & Gongolli, 1994))

Pesticida	Nomenclatura e sinônimos	Peso molecular	P.F (°C)	P.E (°C)	Volatilidade mmHg a 20(°C)	Solubilidade	Solvente orgânico	Ocorrência
p,p' DDT	4,4'diclorodifeniltricloroetano, Dicophano	354,49	108,5-190	185-187	$1,9 \times 10^{-7}$	água: 3,1-3,4 $\mu$ g.l <sup>-1</sup>	Solúvel em acetona, benzeno, ciclohexano, n-hexano, diclorometano	inceticida
p,p' DDE	4,4'DDE; 2,2'dicloro-diifenildicloroetileno	318,03	88-90	316,5	$6,5 \times 10^{-6}$	água: 0,04 mg.l <sup>-1</sup>	Solventes orgânicos(acetona, dimetil sulfoxido, isooctano)	inseticida metabólito do p,p' DDT
p,p'DDD	4,4- diclorodifenidicloroetano	320,05	109-111	193	$1,02 \times 10^{-6}$	água: 0,160 mg.l <sup>-1</sup>	Amplamente solúvel em solventes orgânicos e óleos em geral	inseticida metabólito do p,p' DDT
Endossulfan	Thiodan, Thiorex	406,93	70-100	106	$9,0 \times 10^{-3}$	água: 0,32 mg.l <sup>-1</sup>	Acetato de etila, diclorometano, tolueno	Mistura isomérica do $\alpha$ e $\beta$ endossulfan
$\beta$ endossulfan	Endossulfan 2	406,93	213,3	213,3	$9,0 \times 10^{-6}$	água: 0,33mg.l <sup>-1</sup>	etanol, hexano Solventes orgânicos	_____
Aldrin	_____	364,9	104-104,5	145	$6,45 \times 10^{-5}$	_____	Acetona, benzeno, xileno	Inseticida usado no controle de cupins
Dieldrin	_____	380,91	175-176		$3,1 \times 10^{-6}$	água :0,25mg.l <sup>-1</sup>	Acetona, benzeno, etanol, metanol, azeite de oliva	Metabólito do inseticida Aldrin
$\alpha$ - clordano	<i>trans</i> - clordano	409,78	106-107	175	$1,0 \times 10^{-5}$	água :0.1mg.l <sup>-1</sup>	Solúvel na maioria dos solventes alifáticos e aromáticos	Inseticida não-sistêmico
$\gamma$ - clordano	<i>Cis</i> -clordano	409,78		175	$1,0 \times 10^{-5}$	_____		_____
HCH	$\alpha, \beta$ e $\gamma$ HCH <sup>a</sup> BHC	290,93	113		$3,17 \times 10^{-5}$	água salgada: 1,4mg.l <sup>-1</sup>	Clorofórmio, benzeno, éter dimetilico e etanol	HCH grau técnico consiste na mistura dos isômeros $\alpha, \beta$ e $\gamma$ HCH
Mirex	Dodecacloro, declorano	545,55	485	_____	$3 \times 10^{-7}$	água :0,20mg.l <sup>-1</sup>	_____	inceticidas

a-  $\gamma$  HCH lindano

### 1.2.3- Características toxicológicas

Os organoclorados com propriedades inseticidas são, em sua maioria, hidrocarbonetos com átomos de cloro como substituintes, que de certa forma bloqueiam a oxidação do esqueleto carbônico tornando os compostos extremamente estáveis quimicamente e resistentes à degradação (Quincey et al., 1995).

A alta lipossolubilidade permite a esses compostos uma fácil penetração através das membranas celulares e nos tecidos, distribuindo-se e concentrando-se em tecidos cujo conteúdo de gordura é maior (Klassen & Rosmam, 1991). A **Tabela 2** mostra como são classificados os pesticidas segundo classes toxicológicas pela Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS, 1985).

**Tabela 2:** Classes toxicológicas as quais são classificados os pesticidas segundo a Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS, 1985):

Classificação toxicológica		Pesticidas
<b>Classe I</b>	Extremamente tóxico	Endossulfan, $\alpha$ e $\beta$ HCH,
<b>Classe II</b>	Altamente tóxico	Lindano ( $\gamma$ -HCH), Aldrin, DDT
<b>Classe III</b>	Mediamente tóxico	_____
<b>Classe IV</b>	Pouco tóxico	_____

Fonte: ANVS, 1985



## Toxicocinética

De forma geral, pode-se dizer que a população encontra-se exposta aos pesticidas organoclorados, sendo que dentre as vias de exposição, a principal é através da ingestão de alimentos contaminados.

Então, por ordem, tem-se as principais vias de exposição:

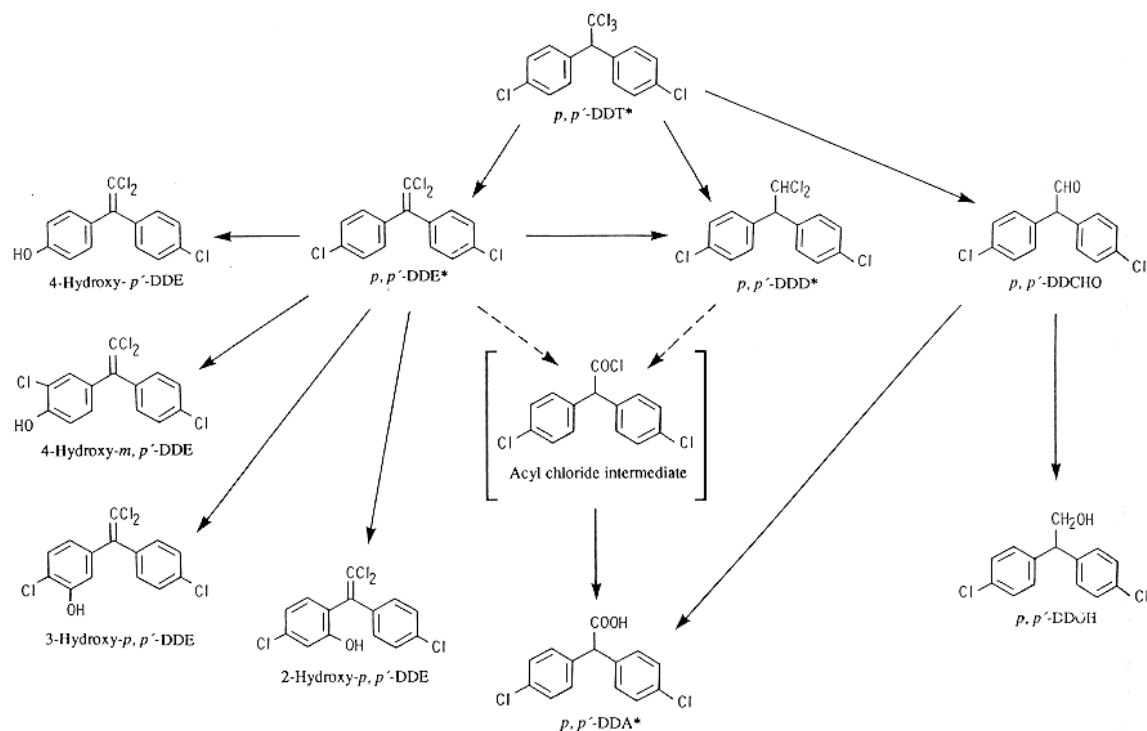
- Ingestão de água e alimentos;
- Inalação (através do ar ou poeira);
- Absorção cutânea (através de roupas ou por contato direto) (OMS,1992).

Várias são as formas de absorção de substâncias químicas pelo organismo, seja pelo contato direto com a pele, pela via inalatória (ar contaminado) ou pelo trato gastrointestinal (Ex.: água ou alimentos contaminados ). A eficiência da absorção por cada uma dessas vias depende das propriedades físico-químicas dos compostos, principalmente da sua lipossolubilidade (Friberg, 1985).

Após absorvidos, os compostos clorados são transportados na corrente sanguínea ligados a proteínas plasmáticas como as lipoproteínas e a albumina (Skalsky, 1978). O armazenamento dessas substâncias depende da sua característica lipofílica. Substâncias pouco lipofílicas, costumam ser hidrossolúveis, e portanto não acumulam no tecido adiposo, são metabolizadas rapidamente e eliminadas pelos rins (**Figura 2**).

Durante a lactação, o leite materno passa a ser uma importante via de excreção de substâncias lipofílicas (Sim & Mc'Neil, 1992)

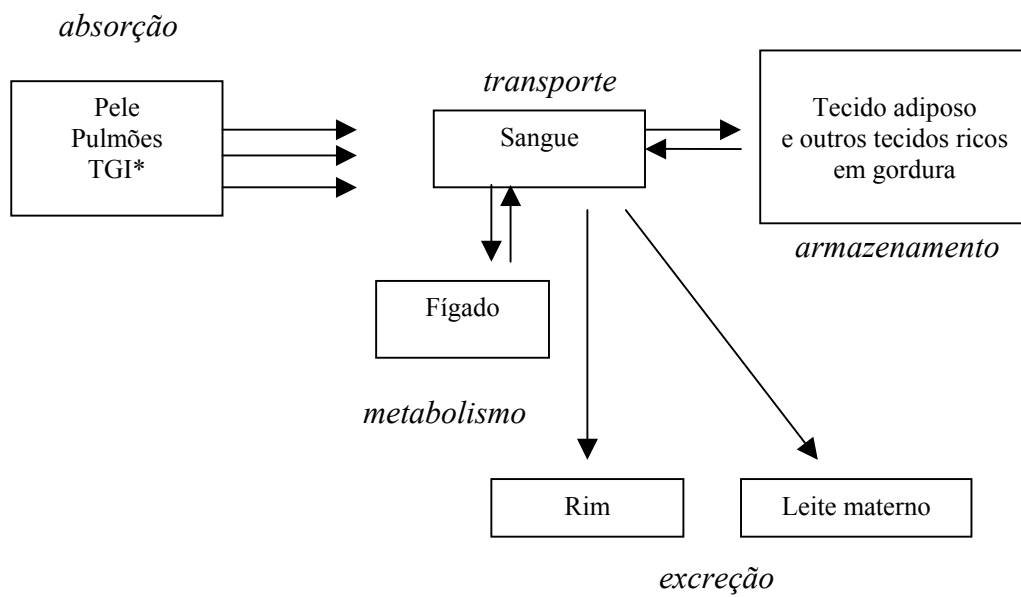
Compostos lipofílicos, como os organoclorados, difundem-se através das membranas celulares e se concentram em tecidos com alto conteúdo lipídico, como é o caso do fígado, que é o principal órgão de biotransformação de xenobióticos e principalmente do tecido adiposo onde esses compostos se bioacumulam. O grau de bioacumulação pode ser determinado pelo *fator de bioconcentração*, que é a razão da concentração do composto no tecido adiposo pela concentração encontrada na dieta. A média de bioconcentração encontrada para o DDT (diclorodifeniltricloroetano) é de 1,279 enquanto que o para o pentaclorofenol é de 3,7 (Geyer et al.,1986).



**Figura1:** Metabolismo do *p,p'*DDT e sua rota de metabolismo em ratos. Os metabólitos marcados com asterisco são encontrados em humanos (adaptado de Hayes & Laws, 1994).

A eliminação desses compostos pelo fígado é facilitada pelo processo de biotransformação hepática que transforma esses compostos em substâncias mais hidrossolúveis. Tal processo é governado principalmente pelas enzimas do sistema *oxidase de função mista hepática*. A cinética de primeira ordem e a taxa de biotransformação são dependentes da concentração. Através da biotransformação os xenobióticos são transformados em compostos mais hidrofílicos e portanto mais fáceis de serem eliminados por via renal. Tanto o grau de halogenação quanto a posição do halogênio na molécula influenciam na taxa de metabolização e eliminação desses químicos (Sim & Mc'Neil, 1992)

A **Figura 1** mostra o metabolismo do *p,p'* DDT, e seus diversos metabólitos em ratos. Alguns desses são metabolizados pelo sistema P<sub>450</sub> hepático, e são encontrados no organismo humano.



**Figura 2:** Principais vias de absorção e excreção de substâncias lipofílicas persistentes (Sim & Mc'Neil, 1992).

---

\* TGI - trato gastro-intestinal

## 1.3- Legislação

### Agrotóxicos - Legislação

Na década de 70, os estudos que demonstravam fortemente a toxicidade dos pesticidas organoclorados, levaram a proibição desses compostos em vários países. Entretanto no Brasil foi apenas em 1985 que a Portaria nº 329/85 – do Ministério da Agricultura vem a proibir a comercialização e o uso de pesticidas organoclorados em todo o território nacional, para uso tanto domiciliar quanto agropecuário. Nessa proibição foram incluídos os isômeros do HCH (errôneamente chamado de BHC), o  $\alpha$ , o  $\beta$  e o  $\gamma$ -HCH ou lindano e o DDT.

A portaria nº 329 admite: *“ é necessário para salvaguardar a saúde humana e para o meio ambiente que se regulamente a utilização de agrotóxicos comprovadamente de alta persistência e/ou alta periculosidade, e para tanto proíbe também periculosidade e proíbe, em todo o território nacional, a comercialização, o uso e a distribuição dos produtos agrotóxicos organoclorados, destinados à agropecuária, dentre outros: ALDRIN, BHC, CANFENO CLORADO (TOXAFENO), DDT, DODECACLORO, ENDRIN, HEPTACLORO, LINDANE, ENDOSULFAN, METOXICLORO, NOMACLORO, PENTACLOROFENOL, DICOFOL e CLOROBENZILATO.”*

Entretanto a proibição foi parcial, algumas substâncias tiveram seu uso permitido, em casos especiais.

O parágrafo único determina que constituem exceção à proibição constante deste artigo:

- “ a) o uso de iscas formicidas à base de Aldrin e Dodecacloro;*
- b) o uso de cupinícidas à base de Aldrin para o emprego em florestamento e reflorestamento;*

*c) o uso dos referidos produtos quando aplicados pelos órgãos públicos competentes, em campanhas de saúde pública de combate a vetores de agentes etiológicos de moléstias;"*

d) o uso emergencial na agricultura, a critério da Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária - SNAD - do Ministério da Agricultura."

Antes disso, em 1984 o Ministério da Agricultura, através da Portaria nº 29/84, havia cancelado todos os registros de DDT no Brasil.

Em março de 1985 a DINAL, Divisão Nacional de Alimentos , lança a compilação com a relação de substâncias com ação tóxica sobre animais e plantas, cujo o registro poderia ser autorizado no Brasil, em atividades agropecuárias ou com domossanitário

Tanto o HCH quanto o DDT não constavam da lista das substâncias autorizadas para esses fins, sendo seu uso permitido somente sob exclusiva responsabilidade da Superintendência de Campanhas de Saúde Pública , a SUCAM., vinculada ao Ministério da Saúde.

Em julho de 1989 a Lei nº 7.802, dispõe sobre a pesquisa, produção, experimentação, embalagem e rotulagem , transporte, armazenamento, comercialização, propaganda comercial, utilização, importação, exportação, destino final de resíduos e embalagens, registro, classificação, controle, inspeção e fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins. Para tanto define pesticidas e afins:

*"os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos."*

Em 1993, uma nova portaria do Ministério da Agricultura proibiu o uso do Mirex e do Aldrin (Bortoleto, 1993) e, finalmente em 1998 o Ministério da Saúde proibiu o uso tanto no agricultura quanto para uso doméstico de Aldrin, Endrin, Heptaclor, HCH, Lindano (isômero  $\gamma$ -HCH) e do DDT (Portaria nº11 M.S / D.O.U., 21.01.98).

## **1. 4 - Leite Humano**

### **1.4.1- Características bioquímicas:**

O leite, seja ele animal ou humano, é considerado quimicamente como uma dispersão coloidal composto por moléculas complexas como açúcares, vitaminas lipossolúveis e sais minerais. As proteínas e o fosfato de cálcio encontram-se em dispersão coloidal, já o material graxo, ou os glóbulos de gordura, encontram-se emulsificados e em suspensão na fase aquosa. O leite é considerado uma emulsão diluída, uma vez que possui uma partição entre sua fase aquosa e sua fase lipofílica (Picó, et al.,1994).

### **1.4.2 -Síntese**

O leite humano é um fluido aquoso cujas características descritas acima lhes confere a propriedade de particionar muito bem substâncias e moléculas, tanto polares e hidrossolúveis, como moléculas lipossolúveis. O leite é secretado logo após o parto por estímulo do hormônio esteroide hipofisário, prolactina. A prolactina age sobre as células alveolares da mama estimulando a assimilação intensa e rápida de material graxo, proveniente do tecido adiposo ou de reserva materno. Durante essa fase, compostos químicos acumulados nesse tecido, devido ao seu caráter lipossolúvel também são incorporados à produção do leite (Sim & Mc Neil.,1992).

Durante a produção do leite observa-se um rápido equilíbrio, facilitado principalmente pelas lipoproteínas plasmáticas, entre os compostos químicos presentes no leite produzido nas células alveolares da mama, sendo o conteúdo dessas substâncias similar ao encontrado no tecido adiposo (Gallenberg, 1989).

Durante o período de lactação, uma mulher é capaz de produzir aproximadamente 600-800 ml de leite por dia. Vários são os fatores que interferem nessa quantidade, dentre elas o estado nutricional da mãe, a idade e intensidade de sucção do bebê (Wilson et alii., 1980).

Em lactantes, o leite materno pode se tornar a principal rota excretora de substâncias persistentes, em sua maioria lipofílicas, que são armazenadas no organismo principalmente no tecido adiposo (Gallenberg L.A, 1989). Estudos demonstram que as concentrações encontradas em leite são similares às aquelas encontradas em tecido adiposo como também no plasma sanguíneo (Eyster, 1983). Esse dado é de fundamental importância para estudos epidemiológicos, uma vez que a análise do leite materno pode servir de indicador de dose interna para químicos lipofílicos como os pesticidas organoclorados, fornecendo uma estimativa da carga corpórea desses compostos em indivíduos de uma dada população.

Compostos lipofílicos não halogenados são mais rapidamente metabolizados e eliminados, não se acumulando portanto no organismo. Nesses casos, a análise do leite materno não é capaz de refletir uma exposição passada, não sendo útil por exemplo na avaliação de certos tipos de poluentes ambientais, como os metais e compostos não orgânicos que não se acumulam em tecido adiposo. Para a avaliação da exposição desses compostos o leite materno poderia apenas refletir uma exposição recente. Observa-se que o leite materno pode ser usado como um bom indicador de dose interna e de exposição passada para compostos cuja lipossolubilidade e potencial de bioacumulação sejam elevados, além é claro de possuírem uma baixa taxa de metabolização, esse é o caso dos compostos em estudo, os organoclorados (Sim & Mc'Neil, 1992).

#### **1.4.3 -Fatores que modificam os níveis de compostos lipofílicos no leite**

Alguns fatores podem alterar significativamente a concentração desses compostos no leite, uma vez que são múltiplas as alterações fisiológicas que ocorrem durante a gravidez e o período subsequente ao parto, que é o período da lactação. São eles:

##### **A -Teor de gordura do leite**

Sendo os pesticidas organoclorados lipofílicos, é presumível que sua partição no leite materno se dê significativamente na fase gordurosa do leite. Analisando o leite total, observou-se que leites que possuíam maior conteúdo lipídico também possuíam

níveis mais elevados de compostos lipofílicos, simplesmente devido ao fato de que sabidamente esses compostos se particionam mais em gordura. Entretanto é importante ressaltar que os níveis de gordura no leite materno alteram-se significativamente durante a lactação (Casey, 1983).

Para excluir essa fonte de variação, os resultados da concentração de pesticidas organoclorados em leite materno devem ser expressos em relação ao percentual de gordura do leite, e não em relação ao leite total. Um estudo importante em que utilizam-se os valores encontrados no leite total é o estudo da **ID** ou **ingestão diária** do bebê, no qual calcula-se o quanto desses compostos é ingerido pelo bebê durante a amamentação, considerando o volume de leite ingerido diariamente.

## **B -Peso materno**

Durante o equilíbrio, a concentração de organoclorados na gordura, tanto na mãe obesa quanto na mãe cujo peso é considerado normal, serão semelhantes. Entretanto nas mães obesas a carga total durante o equilíbrio poderá ser maior, assim como será maior também o tempo necessário para que esse equilíbrio se estabeleça. Caso o tempo de exposição seja tal que permita que o equilíbrio se estabeleça, não é necessário que sejam feitos ajustes em relação ao peso corporal ou ao índice de massa corpórea. Esse ajuste em relação ao índice de massa corpórea torna-se importante no caso de compostos que possuem uma meia-vida curta onde o equilíbrio não chega a ser alcançado (Müller et al., 1991).

Mudanças no peso corpóreo durante semanas ou meses antes da amostragem podem também influenciar os níveis de químicos presentes na gordura do leite. Durante a gravidez, a variação do peso é bastante significativa, e a perda de peso no período logo após o parto faz parte do processo da produção do leite materno. A produção do leite pelas células alveolares da mama provocam um processo intenso de lipólise da gordura armazenada no tecido adiposo. Durante a lipólise os compostos lipofílicos presentes na gordura são também mobilizados e redistribuídos, levando a um aumento dos níveis plasmáticos desses compostos o que pode sugerir uma exposição maior do que a real. Por isso, para estudos epidemiológicos torna-se importante se averiguar o peso materno durante a gravidez e durante a amamentação, para que se possa observar mudanças significativas (Sim & Mc'Neil, 1992).



### **C -Duração da Lactação**

Uma vez que a amamentação representa a principal via de excreção de compostos lipofílicos, a concentração desses compostos tende a diminuir em mulheres que estão amamentando (Sim & Mc'Neil, 1992). Estudos demonstram que a diminuição desses níveis se faz mais intensamente nos primeiros períodos de amamentação, portanto na amostragem deve-se levar em conta ou considerar o período de tempo após o parto (Jensen et al., 1990) ou controlar este importante fator de confundimento na análise.

### **D -Número de Gestações**

Devido a diminuição progressiva dos químicos no organismo materno com a amamentação, foi observado que mulheres primíparas possuem níveis maiores desses compostos no leite do que mulheres que amamentaram um maior número de crianças (Yakushiji, 1978).

Outro fator que interfere na carga de químicos no leite é o tempo entre uma gravidez e outra, em caso de mães múltiparas. Em mulheres cujo espaço entre as gestações é maior, existe a possibilidade de que haja um aumento dos níveis de químicos, caso a exposição continue. Por isso, em estudos epidemiológicos, para que se possa controlar essas variações, costuma-se escolher mulheres primíparas, ou mulheres com o mesmo número de filhos.

### **E -Idade materna**

Como os compostos lipofílicos acumulam com o tempo de exposição até que o "steady-state" seja alcançado, compreende-se que exista uma correlação positiva entre os níveis de químicos na gordura do leite e a idade materna, mas apenas para idades antes que o "steady-state" tenha sido atingido. No caso de químicos como os PCB's, o estado platô dificilmente é atingido antes do início da lactação (Yakushiji, 1978)

## 1.5 - Rede de Bancos de Leite

*“Em 1985, através de uma ação conjunta realizada pela Fundação Oswaldo Cruz e o Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno - PNIAM, teve início o desenvolvimento de um sub-programa com vistas a promover a expansão dos Bancos de Leite Humano no Brasil. Naquele momento, o país contava com pouco mais de uma dezena de Bancos de Leite Humano. Estas unidades de serviço, com maior ou menor grau de dificuldade operacional, foram reordenadas no intuito de serem transformadas em locais de promoção do aleitamento materno. Mais do que coletar leite, o objetivo passou a ser a promoção da amamentação natural, direcionando esforços, num primeiro momento para os fatores que dificultam a amamentação nas unidades de atenção terciária.*

*Em uma década, o Brasil experimentou uma expansão nunca antes registrada na história dessas unidades de serviço. De pouco mais de uma dezena de unidades em 1985, o País passou a contar com mais de 100 unidades.*

*A Rede Nacional de Bancos de Leite Humano é uma iniciativa do Ministério da Saúde, desenvolvida através da Secretaria de Políticas de Saúde (Área de Saúde da Criança e Aleitamento Materno) e da Fundação Oswaldo Cruz (Instituto Fernandes Figueira), cuja missão é promover a saúde da mulher e da criança mediante a integração e a construção de parcerias com órgãos federais, as unidades da federação, os municípios, a iniciativa privada e a sociedade, no âmbito de atuação dos Bancos de Leite Humano.”*

*( [http://www.fiocruz.br/redeblh/port/rede\\_nacional.htm](http://www.fiocruz.br/redeblh/port/rede_nacional.htm) )*

### **1.5.1 -O Banco de Leite Humano**

*“ O Banco de leite humano é um centro especializado, vinculado a um hospital materno/infantil, responsável pela promoção do incentivo ao aleitamento materno e execução das atividades de coleta, processamento e controle de qualidade de colostro, leite de transição e leite humano maduro, para posterior distribuição, sob prescrição do médico ou de nutricionista.*

*O Banco de Leite do IFF, situado na maternidade do Instituto Fernandes Figueira, no bairro do Flamengo, no Rio de Janeiro, é considerado um centro de referência. Recentemente o Instituto Fernandes Figueira foi reconhecido pelo Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) , Organização Mundial de Saúde (OMS), e Ministério da Saúde, como Hospital Amigo da Criança. O título foi conferido pela atuação, apoio e promoção ao aleitamento materno. Isso se deve muito ao fato do Banco de Leite Humano do IFF ser o responsável pela coordenação da Rede Nacional de Bancos de Leite Humano.*

*Além disso, o Instituto também foi reconhecido como Centro de Referência Nacional de Promoção da Saúde para o Programa de Saúde da Criança pelo Ministério da Saúde.”*

*([http://www.fiocruz.br/redeblh/port/rede\\_nacional.htm](http://www.fiocruz.br/redeblh/port/rede_nacional.htm))*

**Tabela 3:** Produção do Banco de Leite Humano do IFF no ano de 1999

		1º semestre	2º semestre
Atividades Assistenciais	Atendimento Individual	1.305	1.874
	Visita Domiciliar	404	575
	<b>Total</b>	<b>1.709</b>	<b>2.449</b>
Coleta e Distribuição de Leite Humano Ordenhado	Coletado (litros)	411.650	505.182
	Distribuído (litros)	366.610	493.361
	Doadoras no período	122	201
	Receptores no período	75	93
Controle de Qualidade (Análises)	Microbiológicas	2.279	2.643
	<b>Total</b>	<b>2.279</b>	<b>2.643</b>

([http://fiocruz.br/redeblh/port/rede\\_nacional.htm](http://fiocruz.br/redeblh/port/rede_nacional.htm))

A **Tabela 3** mostra a produção do Banco de Leite do IFF em relação às atividades assistenciais, coleta do leite materno e testes de controle microbiológico e físico-químicos, nos 1º e 2º semestres de 1999.

O leite doado ao Banco passa por várias etapas de processamento até poder ser finalmente consumido.

### **1.5.2 -Etapas de processamento do leite humano no Banco de Leite do IFF:**

#### **Coleta**

A coleta residencial é feita através da chamada *Rota de Coleta*. Através de um convênio firmado entre o Corpo de Bombeiros, um destacamento de soldados e sargentos-bombeiros, pertencentes ao quadro de saúde, percorrem os diversos bairros do Rio de Janeiro e Grande Rio, onde existam mulheres doadoras.

A rota, baseada nas Áreas de Planejamento em Saúde, ou AP's que dividem as unidades de saúde do município por região (bairros ou municípios), percorre diversos bairros coletando amostras de leite das doadoras cadastradas. Atualmente, o Banco dispõe de cinco rotas semanais (2<sup>a</sup> à 6<sup>a</sup>) em dois turnos diários, manhã e tarde. A rota de domingo é alternada semanalmente. Bairros de abrangência da rota:

1º - Segundas- feiras: Bairros da Zona Sul (Botafogo, Cosme Velho, Flamengo, Glória, Humaitá, Jardim Botânico, Lagoa, Laranjeiras, Urca, Copacabana, Ipanema e Leblon).

2º -Terças-feiras: Centro, Estácio, Bairro de Fátima, Catumbi, Santo Cristo, Santa Teresa, Tijuca, Maracanã, Grajaú, Andaraí, Praça da Bandeira, Rio Comprido, Vila Isabel, Alto da Boa Vista, Niterói e São Gonçalo.

3º -Quartas-feiras: Zona da Leopoldina (Bonsucesso, Brás de Pina, Cordovil, Ramos, Irajá, Olaria, Penha), Vila da Penha, Vaz Lobo, Higienópolis, Jardim América, Anchieta, Colégio, Nova Iguaçu, Honório Gurgel, Mesquita, São João de Meriti, Queimados, Magé e Duque de Caxias.

4º- Quintas-feiras: Bento Ribeiro, Cascadura, Piedade, Abolição, Engenho de Dentro, Engenho Novo, Lins de Vasconcelos, Rocha, Riachuelo, São Francisco Xavier, Maria da Graça, Méier, Benfica, Del Castillho, Inhaúma, Tomás Coelho, Pilares, Turiaçu,

Guadalupe, Mallet, Madureira, Marechal Hermes, Oswaldo Cruz, Realengo, Padre Miguel, Bangú, Santíssimo, Campo Grande.

5º -Sextas-feiras: Barra da Tijuca, Pedra de Guaratiba, Barra de Guaratiba, Recreio dos Bandeirantes, São Conrado, Gávea, Jacarepaguá.

Segundo o Manual Técnico da Rede Nacional de Bancos de Leite:

*“ As coletas realizadas em enfermarias e domicílios precisam de um maior rigor quando comparadas às efetuadas em recinto apropriado e exclusivo para este fim, tendo em vista as diferentes formas de contaminação e a maior dificuldade de controle.*

*As doadoras são, por definição, mulheres saudáveis que apresentam secreção láctica superior às exigências de seus filhos e que se dispõem a doar o excedente por livre e espontânea vontade.*

*Ao procurar o Banco para uma doação a voluntária é submetida a uma detalhada anamnese, que procura determinar através de um exame físico da doadora aspectos clínicos relevantes.*

*As doadoras que sejam portadoras de moléstias infecto-contagiosas ou que se encontrem em risco nutricional serão inaptas para a doação, a critério médico.*

*Em algumas instituições o uso de sapatilhas ou correlatos, de acordo com a regulamentação, é utilizado também visando manter a higienização do ambiente.”*

## **Transporte**

*O leite deve ser transportado do local de coleta ao Banco de Leite em embalagens adequadas e específicas (homologadas). O Banco de Leite considera homologados frascos tipo maionese/nescafé ou similar, além de mamadeiras, chucas e correlatos, frascos plásticos para acondicionamento de material clínico destinado à análises microbiológicas.*

*Os frascos são colocados em caixas isotérmicas, preferencialmente revestidas com PVC, contendo "gelo reciclável" em quantidade proporcional ao número de frascos de leite humano ordenado.*

*Ao manter o leite a baixas temperaturas, evita-se a proliferação de microrganismos, resultando em um produto de melhor qualidade.*

*Na impossibilidade de se dispor de "gelo reciclável", o leite congelado deve ser transportado na caixa isotérmica sem gelo.*

*Esses cuidados são necessário para assegurar que o produto transportado mantenha a mesma qualidade desde a coleta da doadora até ao consumidor.*

## **Processamento**

### **Seleção e Classificação**

*O produto cru, ao chegar ao Banco de Leite, deve ser imediatamente submetido à seleção e classificação e ao tratamento de conservação específico, caso contrário, deverá ser estocado cru, mas nas mesmas condições a que foi submetido desde a coleta, pelo menor tempo possível.*

*Avalia-se as condições de conservação em que o leite se encontra no momento da recepção, verificando se a embalagem é adequada sob o ponto de vista de vedação, tipo de material, etc.*

*A limpeza da parte externa do frasco é feita com álcool a 70%. Este procedimento tem a função de reduzir a presença de contaminantes nos freezers e geladeiras.*

### **Acondicionamento e Embalagem (Reenvase)**

*Os frascos utilizados para o reenvase do leite são frascos homologados e que tenham sido devidamente esterilizados. Os frascos que apresentam sujidades no interior, são imediatamente descartados. Além disso, deve-se observar o prazo de validade da esterilização.*

*Os produtos que chegam ao Banco congelados são submetidos a degelo prévio. A manipulação do leite deve ser feita sempre em campo estéril que pode ser obtido com*

*o auxílio de uma lamparina a álcool ou um bico de bunsen, evitando desta forma a contaminação do produto.*

*O reenvaso também é feito em campo de chama, segundo volumes adotados pelo Banco de Leite.*

## **Pasteurização**

*Um dos processos mais importantes ao qual o leite humano é submetido, é o processo de pasteurização. A pasteurização é responsável pela inativação de microorganismos patogênicos presentes no leite materno, inclusive do HIV (Fogliano, 2000). A temperatura de pasteurização é de 62,5°C por 30 minutos, e é prática obrigatória para todos os Bancos de Leite no Brasil (Portaria nº 322 - MS). É importante salientar que a temperatura de inativação do vírus HIV é de 56°C por 30 minutos (Ziegler e col.,1989). Somente o leite pasteurizado, cujo teste microbiológico feito para enterobactérias, deu negativo é que será considerado próprio ao consumo.*

## **Distribuição**

*O leite humano ordenhado deve ser distribuído de acordo com os critérios estabelecidos pela Portaria nº322 de 1988, do MS.*

*Normalmente são selecionados como receptores os lactentes que apresentam uma ou mais das indicações que se seguem:*

- *Prematuros e recém nascidos de baixo peso que não sugam;*
- *Recém-nascidos infectados, especialmente com enteroinfecções;*
- *Portadores de deficiências imunológicas;*
- *Portadores de diarreia protraída;*
- *Casos excepcionais, a critério médico;*
- *Portadores de alergia a proteínas heterólogas.”*

*([http://www.fiocruz.br/redeblh/pot/manual\\_tec/manual\\_tecnico.htm](http://www.fiocruz.br/redeblh/pot/manual_tec/manual_tecnico.htm))*



## 1.6 - Objetivos

### Gerais

Embora haja uma tendência à diminuição dos níveis residuais de pesticidas organoclorados ambientais, devido a severa restrição do uso da maioria dos organoclorados, a persistência desses compostos nos organismos vivos torna necessário um monitoramento capaz de acompanhar e quantificar os níveis desses compostos na população não exposta para avaliar possíveis exposições passadas e suas origens.

O objetivo desse trabalho é o de quantificar, através da dosagem em leite humano, os níveis de pesticidas organoclorados persistentes (p,p'DDT, p,p'DDE,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -HCH, HCB, Aldrin, Dieldrin, Endossulfan 1 e 2, Mirex (dodecacloro), Metoxicloro e Clordano) em mulheres doadoras do Banco de Leite do Instituto Fernandes Figueira (IFF/FIOCRUZ) / RJ, avaliando dessa forma o nível de contaminação por pesticidas organoclorados, com uma amostragem bem distribuída e representativa da população feita utilizando-se o serviço de coleta do Banco de Leite do IFF.

### Específicos

- Estimar os níveis de organoclorados em mulheres não expostas ocupacionalmente, na cidade do Rio de Janeiro, através de dados amostrais de doadoras do Banco de Leite do Instituto Fernandes Figueira (IFF/FIOCRUZ) ;
- Calcular o valor da ingesta diária dos bebês amamentados e comparar com os valores da IDA(ingesta diária aceitável) estabelecida pela FAO/OMS (Codex Alimentarius);
- Análise das variáveis reprodutivas e dos hábitos de vida como possíveis determinantes dos níveis de organoclorados no leite das doadoras.

## **Capítulo II - Materiais e Métodos**

---

### **2.1 -Amostragem**

As amostras de leite humano foram coletadas nos meses de setembro e outubro de 2000, durante o processamento do leite doado ao Banco de Leite Humano do Instituto Fernandes Figueira, IFF/FIOCRUZ.

Na primeira etapa do processamento, o leite humano ordenhado proveniente da doação domiciliar (rota) chega ao Banco de Leite congelado. A doadora cadastrada como doadora domiciliar retira o leite excedente e o acondiciona em frascos ditos homologados. Para efeito deste trabalho, somente foram coletadas amostras provenientes de frascos de vidro, uma vez que embalagens de plástico podem adsorver gordura e conseqüentemente, as substâncias de interesse. A doadora é instruída à congelar imediatamente o leite após a coleta e comunicar ao Banco que se encarrega de transportar o leite congelado do domicílio da doadora, cujo bairro já se encontra cadastrado, em uma das rotas, até o Banco. Cada nova doadora de um bairro ainda não cadastrado tem seu bairro anexado à rota. As amostras são levadas ao banco em caixas térmicas, e chegam ainda congeladas.

#### **2.1.1 -Descongelamento e reenvase**

Apenas os frascos devidamente etiquetados e estocados no freezer são descongelados para a etapa de reenvase. Durante o processo de reenvase os leites são acondicionados em frascos homologados limpos e esterilizados, e o leite de uma doadora que muitas vezes chega em dois ou mais frascos será colocado em apenas um, perfazendo um volume final de aproximadamente 400 ml por frasco. Em alguns casos, o leite de duas ou até de no máximo três doadoras são misturados em um mesmo frasco, em um "pool". É importante salientar que a coleta das amostras deste estudo foi feita antes do reenvase.

Um volume de 10 ml foi coletado em frascos âmbar sob campo estéril (bico de Bunsen). As amostras foram transportadas até o Laboratório de Toxicologia do CESTEJ /ENSP, resfriados a temperatura de 4°C em caixas térmicas e chegando ao laboratório foram imediatamente congeladas à -20°C até o momento da análise.

Durante os meses de setembro e outubro foram coletadas em torno de 100 amostras de leite, das cinco rotas domiciliares, que foram congeladas.

Além das amostras de leite, as doadoras voluntárias foram posteriormente visitadas em suas residências e solicitadas a responder um questionário (anexo) sobre hábitos de vida, histórico reprodutivo, da gravidez atual e anteriores e sobre o bebê amamentado. As entrevistas que foram agendadas previamente ocorreram nos meses de outubro e novembro de 2000. Apenas as doadoras que responderam ao questionário e assinaram o termo de consentimento assumindo que participavam voluntariamente do estudo tiveram suas amostras de leite analisadas, as amostras analisadas foram 50, como mostra a tabela abaixo (**Tabela 4**).

**Tabela 4:** Número de amostras analisadas por rota.

Rota	Número de amostras
Rota 1 (Zona Sul)	15
Rota 2 (Centro, Tijuca, Niterói)	8
Rota 3 (Zona da Leopoldina, Duque de Caxias)	12
Rota 4 (Zonas Norte /Oeste <sup>a</sup> )	10
Rota 5 (Barra da Tijuca , Jacarepaguá)	5
Total	50

Oeste<sup>a</sup>: Excetuando-se a Barra da Tijuca, Pedra de Guaratiba, Barra de Guaratiba e Recreio

## 2.2- Reagentes e Soluções

- Acetona J.T Baker - Ultra - Resi Analyzed<sup>®</sup>, 99.4 %;
- Acetonitrila J.T Baker - grau HPLC, 100,0%;
- *n* Hexano J.T Baker - Ultra resi Analyzed<sup>®</sup> (analisado para total de isômeros saturados C<sub>6</sub>, 99,5%;
- Metanol para análise de resíduos - Omnisolv, grau HPLC 99,91%;
- Acetato de Etila J.T Baker - Ultra Resi Analyzed, 99,6%;
- Água Milli Q;
- Extran MA 02 (neutro) Merck<sup>®</sup>, solução à 1%;
- Padrões de Pesticidas Accu Standard<sup>®</sup>, todos com graus de pureza conhecidos;
- Soluções padrão individuais com concentrações variadas em torno de 500 µg/ml: cada padrão foi pesado em balança analítica, com precisão de 0,01mg e solubilizado em n-hexano, em balão volumétrico com tampa de vidro esmerilhada;
- A mistura padrão de pesticidas para a fortificação do leite humano, utilizado nos ensaios de validação do método foi preparada uma mistura dos pesticidas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  HCH, HCB, heptaclor, aldrin,  $\alpha$  e  $\gamma$  clordano, endossulfan I e II, p,p'DDE, , p,p'DDT, p,p'DDD, transnonaclor, dieldrin, metoxyclor e mirex com concentrações conhecidas de cada um dos padrões;

- Mistura de extração: acetato de etila/metanol/acetona na proporção 2:4:4, respectivamente;

### **2.3- Lavagem do material**

A análise de traços requer certos cuidados especiais também durante a lavagem da vidraria utilizada. O procedimento de lavagem deve, principalmente, retirar as substâncias que possam vir a agir como interferentes nos resultados da análise, no caso de compostos orgânicos clorados.

A vidraria utilizada é imersa por um período mínimo de duas horas em Extran® MA neutro (Merck®) à 1%, sendo em seguida lavada abundantemente com água corrente e água destilada.

Após a lavagem e a secagem do material em estufa, estes são então rinsados com acetona e n-hexano, nessa ordem, procedimento esse também executado antes da lavagem com água, o qual chamamos descontaminação do material. O material após rinsado e seco é então guardado em cubas fechadas e protegidos com papel alumínio.

### **2.4 - Vidraria**

- Pipetas volumétricas de vidro, capacidades de 0.5;1,2,5 e 10 ml;
- Balões volumétricos de vidro, capacidades 5, 10, 25 e 50 ml ;
- Provetas graduadas de vidro, capacidades 15, 25, 50 e 100ml;
- Erlenmeyer com tampa de rosca com capacidades de: 25, 50 e 100ml;
- Cachimbo de vidro para pesagem de padrão;
- Tubos de vidro graduados, capacidade 15ml;

- Funil analítico de vidro;
- Frascos de vidro âmbar com tampa de rosca, capacidades 5,15 e 25 ml para estocagem de soluções-padrão;
- Frascos de vidro com tampa para estocagem de leite materno;

**Obs.:** toda a vidraria foi submetida aos processos de lavagem apresentados no ítem 2.3.

## **2.5 - Equipamentos e condições operacionais**

- Cromatógrafo a gás HP 5890 series II, com detetor de captura de elétrons  $^{63}\text{Ni}$  ;
- Coluna capilar HP 5% Fenil Metil Silicone, 25 metros de comprimento; 0.1 mm de diâmetro interno; 25  $\mu\text{m}$  espessura de filme;
- Ultrassom Branson<sup>®</sup> 5210;
- Balança analítica Methler<sup>®</sup> com resolução de 0.1mg;
- Vórtex Maximix II - Thermolyne Type 37600 mixer;
- Centrífuga Excelsa Baby II - Modelo 206 -R;
- Rotavapor R144 - Büchi Switzerland;
- Integrador HP 7673A.
- Colunas de SPE-PACK<sup>®</sup> C<sub>18</sub> (octadecilsilica) e Florisil<sup>®</sup> (SiO<sub>n</sub>).

## **2.6- Metodologia Analítica**

O procedimento analítico utilizado para a determinação de pesticidas organoclorados nas amostras de leite materno foi o método descrito por Stevenson et al.,1991 modificado e compreende as seguintes etapas:

### **2.6.1-Extração**

As amostras após descongeladas foram aliqüotadas em tubos graduados em um volume de 1ml, colocados em banho-maria de 37°C por 20min. À amostra adicionou-se 10 ml da mistura acetato de etila/metanol/acetona nas proporções de 2:4:4. A mistura é submetida a vórtex por 1 minuto e em seguida à 20 minutos de ultrassom. Em seguida, a amostra foi centrifugada por 15 minutos à aproximadamente 2000 rpm e à fase orgânica foi adicionada 10 ml de água. Essa mistura foi passada pela coluna de spe pack C<sub>18</sub> pré-condicionada.

Pelo fato do leite ser uma matriz extremamente rica em gordura, e ser justamente nessa fração lipídica que estão os compostos de interesse é importante que o método proposto para a extração seja eficiente com relação à extração de gorduras, evitando-se assim a ação dos interferentes no processo de análise.

### **Extração em fase sólida (Colunas Spe Pack<sup>®</sup> de octadecil sílica, C<sub>18</sub>)**

O sobrenadante contendo a fase orgânica é passado pela coluna SPE PACK<sup>®</sup> de C<sub>18</sub> (octadecil sílica) pré-condicionadas com 2 x 1ml de n-hexano, 2 x 1ml de acetato de etila, 2 x 1ml de metanol e 2 x 1 ml de água destilada. Ao sobrenadante obtido através da extração são adicionados 10 ml de água destilada. A mistura é passada pela coluna de octadecil sílica sob um fluxo de 6 a 8 ml/min. Ao final, a coluna é lavada com 2 x 1ml de solução aquosa de acetonitrila 25% e então os pesticidas retidos na coluna são eluídos com 1ml de n-hexano.

#### **2.6.2- Clean up com colunas de Florisil<sup>®</sup> (SiO<sub>n</sub>)**

O produto eluído da coluna de C<sub>18</sub>, é passado por uma coluna de Florisil pré-condicionada com 25 ml de diclorometano, 10 ml de acetato de etila, 10 ml da mistura acetona em éter de petróleo 15% e 10 ml de hexano. O pesticida é eluído com 10 ml de hexano mais 5 ml da mistura acetona em éter de petróleo 15%. O volume total de 15 ml é evaporado à 1ml onde é então são adicionados 100 µl do padrão interno, DCN (1,2 - dicloronaftaleno) à uma concentração de 108 ng.ml<sup>-1</sup>.

O padrão interno utilizado no método de Stevenson é o Aldrin, um composto bastante utilizado na indústria madeireira, no combate aos cupins. Uma vez que o aldrin ainda é encontrado em estudos multiresiduais no Brasil, provavelmente devido ao seu uso ainda ser permitido para o tratamento de madeiras, o DCN foi selecionado como padrão interno já que também é um composto organoclorado que apresenta características semelhantes aos pesticidas estudados, embora não seja utilizado como tal, e que fornece uma resposta semelhante no detetor de captura de elétrons.

A análise é feita em cromatografia gás-líquido de alta resolução com detetor de captura de elétrons, injetando-se 3µl da amostra eluída com n-hexano nas seguintes condições cromatográficas



### 2.6.3- Análise Cromatográfica

#### Parâmetros Cromatográficos

Injetor	Detetor
---------	---------

Modo: sem divisão de fluxo (splitless);

Temperatura: 300°C

Temperatura: 240°C

Fluxo do "make up": 70ml/min

Pressão: 15 psi

Gás de arraste : Hidrogênio ultra puro;

Gás de "make up": Nitrogênio ultra puro;

Fluxo da coluna: 1ml/min;

Modo: pressão constante

Rampa	Velocidade ( °C/min)	Temperatura ( °C)	Tempo final (minutos)
1	0	110°C	1
2	3,0	200	3
3	60	280	20

Tempo total: ~ 70,33 minutos.

## 2.7-Qualidade Analítica

Todo processo analítico depende de que a qualidade da informação analítica seja suficientemente confiável, com precisão e exatidão adequadas ao objetivo estabelecido.

A validação de um método é o processo de assegurar que uma metodologia analítica é aceitável para o propósito ao qual se destina, ou seja, validar significa estabelecer a qualidade de um procedimento analítico, determinando de modo claro e objetivo os parâmetros dos mesmos (Green, 1996).

Todas as medidas analíticas quantitativas são sujeitas a vários erros e é essencial que sejam realizados experimentos que permitam a estimativa desses erros, (Miller & Miller, 1988). A análise de resíduos é afetada por fatores de procedimento como extração, purificação, concentração, etc. que podem influenciar na recuperação. Os erros, em análises de traços, são também atribuídos às dificuldades em identificar uma resposta relativamente baixa, acima de um ruído alto e variável.

O estudo da exatidão do método foi determinado através da recuperação das substâncias estudadas que foram adicionadas à matriz de interesse, no caso o leite em uma faixa de concentração apropriada, ou a faixa de linearidade do detector (Conacher, 1990).

A curva de recuperação do método foi obtida através da fortificação de leite de vaca comercial semi-desnatado com quantidades conhecidas dos pesticidas de interesse.

As etapas de fortificação, segundo o método de Stevenson, foram:

- a) À uma alíquota de 50 ml de leite semi-desnatado foram adicionados 2ml de uma mistura padrão à aproximadamente  $500\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ , obtendo-se portanto uma mistura à aproximadamente  $20\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Essa mistura foi alíquotada em cinco tubos graduados cada um com um 2ml, à partir de onde foram feitas diluições seriadas de : 20, 10, 5, 2,5,  $1,25\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ .
- b) As amostras fortificadas foram submetidas ao método analítico já descrito e os resultados da recuperação são apresentados no capítulo de resultados.

Outro importante parâmetro analítico é a precisão, ou grau de concordância entre os resultados obtidos, quando uma amostra homogênea é analisada várias vezes pelo mesmo método em estudo sob idênticas condições de análise. Pode-se expressar a precisão através do desvio padrão ou desvio padrão relativo dos resultados obtidos (Chasin et al.,1994; Moraes, 1998).

O estudo de reprodutibilidade intraensaio do método foi feito através da fortificação das amostras de leite de vaca com três níveis diferentes de concentrações (1,25; 5 e 10 ng.ml<sup>-1</sup>), injetadas cinco vezes cada.

Foram calculadas as médias e o desvio padrão das cinco injeções para cada concentração e seus respectivos coeficientes de variação.

Para a avaliação da variabilidade interensaio, três amostras nas concentrações 1,25; 5 e 10 ng.ml<sup>-1</sup> foram extraídas por dia, durante cinco dias . Foram calculados os coeficientes de variação para cada concentração.

O limite de detecção do método foi determinado segundo as normas da IUPAC, calculando-se três vezes o desvio padrão do branco ou a menor concentração detectada correspondente ao desvio do ruído de fundo para cada substância.

## Capítulo III - Resultados e Discussão

### 3.1- Validação da Metodologia

O estudo da linearidade de resposta do detector foi feito para as substâncias de interesse no estudo na faixa de 1,25 a 20  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . Os valores de  $r$  variaram de 0,9899 a 0,9991, demonstrando uma relação linear entre a resposta do detector e 5 níveis de concentração (1,25; 2,5; 5; 10 e 20  $\mu\text{g.l}^{-1}$ ), com cinco curvas para cada pesticida (Tabela 5).

**Tabela 5:** Linearidade de resposta do detector de captura de elétrons (HP 6890) para a faixa de concentração 1,25 - 20  $\mu\text{g.l}^{-1}$ .

Substância	a	b	r
$\alpha$ -HCH	$1,570 \times 10^{-5}$	- 1,250	0,9964
HCB	$1,05 \times 10^{-5}$	- 0,2030	0,9899
$\beta$ -HCH	$6,20 \times 10^{-5}$	- 2,050	0,9901
$\gamma$ -HCH	$2,44 \times 10^{-5}$	- 1,366	0,9992
Aldrin	$1,36 \times 10^{-5}$	- 0,06000	0,9907
$\gamma$ -clordano	$8,34 \times 10^{-6}$	- 1,9138	0,9909
Endossulfan 1	$1,06 \times 10^{-5}$	- 1,969	0,9950
Endossulfan 2	$3,11 \times 10^{-5}$	- 1,579	0,9991
Transnonacloro	$1,303 \times 10^{-5}$	- 0,2910	0,9898
Dieldrin	$2,78 \times 10^{-5}$	- 1,451	0,9985
<i>p,p'</i> DDT	$2,47 \times 10^{-5}$	- 1,451	0,9985
<i>p,p'</i> DDE	$1,25 \times 10^{-5}$	0,01900	0,9912
<i>p,p'</i> DDD	$2,56 \times 10^{-5}$	- 1,679	0,9900
Metoxicloro	$2,32 \times 10^{-5}$	- 0,2180	0,9909
Mirex	$1,22 \times 10^{-5}$	- 1,550	0,9897

a - coeficiente angular da reta

r - coeficiente de correlação

b - coeficiente linear da reta

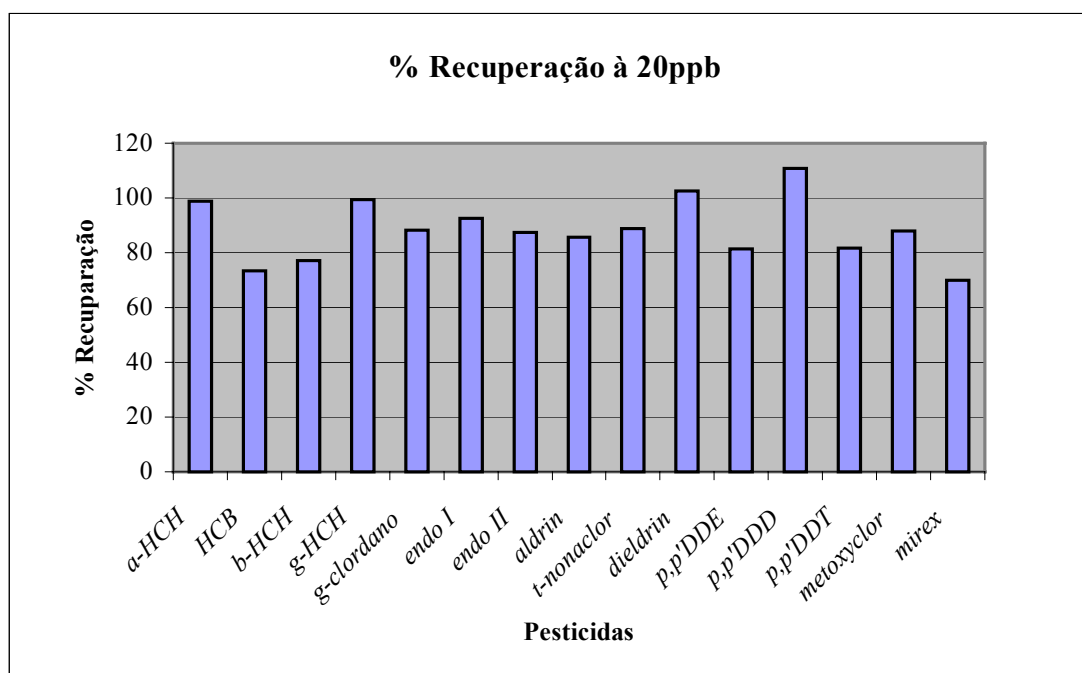
A exatidão foi avaliada através da recuperação das substâncias estudadas que foram adicionada a matriz de interesse, no caso foi utilizado o leite de vaca semi-desnatado comercial. Foram realizadas fortificações, por adição de quantidades conhecidas de cada padrão, ou seja, concentrações que encontram-se dentro da faixa de linearidade do detector. Os resultados da recuperação para 3 níveis de concentração encontram-se na **Tabela 6**.

**Tabela 6:** Percentual de recuperação dos pesticidas submetidos ao método (Stevenson, 1991)

Substância	Recuperação %		
	1,25ng.g <sup>-1</sup>	5ng.g <sup>-1</sup>	20ng.g <sup>-1</sup>
<i>α HCH</i>	98,1	97,3	99,0
<i>HCB</i>	75,5	88,3	73,3
<i>β HCH</i>	73,2	80,4	77,1
<i>γ HCH</i>	98,3	101	99,3
<i>Aldrin</i>	74,1	80,5	85,6
<i>γ clordano</i>	82,2	82,2	88,4
<i>Endossulfan 1</i>	102	99,1	92,9
<i>Dieldrin</i>	100	88,3	102
<i>Transnonaclor</i>	96,6	90,4	88,9
<i>p,p'DDE</i>	90,3	93,5	81,4
<i>Endossulfan 2</i>	90,5	85,6	87,5
<i>p,p'DDD</i>	99,3	98,6	110
<i>p,p'DDT</i>	90,5	74,4	81,8
<i>Metoxycloro</i>	88,3	80,6	87,9
<i>Mirex</i>	80,3	71,5	70,1

Os valores de recuperação para todas as substâncias encontram-se dentro da faixa aceitável para análise de resíduos (70 -100%) (*Codex Alimentarius*, 1996).

A **Figura 4** mostra graficamente a recuperação de alguns dos organoclorados estudados para a concentração de 20 ng.g<sup>-1</sup>.



**Figura 4:** % de recuperação dos pesticidas estudados submetidos a todo processo analítico

Pode-se dizer que o parâmetro precisão representa o grau de concordância entre os resultados obtidos, quando uma mesma amostra é analisada várias vezes pelo método de estudo, sob condições idênticas de análise (Mello,2000). A precisão pode ser expressa pelo desvio padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação) entre os resultados obtidos. Para o estudo da precisão, amostras fortificadas com três níveis de concentração de 1,25; 2,5 e 5 ng.ml<sup>-1</sup> foram extraídas e injetadas 5 vezes, os resultados encontram-se na **Tabela 7**.

**Tabela 7:** Reprodutibilidade do método para extração dos organoclorados obtido para três níveis de fortificação (%CV).

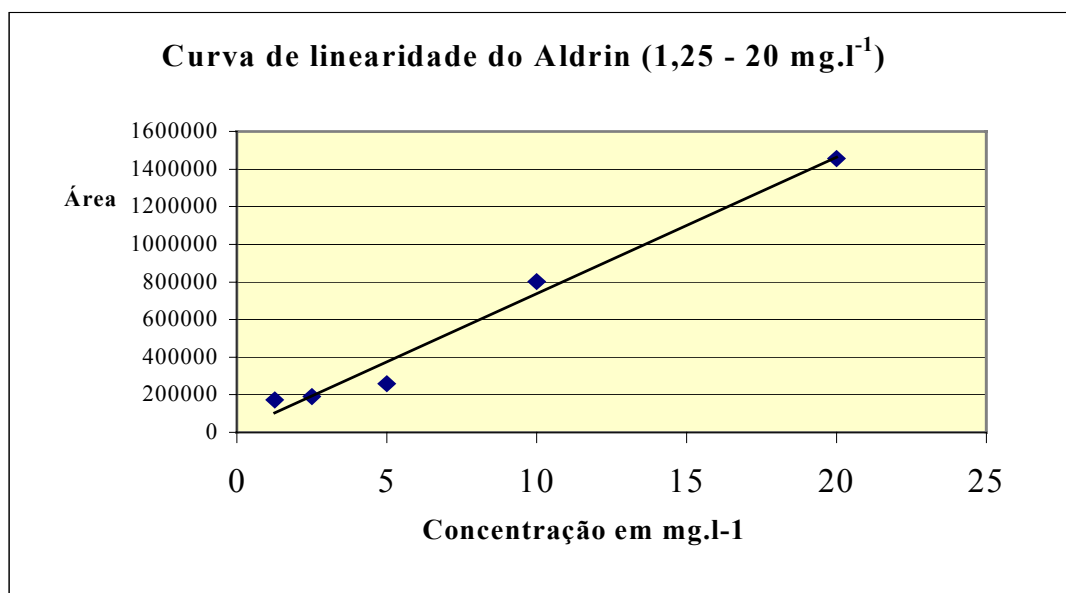
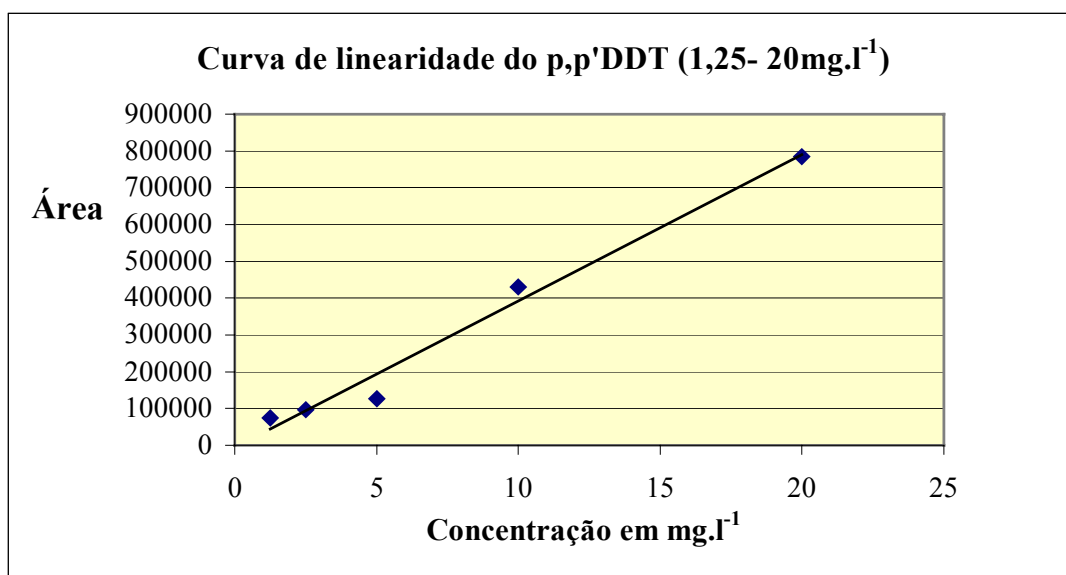
Substância	%CV		
	1,25ng.ml <sup>-1</sup>	2,5ng.ml <sup>-1</sup>	5ng.ml <sup>-1</sup>
<i>α HCH</i>	3,4	2,3	2,0
<i>HCB</i>	2,8	2,1	1,7
<i>β HCH</i>	3,5	2,4	2,3
<i>γ HCH</i>	3,6	2,6	2,9
<i>Aldrin</i>	3,0	2,3	1,8
<i>γ-clordano</i>	2,2	1,6	1,2
<i>Endossulfan 1</i>	2,2	1,5	1,2
<i>Dieldrin</i>	5,8	3,8	3,7
<i>Transnonaclor</i>	2,8	2,1	1,6
<i>p,p'DDE</i>	4,0	3,0	2,4
<i>Endossulfan 2</i>	3,7	1,7	2,9
<i>p,p'DDD</i>	2,9	2,0	1,7
<i>p,p'DDT</i>	3,5	2,5	2,2
<i>Metoxycloro</i>	2,8	1,2	1,7
<i>Mirex</i>	4,0	3,0	2,4

**Tabela 8:** Limites de detecção do equipamento e do método à partir de soluções padrão de 0,5 ng.ml<sup>-1</sup> e 1,0 ng.ml<sup>-1</sup>

Substância	Limites de detecção	
	Equipamento ng.ml <sup>-1</sup>	Método ng.ml <sup>-1</sup>
<i>α HCH</i>	0,5163	0,1026
<i>HCB</i>	0,0860	0,1720
<i>β HCH</i>	0,0211	0,0042
<i>γ HCH</i>	0,1291	0,0258
<i>Aldrin</i>	0,0861	0,0172
<i>γ-clordano</i>	1,8073	0,0840
<i>Endossulfan 1<sup>a</sup></i>	2,1515	0,1000
<i>Dieldrin</i>	0,4733	0,0230
<i>Transnonaclor</i>	0,0430	0,0030
<i>p,p'DDE</i>	0,0860	0,0040
<i>Endrin</i>	0,0770	0,0035
<i>p,p'DDD<sup>a</sup></i>	0,7315	0,0340
<i>p,p'DDT<sup>a</sup></i>	0,0861	0,0040
<i>Mirex</i>	1,7212	0,0300

a -solução padrão à 1,0 ng.ml<sup>-1</sup>

**Figura 3:** Curvas de linearidade do p,p'DDT e Aldrin nas concentrações de 1,25-20ng.ml<sup>-1</sup>



A **Figura 3** mostra a curva de linearidade para o p,p' DDT e Aldrin, fortificados com misturas padrão nas de concentrações 1,25, 2,5, 5, 10 e 20 ng.g<sup>-1</sup>.



### 3.2 - Resultados da pesquisa dos hábitos de vida das doadoras participantes do estudo e dos níveis de organoclorados.

Os resultados apresentados abaixo são referentes aos dados coletados através do questionário, no período em que foram feitas as coletas de amostras leite materno.

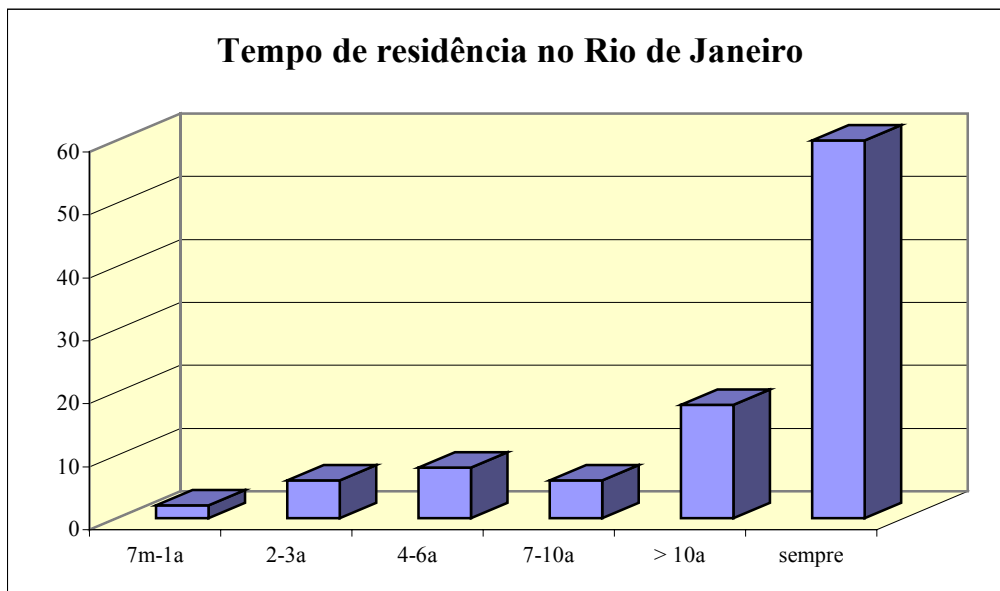
**Tabela 9:** Valores médios de características maternas

	Média	d.p	Limites	
			máx	mín
Idade materna (anos)	29,2	7,04	40	17
Renda familiar(R\$)	2841,1	2466	10000	151
Número de pessoas por casa	4,5	2,3	16	2

A **Tabela 9** mostra os valores médios para variáveis como idade materna, renda familiar número de pessoas que moram na mesma residência que a doadora. Os dados revelam que a média de idade das doadoras do Banco de Leite do IFF, participantes do estudo é de 29 anos com valor mínimo de 17 e máximo de 40 anos. A renda familiar média está em torno de R\$ 2.800,00 e a doadora divide sua residência em média com 5 pessoas.

Outras características observadas foram que 100% das doadoras participantes do estudo sabem ler e 38% possuem o 3º grau completo, 22% concluíram o 2º grau e 2% possuem o 1º grau completo. Em relação à habitação, 88% das participantes possuem saneamento básico em suas residências, 18% são residentes no Município do Rio de Janeiro ou Grande Rio por mais de 10 anos e 60% sempre morou no Rio de Janeiro e Grande Rio. A **Figura 4** mostra em detalhe a distribuição percentual do tempo de residência das doadoras do Banco de Leite do IFF participantes do estudo no Rio de Janeiro.

Os resultados mostram que a maioria das doadoras sempre moraram no Rio de Janeiro desde o nascimento (60%). A menor frequência foi observada para moradoras recentes, apenas (2%) .

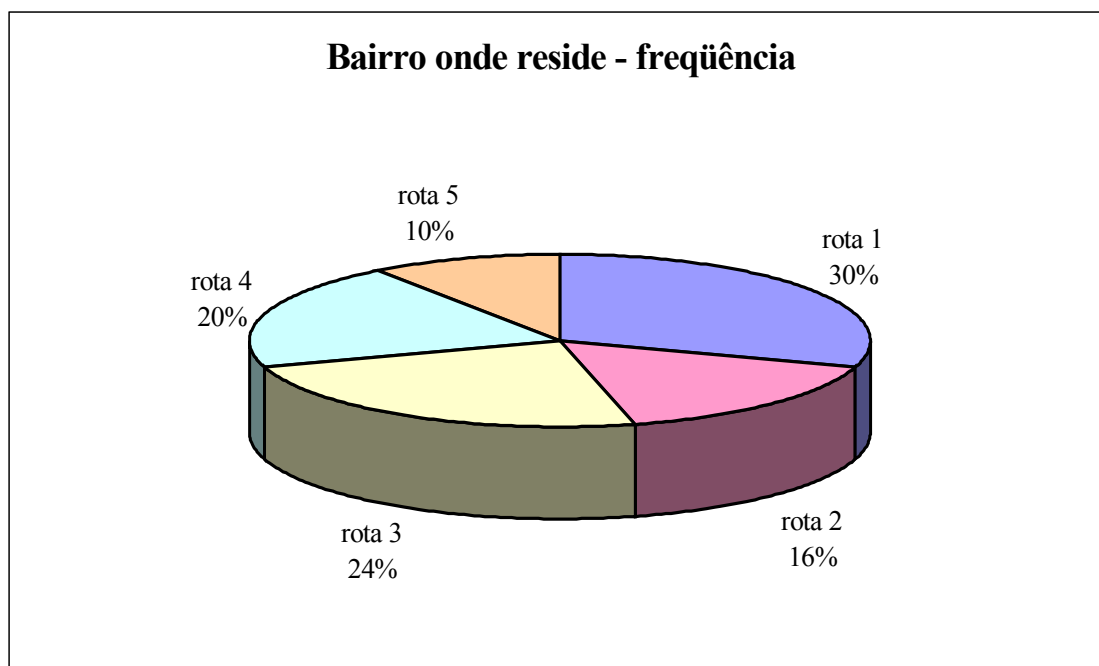


**Figura 4:** Tempo de residência no Rio de Janeiro

- 7m -1a - 7 meses a 1 ano
- 2-3a - 2 a 3 anos
- 4 -6a - 4 a 6 anos
- 7 - 10a - 7 a 10 anos
- >10a - mais de 10 anos
- sempre - sempre moraram no Rio de Janeiro

A coleta externa do Banco de leite é feita de acordo com uma rota diária, observando o disposto na Portaria nº322 do Ministério da Saúde. Os diversos bairros da cidade onde existam doadoras são agrupados em uma determinada rota de acordo com a proximidade. Vale ressaltar que as rotas abrangem bairros do Rio e Grande Rio, ou municípios vizinhos.

O gráfico abaixo mostra a distribuição das doadoras que participaram deste estudo por bairros e municípios, divididos por rota:



**Figura 5:** Frequências de moradia por rota

Rota 1: Botafogo, Copacabana, Leblon, Rocinha;

Rota 2: Centro, Niterói, Tijuca, Rio Comprido;

Rota 3: Duque de Caxias, Ilha, Jardim América, Ramos, Irajá;

Rota 4: Campo Grande, Realengo, Méier, Piedade, Pavuna;

Rota 5: Barra da Tijuca, Recreio dos Bandeirantes, Jacarepaguá.

Os resultados demonstram que 30% das doadoras são residentes da Zona Sul do Rio de Janeiro (rota 1), 24% são residentes nos bairros da rota 3, ou seja, bairros da Zona da Leopoldina como Ramos e Irajá, assim como o Município de Duque de Caxias, que pertence a esta rota. A rota 4 é a que abrange o maior número de bairros possui 20% das doadoras.

Além de perguntas pertinentes aos hábitos de vida, as doadoras foram argüidas à respeito de características reprodutivas e do bebê que estava sendo amamentado no momento do estudo.

Em média as doadoras tiveram sua menarca (1ª menstruação) com  $12,5 \pm 1,10$  anos, os bebês atualmente amamentados tem em média  $4,6 \pm 3,03$  meses e nasceram com  $37,8 \pm 3,9$  semanas. O peso dos bebês em média é de  $3058,8 \pm 711,3$  g, com o valor mínimo de 610g e máximo de 4,450g. O tempo médio que os bebês foram amamentados integralmente, ou seja, tendo o leite materno como fonte exclusiva de alimentação, foi de  $3,69 \pm 1,5$  meses.

### 3.3- Níveis de organoclorados encontrados no leite materno

Os níveis de pesticidas organoclorados encontrados nas amostras de leite materno das mães doadoras do Banco de Leite do IFF/FIOCRUZ encontram-se apresentados nas tabelas 9 e 10. A **Tabela 9** expressa os valores em  $\text{ng.g}^{-1}$  de gordura total, e a **Tabela 10** expressa os valores em  $\text{ng.ml}^{-1}$  de leite.

Observando os valores encontrados na **Figura 8**, verifica-se que os pesticidas que apresentaram maiores frequências foram: o p,p'DDE 100% para as amostras analisadas, seguido do p,p'DDT 90%, do  $\beta$ -HCH 84%, p,p'DDD 82% e Endossulfan I 78% e  $\gamma$ -clordano 74%. Pode-se portanto observar que os organoclorados mais encontrados foram os metabólitos do DDT, primordialmente o p,p'DDE que é o mais persistente e o  $\beta$ -HCH.

Das amostras analisadas foram encontrados ainda:  $\alpha$ -HCH 56%,  $\gamma$ -HCH (lindano) 32%, Aldrin e Dieldrin 54% e 52% respectivamente. Os valores encontrados para Aldrin e Dieldrin são coerentes uma vez que o Aldrin ao ser absorvido é rapidamente metabolizado a Dieldrin (Sim & Mc,Neil).

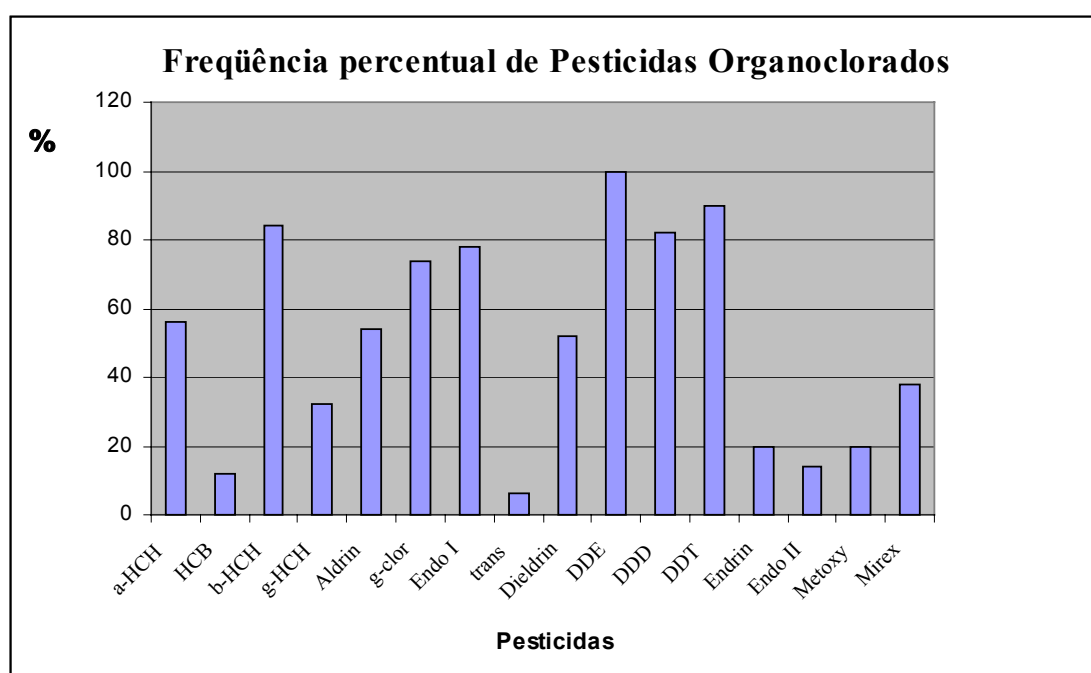
Embora com uma frequência baixa foram ainda encontrados entre as amostras analisadas : HCB (12%), Transnonaclor (6%), Endrin (20%), Endossulfan II (14%), Metoxiclor (20%) e Mirex (38%).

### 3.3.1- Níveis médios de organoclorados em $\text{ng.g}^{-1}$ de gordura

Os níveis médios encontrados em  $\text{ng.g}^{-1}$  de gordura apresentados em base lipídicas, na **Tabela 9** foram: p,p'DDE  $580,2 \text{ ng.g}^{-1}$  com valor máximo de  $7292 \text{ ng.g}^{-1}$  mínimo de  $18,08 \text{ ng.g}^{-1}$ .

O  $\beta$ -HCH apresentou níveis médios de  $253,3 \text{ ng.g}^{-1}$  e níveis máximo e mínimo de  $2626$  e  $2,362 \text{ ng.g}^{-1}$  respectivamente. Os resultados encontrados para p,p' DDT foram  $23,8 \text{ ng.g}^{-1}$  em média e valores máximo e mínimos de  $169,3$  e  $0,9800 \text{ ng.g}^{-1}$  respectivamente. O  $\alpha$ -HCH apresentou valores médios de  $15,70 \text{ ng.g}^{-1}$  ( $1,830 - 100,9$ ) e o  $\gamma$ -HCH, ou lindano apresentou valores médios de  $73,10 \text{ ng.g}^{-1}$  ( $1,17 - 899,19$ ). Dentre os metabólitos do p,p' DDT, o que apresentou níveis mais baixos foi o p,p' DDD  $13,9 \text{ ng.g}^{-1}$  ( $1,330 - 86,36$ ).

O nível médio de Endossulfan I encontrado foi de  $121,7 \text{ ng.g}^{-1}$ , com valor máximo de  $943,5 \text{ ng.g}^{-1}$  e mínimo de  $2,1 \text{ ng.g}^{-1}$ .



**Figura 6:** Frequência percentual de pesticidas organoclorados

### 3.3.2 -Níveis médios de organoclorados em ng.ml<sup>-1</sup> de leite

Os níveis médios expressos em ng.ml<sup>-1</sup> (**Tabela 10**) foram:  $18,54 \pm 22,56$  ng.ml<sup>-1</sup> para o p,p'DDE, com níveis máximo de 97,41 ng.ml<sup>-1</sup> e mínimo de 1,250 ng.ml<sup>-1</sup>. O  $\beta$ -HCH apresentou níveis médios de  $7,620 \pm 11,73$  ng.ml<sup>-1</sup> e valores máximos e mínimos de 71,69 e 0,2200 ng.ml<sup>-1</sup>, respectivamente. O  $\alpha$  HCH apresentou valores de 0,5900 ng.ml<sup>-1</sup> (0.13-2.7) e o  $\gamma$ -HCH 1,17 ng.ml<sup>-1</sup>, com valores máximo de 4,02 ng.ml<sup>-1</sup> e mínimo de 0,13 ng.ml<sup>-1</sup>.

Pode-se observar que tanto para níveis médios expressos em bases lipídicas quanto em ng.ml<sup>-1</sup> de leite os níveis de  $\beta$ -HCH são os mais elevados dentre os isômeros do HCH. Isso se deve ao fato de que o  $\beta$ -HCH possui menor velocidade de metabolização que os demais isômeros, e portanto maior taxa de acumulação que os demais isômeros (Jensen, 1983 *apud* Czaja et al., 1997; Quincey et al., 1995).

No estudo de correlação entre os níveis encontrados para o p,p' DDE e as variáveis reprodutivas: idade materna, número total de filhos, tempo de amamentação total, tempo de amamentação do primeiro bebê em meses e tempo de amamentação das primíparas encontrou-se os resultados descritos à seguir:

Correlacionando-se a idade materna e os níveis médios de p,p' DDE, o valor observado foi  $r = 0,145$ ,  $p = 0,315$  o que demonstra não haver correlação significativa. Entretanto ao se controlar a variável idade materna pelo tempo total de amamentação para mulheres primíparas, a correlação passa a ser significativa ( $r = 0,339$ ,  $p = 0,046$ ).

Em relação ao número total de filhos e ao tempo de amamentação do primeiro bebê, observa-se uma correlação negativa com os níveis de p,p'DDE ( $r = -0,187$ ,  $p = 0,192$ ) e ( $r = -0,059$  e  $p = 0,683$ ) respectivamente, que embora não significativas, demonstram que mulheres com maior número de filhos e que amamentaram o primeiro filho por mais tempo têm uma maior tendência a ter menores níveis de p,p'DDE.

**Tabela 10:** Níveis de pesticidas organoclorados em leite materno em  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de gordura.

Pesticidas	N	Média ( $\eta\text{g/g}$ )	Valores máximos	Valores mínimos
$\alpha$ -HCH	28	15.75	100.86	1.83
HCB	6	25.59	97.50	2.03
$\beta$ -HCH	42	253.26	2626.2	2.36
$\gamma$ -HCH	16	73.13	899.19	1.17
Aldrin	27	58.58	499.82	5.92
$\gamma$ -clordano	37	78.25	352.33	11.95
Endossulfan I	39	121.78	943.54	2.10
Endossulfan II	7	54.33	101.49	7.94
Transnonaclor	3	15.76	24.88	7.18
Dieldrin	26	47.90	343.76	6.36
p,p'DDE	47	580.23	7292.5	18.08
p,p'DDD	41	13.89	86.36	1.33
p,p'DDT	45	23.80	169.33	0.98
Endrin	10	12.84	28.99	3.02
Mirex	19	21.73	108.38	0.85

**Tabela 11:** Níveis de pesticidas organoclorados em leite materno em ng.ml<sup>-1</sup> de leite.

Pesticidas	N	Média (ng/ml)	Valores máximos	Valores mínimos
α-HCH	28	0.60	2.70	0.13
HCB	6	1.23	2.35	0.09
β-HCH	42	7.62	71.69	0.22
γ-HCH	16	1.18	4.03	0.13
Aldrin	27	1.82	5.70	0.32
γ-clordano	37	3.13	8.29	0.97
Endossulfan I	39	4.48	14.34	0.07
Endossulfan II	7	3.77	7.75	1.05
Transnonaclor	3	0.83	1.46	0.54
Dieldrin	26	1.58	4.79	0.34
p,p'DDE	47	18.53	97.41	1.25
p,p'DDD	41	0.53	2.27	0.16
p,p'DDT	45	0.83	3.01	0.15
Endrin	10	0.94	2.08	0.07
Metoxyclor	10	2.31	10.21	0.07
Mirex	19	0.68	2.55	0.14



### 3.4- Avaliação da IDA (Ingestão Diária Aceitável)

Através dos valores de concentração obtidos para os organoclorados, é possível estimar o valor da ingestão diária desses contaminantes provenientes do leite materno e compará-los com os valores aceitáveis para a ingestão diária estabelecidos pela FAO/WHO (*Codex Alimentarius*). O cálculo da IDA foi feito para o somatório de DDT e para o isômero  $\beta$  do HCH. Para o cálculo da ingestão diária, considerou-se em mg/kg de peso corpóreo/dia (OMS, 1992) que um bebê ingere em média 125g / kg de leite com um percentual de 3,5% de gordura (López-Carrillo et al., 1999). A IDA média calculada para o somatório de DDT foi de 0,00341 mg/ kg de peso corpóreo / dia, quando a IDA recomendada pela FAO/WHO é de 0,005 mg /kg de peso corpóreo / dia.

**Tabela.12:** Valores da IDA em mg/ kg de peso/dia para o  $\Sigma$  DDT em leite materno

	IDA	IDA <sub>obs</sub> /IDA <sub>ref</sub>	% acima do recomendado
México <sup>a</sup> (1999)	0.00392	0,78	6
FAO/WHO <sup>b</sup> (Codex Alimentarius)	0.005	—	—
Brasil <sup>c</sup> (2000)	0.57	113,9	0,06
Brasil <sup>d</sup> (2001)	0.00341	0.68	18

a-López-Carrillo,1999

b- FAO/WHO (Codex Alimentarius), 1996

c-Mello,2000

d- Este trabalho

### 3.5 - Discussão

Embora os resultados apresentados demonstrem uma evidente contaminação multiresidual da população não exposta ocupacionalmente do Rio de Janeiro e municípios vizinhos, por pesticidas organoclorados, os níveis encontrados estão abaixo dos níveis apontados como pela literatura.

O p,p' DDE aparece em 100% das amostras analisadas, apresentando níveis médios de 580 ng.g<sup>-1</sup>. Dentre os metabólitos do p,p'DDT, o p,p'DDE é o que ocorre com maior frequência na população geral. Isso se deve fundamentalmente à sua baixa taxa de metabolização e ao fato de sua fonte primária de contaminação ser através da alimentação (Stehr-Green, 1989). A **Tabela 13** mostra valores de p,p'DDE em países como México e Uganda, cuja utilização de p,p'DDT ainda é permitida em certos casos: o valor encontrado nesse estudo para o p,p'DDE aproxima-se do valor encontrado no México Trabalhos recentes com mulheres lactentes no Município de Duque de Caxias no Rio de Janeiro demonstram esse dado (Mello, 2000).

A prevalência do p,p'DDE sobre o p,p'DDD e o p,p'DDT sugere, como já descrito (Salch et al., 1996; Çok, et al., 1996; Mello, 2000) uma exposição passada ao DDT, já que o tempo médio necessário à metabolização do p,p'DDT à p,p'DDE é de 12 meses (Matuo et al.,1992). A legislação brasileira proíbe o emprego agropecuário e domossanitário do DDT desde 1998, através da publicação da Portaria nº11 do M.A

Comparando -se os níveis médios de DDE, encontrados no Rio de Janeiro, México e Uganda, estes últimos onde o uso do DDT ainda é permitido, tem-se:

**Tabela 13** : Valores de p,p'DDT em ng.g<sup>-1</sup>

Amostra/país	p,p'DDT(ng.g <sup>-1</sup> )	p,p'DDE(ng.g <sup>-1</sup> )	ΣDDT(ng.g <sup>-1</sup> )
México,1999 <sup>a</sup>	162,0	594,0	895,0
Uganda,1996 <sup>b</sup>	570,0	2350,0	2550,0
Este trabalho, 2001 <sup>c</sup>	23.8	580.2	616,0

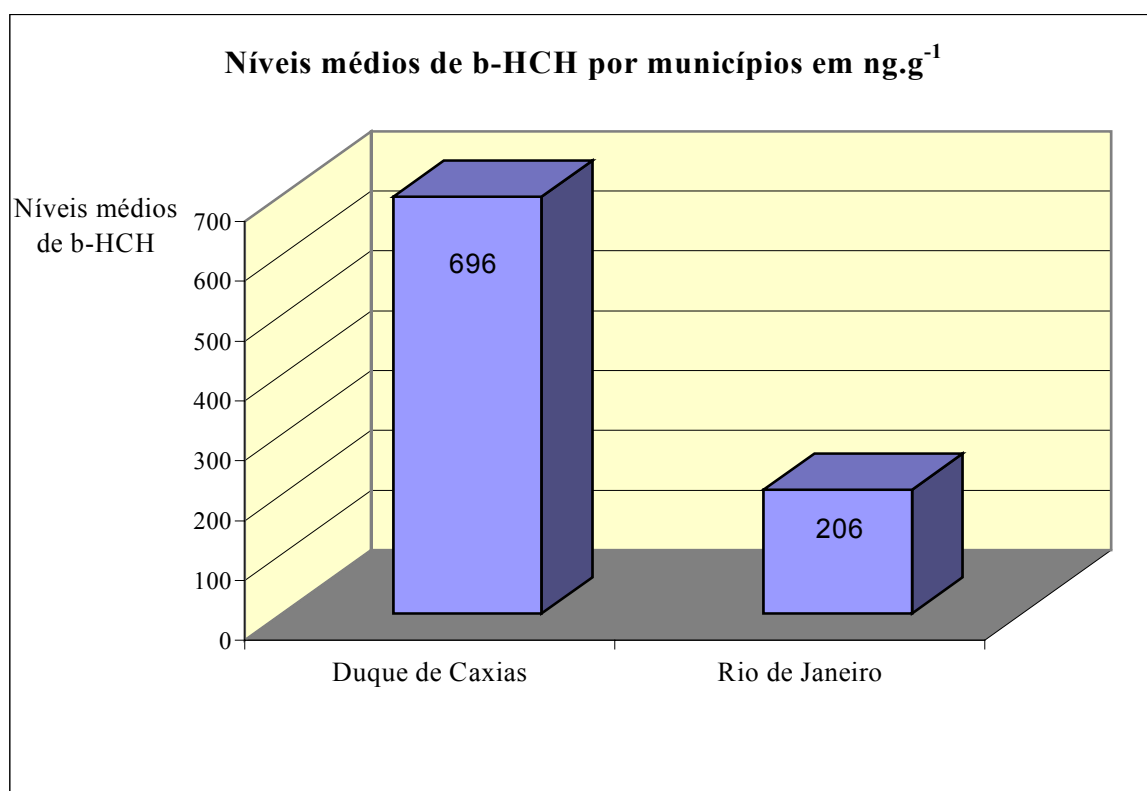
a-Torres-Arreola et al.,1999

b-Ejobi et al, 1996

c-este estudo

O isômero β do HCH, aparece em 84% das amostras, enquanto α-HCH e γ-HCH (lindano), apresentaram respectivamente 54 e 32%. O resultado demonstra coerência em relação à prevalência percentual, já que tanto o α-HCH quanto o γ-HCH transformam-se ao longo do tempo em β-HCH, por ser esse o isômero que possui conformação mais simétrica e conseqüentemente, mais estável (Çok, 1998). Essa é uma das razões da sua alta persistência no meio ambiente, além da baixa taxa de metabolização após ser absorvido (Kinyamu,1998).

Através da observação da **Figura 7**, que mostra os níveis de  $\beta$ -HCH no município do Rio de Janeiro e em Duque de Caxias, pode-se observar que os valores médios em Duque de Caxias são significativamente maiores ( $p=0,05$ ) que os do município do Rio de Janeiro, resultado coerente com a literatura, uma vez que essa região abriga a Cidade dos Meninos, que sofreu e ainda sofre as conseqüências de um importante acidente ambiental, envolvendo a contaminação do solo, dos animais e dos moradores com o "BHC", ou HCH (Mello, 2000).



**Figura 7** : Níveis médios de  $\beta$  - HCH nos municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias.

O valor médio encontrado na Cidade dos meninos para o  $\beta$ -HCH (Mello, 2000), seu isômero mais persistente variou de 314,8 ng.g<sup>-1</sup> a 4274,2 ng.g<sup>-1</sup>, enquanto que o grupo controle (mulheres residentes em Duque de Caxias, porém não na Cidade dos Meninos) apresentou o valor máximo de 213,8 ng.g<sup>-1</sup>. Esse valor é próximo ao valor encontrado nesse estudo no qual as doadoras participantes desse estudo, residentes em Duque de Caxias, apresentaram o valor máximo de 253.26 ng.g<sup>-1</sup> (Mello,2000).

A contaminação multiresidual do leite materno, contou ainda com a presença do inseticida Aldrin em 54% das amostras e do Endossulfan em 78% do total de amostras analisadas.

O aldrin ao ser absorvido é rapidamente metabolizado a dieldrin, seu epóxido mais persistente (Jensen, A.A., 1983 *apud*, Sim & Mc'Neil, 1992), que aparece em 52% das amostras analisadas, portanto níveis biológicos de dieldrin podem indicar uma exposição passada tanto ao aldrin quanto ao próprio dieldrin. A utilização do aldrin como inseticida fito e domossanitário, é proibido segundo a legislação brasileira (Portaria nº 329 do M.A. de 1985), com exceção do uso em iscas formicidas ou como cupinicidas para o emprego em reflorestamentos (Portaria nº 329 do M.A. de 1985 - Parágrafo Único).

O limite máximo de resíduos para produtos lácteos de aldrin é de 0,15 ppm ou 150 ng.g<sup>-1</sup> em gordura (ANVS, 2001). O valor médio de aldrin encontrado em leite materno, nesse estudo foi de 58,6  $\pm$  103,10 ng.g<sup>-1</sup> em gordura. Em países onde a utilização do aldrin foi completamente banida, ele costuma ser utilizado como padrão interno em análises multiresiduais, é o caso do método utilizado por esse estudo, o método de Stevenson, de 1992, onde o aldrin é utilizado como padrão interno. Como no Brasil a proibição do uso do aldrin é parcial, havia uma expectativa de se encontrar resíduos na população, razão pela qual o aldrin foi substituído no presente estudo pelo DCN (1,2 dicloronaftaleno), um organoclorado que não possui propriedades inseticidas, mas fornece uma resposta semelhante aos organoclorados estudados devido as suas características químicas.

O endossulfan encontrado em 78% das amostras, encontra-se no mesmo caso do aldrin, seu uso e comercialização foi proibido em 1985, pela Portaria nº 329 do M.A., entretanto como exceção, seu uso emergencial na agricultura, à critério da Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária - SNDA, pode ser responsável por sua elevada prevalência na população. Sua utilização se deu principalmente nas lavouras de algodão, cacau, soja, cana-de-açúcar e café. Os limites máximos de resíduos de endossulfan (incluindo a soma do sulfato de endossulfan, o endossulfan 1 e 2, ou A e B).são:

<b>Limite máximo de resíduos</b>	<b>intervalo de segurança (em dias)</b>
Algodão.....1,0 ppm	30 dias;
Cacau.....0,01 ppm	30 dias;
Café (grão)..... 0,04 ppm	70 dias;
Soja..... 1,0 ppm	30 dias;
Cana-de-açúcar.....0,01 ppm	(*)

**Fonte: ANVS, 2001**

(\*) limite de segurança não determinado por referir-se ao tratamento do solo durante o plantio.

Os níveis máximos de endossulfan 1 ou A e 2 ou B encontrados foram: 943,5  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  e 101,49  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ , respectivamente e os níveis médios foram de  $121,7 \pm 181,37 \mu\text{g.kg}^{-1}$  para o endossulfan 1 e de  $54,3 \pm 30,3 \mu\text{g.kg}^{-1}$  por g de gordura. O endossulfan é considerado de persistência MÉDIA no meio ambiente. (ANVS, 2001). É importante deixar claro que em muitos casos a literatura não deixa claro os valores limites para leite humano, o que torna difícil um diálogo mais profundo com a biossegurança, sobre os valores que poderiam ser considerados seguro.

### **Estudo das Correlações dos níveis de p,p'DDE com variáveis reprodutivas**

Estudos demonstram que, embora mais fracos que o seu metabólito o,p' DDT, o p,p'DDT e seu metabólito p,p'DDE são também estrogênicos, ou seja, são capazes de mimetizar os efeitos dos hormônios estrogênicos (Stehr-Green,1989 *apud* Longnecker, 1997). Entretanto, apesar de estrogênicos, os estudos de correlação dos níveis de DDT e DDE e efeitos reprodutivos têm-se mostrado inconclusivos (Longnecker, 1997).

Nesse estudo, foram correlacionadas algumas variáveis reprodutivas com os níveis de p,p'DDE, variáveis como: número de filhos (paridade), tempo total de amamentação, idade materna, tempo total de amamentação do primeiro bebê, para todas as mães, e peso do bebê.

Embora não significativo, o valor negativo para o coeficiente de correlação entre o tempo total de amamentação e os níveis de p,p' DDE, mostra que quanto maior os níveis de DDE, menor o tempo de amamentação, ou seja, mulheres cujos níveis de p,p' DDE apresentaram-se mais elevados amamentavam seus filhos por um tempo menor. A literatura confirma esses resultados. Em estudo com mulheres lactentes que amamentavam pela primeira vez, observou-se uma diminuição de 0,9 semanas para cada 1,0 ppm por g de gordura de p,p'DDE, com uma associação similar para subsequentes lactações (Rogan et al.,1987).

No México, mulheres fortemente expostas ao DDT também mostraram uma correlação negativa entre tempo de amamentação e níveis de p,p'DDE, isso para múltíparas, o estudo com primíparas, entretanto se mostrou inconclusivo (Gladen, & Rogan, 1995).

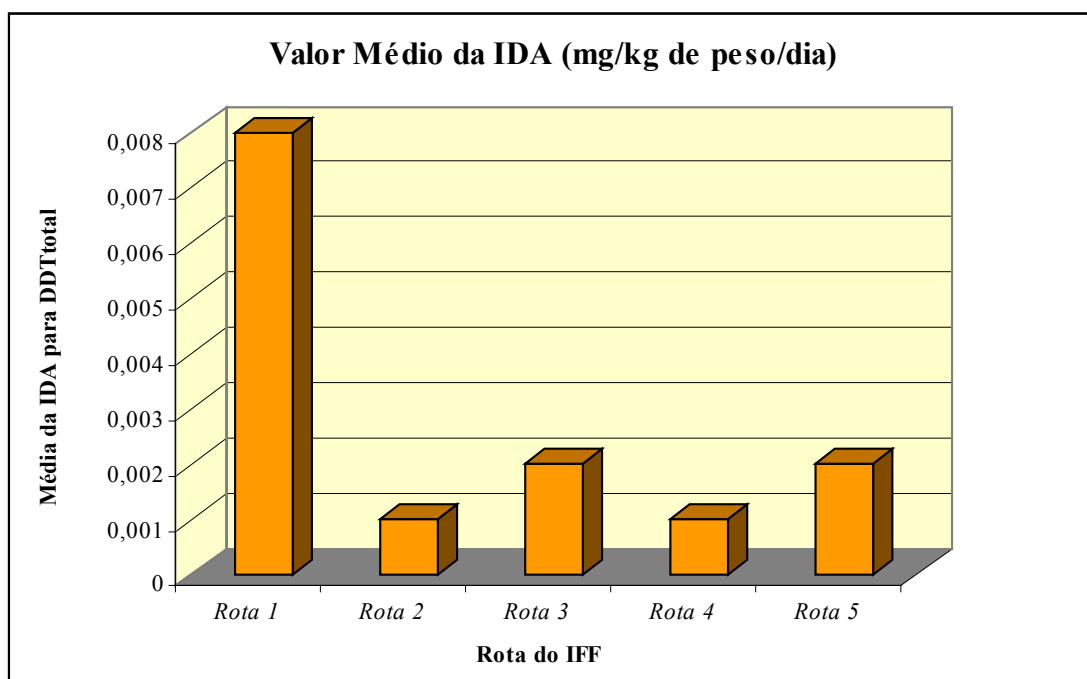
Em recente estudo também no México, Torres-Arreola e col., em 1999 encontraram uma correlação negativa entre tempo de amamentação e níveis de p,p' DDE e p,p'DDT. Para a idade materna, observa-se uma correlação com os níveis de p,p' DDE quando se controla pela variável tempo total de amamentação das primíparas, retirando sua influência sobre os níveis de p,p' DDE. A tendência dos níveis de p,p' DDE aumenta em função da idade o que é confirmado em trabalhos anteriores como em Yakujishi, 1978 e Paungarten, 2000.

Para as demais variáveis não foram encontradas correlações, ou foram inconclusivas, entretanto o valor de **p** para algumas das variáveis como por exemplo a idade materna, demonstra que há uma tendência a correlação entre os níveis de p,p'DDE e idade materna, quando se controla a variável paridade, retirando sua influência da análise. Uma possível causa para isso seja o N amostral, que talvez não seja suficiente para mostrar essa correlação.

O cálculo da IDA (ingestão diária aceitável) para o  $\Sigma$ DDT (p,p'DDT + p,p'DDE + p,p'DDD) considerando a concentração média de DDT e a ingestão diária de leite de 125g de leite/ kg de peso corpóreo/dia (Torres-Arreola,1999) foi de **0,00391mg/kg de peso/ dia**. A **Tabela 8** mostra os valores da IDA para a FAO/WHO, (*Codex Alimentarius Comission*) é de 0,005 mg/kg de peso/ dia . Portanto o valor encontrado é 0,78 vezes

menor que o valor aceitável, ou seja, em média a contribuição do leite materno para a ingestão diária de DDT não ultrapassa o valor recomendado.

Calculando-se a IDA para o valor máximo do DDT o valor encontrado foi de 0,0366 mg/kg de peso/dia, o que corresponde a um valor 7,2 vezes maior que a IDA recomendada (FAO/WHO). Embora a IDA média observada para o somatório de DDT represente 68% da IDA recomendada, 18% das doadoras participantes do estudo, que corresponde dentro do universo de doadoras do BLH do IFF (aproximadamente 900 doadoras), cerca de 1% das doadoras, possuem o valor da IDA calculada para suas respectivas concentrações de DDT acima da IDA recomendada pelo *Codex Alimentarius* (FAO/WHO). A **Figura 8** mostra a distribuição do valor da IDA média pelas rotas domiciliares. Pode-se observar claramente que as maiores médias encontram-se na Rota 1, onde provavelmente encontram-se as 9 doadoras participantes do estudo (1% das doadoras do IFF).



**Figura 8:** IDA média do  $\Sigma$  DDT por rota do IFF.

A comparação entre os valores médios da IDA por Rota (Tabela 13) mostrou que a Rota 1, que abrange os bairros da Zona Sul, possui valores significativamente maiores ( $p=0,005$ ) que as demais rotas do IFF.

## Capítulo IV - Conclusão

---

As amostras de leite humano provenientes das doadoras domiciliares do Banco de Leite Humano do Instituto Fernandes Figueira (IFF/FIOCRUZ) apresentaram evidente contaminação multiresidual por pesticidas organoclorados, embora os valores encontrados para a maior parte dos compostos, estejam abaixo do descrito pela literatura como limites aceitáveis. O p,p' DDE foi encontrado em 100% das amostras analisadas, o que sugere uma exposição passada ao p,p'DDE, já que este é o seu metabólito mais estável.

Dentre os isômeros do HCH o que obteve maior prevalência foi o  $\beta$  - HCH (84%) das amostras analisadas, e semelhante ao DDE o  $\beta$  - HCH é o isômero mais persistente do HCH. Foi observada ainda contaminação residual para o  $\alpha$ - HCH e o  $\gamma$ - HCH. As amostras provenientes de Duque de Caxias mostraram níveis significativamente mais elevados que as provenientes de outras localidades, esses valores podem estar ligados à contaminação por HCH, ocorrida na Cidade dos Meninos, situada em Duque de Caxias na década de 60, observando-se que esta exposição vem se disseminando ao longo dos anos nessa região.

As amostras de leite ainda apresentaram contaminação residual de Endossulfan 1 e 2, Aldrin, Dieldrin,  $\gamma$  -clordano, Metoxicloro e Mirex. Essa contaminação pode ser devida ao uso restrito mas não proibido dessas substâncias no Brasil até 1998, quando a Portaria nº11 do Ministério da Agricultura proibiu o uso em definitivo desses compostos, inclusive, do DDT, que ainda era utilizado em caráter emergencial no combate de vetores em campanhas de Saúde Pública.

Há uma tendência da carga de p,p' DDE aumentar em função da idade materna o que foi observado através da correlação positiva significativa com o p,p'DDE no leite materno e a idade das mães controlando-se essa associação pelo tempo de amamentação, uma variável que influencia esses níveis.

A IDA foi calculada para o  $\Sigma$ DDT já que o DDT e seus metabólitos foram os que apresentaram maiores níveis médios e maior prevalência no total das amostras. O que se



observa é que 18% das doadoras participantes do estudo, possuem valores para IDA acima do valor recomendado pelo *Codex Alimentarius*. para o  $\Sigma$ DDT No universo das doadoras do Banco de Leite do IFF (aproximadamente 900 mulheres), esse percentual representa 1% das doadoras, e embora seja um percentual baixo não se pode dizer que inexistam riscos à saúde, uma vez que o quadro apresentado pelas doadoras do IFF pode ser um reflexo do quadro da população não -exposta de todo o município. Entretanto é necessário ressaltar os benefícios incontestáveis da amamentação para o bebê do ponto de vista nutricional, imunológico, psicológico e na promoção geral da saúde. Apesar dos possíveis danos causados pela exposição aos pesticidas, são muitos os benefícios apresentados com o incentivo ao aleitamento materno nos últimos anos no Brasil, como o decréscimo na taxa de doenças infecciosas e o aumento da taxa de crescimento e desenvolvimento infantil. Portanto qualquer atitude em relação ao desaconselhamento à amamentação tem que ser avaliada considerando-se o risco/ benefício e os múltiplos fatores envolvidos no processo de aleitamento.

Uma vez que o leite materno processado no Banco de Leite do IFF passa pelo processo de pasteurização sugere-se como continuação futura desse trabalho a avaliação do leite após o processo de pasteurização para que possam ser comparadas aos níveis atuais observando as possíveis perdas dessas substâncias durante o processo e conseqüentemente os benefícios.

## Referências Bibliográficas

---

BORTOLETTO, M. E. (1993) Tóxicos, Civilização e Saúde. Contribuição à Análise de Sistemas de Informações Tóxico-Farmacológicas no Brasil. Série Política de Saúde nº12 Ed. CICT, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil;

BURTON, M.A.S., & BENNETT, B. G., 1987. Chlorinated Pesticides *In: Science Total Environmental*; 45: (3)

CASEY, C.E., et al., Nutritional aspects of human lactation. In: Neville M.C., Neifert, M.R. eds, Lactation: Lactation: physiology, nutrition and breast-feeding . New York: Plenum Press, 1983: 199-248;

CHASIN, A.A. M.; CHASI. & SALVADORI, M. C., 1994. Validação de métodos cromatográficos em análise toxicológicas. *Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo* , 30 (2): 49-53

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 1996. *Codex Alimentarius v.2B. Pesticide Residues in food - Maximum residue limits*, 2ed. Ver. Rome : FAO/WHO. 301 pp.;

ÇOK, I., 1997. Organochlorine pesticide residues in human breast milk from agricultural regions of Turkey. In.: *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* . Springer- Verlag New York Inc.,59: 577-582;

CONACHER, H. B. S. ,1990. Validation of methods used in crisis situation task force report. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 73 (2): 332 - 324;

COTHAM, W.E., BIDLEMAN, T.F., 1991. *Chemosphere*, 22: 165;

- ECOBICHON, D.J. (1991) Toxic Effects of Pesticides. In Casarett & Doull's . Toxicology (Ambur, M.O., Doull, J.& Klassen, C.D., eds.) 4° ed., p 565,573-574, Pergamon Press, New York;
- EYSTER, J.T., Humphrey,H.E.B., (Kimbrough, R.D., (1983). Partitioning of polybrominated biphenyls (PBB's) in serum, adipose tissue, brest milk, placenta, cord blood, biliary fluid and feces. *Arch Environ Health*. 38: 47-53;
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación), 1986. Codigo Internacional de conducta para la destribuición y utilización de plaguicidas. Roma: FAO. 31pp.;
- FRIBERG, L.T., (1985) The rationale of biologic monitoring of chemicals - with special reference to metals. In: *Am. Ind, Hyg. Assoc. J.*,46: 633-42;
- FOGLIANO, R.R.F., 1998. Estudo Microbiológico do lite crue congelado. Dissertação para a obtenção do título de mestre na Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina. São Paulo s.n 2000. 103p.;
- GALLENBERG, L.A., VODIENIK, M.J., (1989). Transfer of persistent chemical in milk: In: *Drug Metab Rev* 1989, 21: 277-317;
- GEYER, H., Sheunert I., Korte, F., (1986) Bioconcentration potencial of organic environmental chemicals in humans. In: *Regul Toxicol Pharmacol*, 6: 313-47;
- GLADEN, B.C., ROGAN, W.J., (1995). DDE and the shortend duration of lactation in a northern Mexican town. *Am.J. Public Health* 85: 504-8;
- GREEN, J.M., 1996. A pratical guide to analytical method validation. *Analytical Chemistry*, 68: 305 A - 309A.;
- HAYES, W.J., LAWS, E.R., Chlorinated hydrocarbon inceticides. In.: *Handbook of Pesticide Toxicology*. Vol.: 2 - 752;

- JACOBSON, J.L.; JACOBSOB, S.W. & HUMPHREY, H.E.B. (1990) Effects of Exposure to PCB's and Related Compound on Growth and Activity in Children. *Neurotoxicol. Teratol.*,12, 319-326;
- JENSEN, A.A., SLORACH, S. A., (1990). Chemical contaminants in human milk. Boca Raton, Fl: CRC Press;
- KLAASSEN, C.D. & ROZMAN, K., 1991 Absortion, distribution and excretion of toxicants. In: Casarrett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons. (M. O.Amdur, J.Doull & C.D. Klaassen, eds.) 4 ed. Pp 50-87, New York: Mc'Graw-Hill;
- LARA, W.H.; BARRETO, H.H.C & INOMATA, O. N. K.(1982) Resíduos de pesticidas Organoclorados em Leite Humano, São Paulo, Brasil, (1979 - 81) *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 42, 45-52;
- LEBLANC, G. A, 1995. Trophic-level differences in the bioconcentration of chemicals: implications in assessing environmental biomagnificatiom. In: *Environ. Sci. Technol* 28: 154-160;
- LIMA, S.M.B., 1998. Estudo comparativo da composição bioquímica do leite humano maduro no início e no final da mamada.Fortaleza: s.n; 37p.;
- LOPEZ-CARRILLO, L. ,1999. Levels of dichloro- dyphenil- trichloroethane (DDT). Metabolites in maternal milk and their determinant factors. In.: *Archives of Environmental Health* 54(2)124-128.
- LONGNECKER, M.P.; Rogan, W.J.; Lucier, G. (1997) The Human Effects of DDT and PCB's and an Overview of Organochlorines in Public Health. *Annu. Rev. Public Health*, 1997. 18: 211- 44;
- MATUO, Y. K. (1987) Níveis de Praguicidas Organoclorados no Leite Humano (colostro) da Região de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto, Escola de Enfermagem - USP, 189 Projeto. de Tese de Doutorado;

- MATUO, Y.K.; LOPES, J.N.C. ; CASANOVA, I. C.; MATUO, T & LOPES, J. L. C. (1992). Organochlorine Pesticide residues in Human Milk in the Ribeirão Preto Region, State of São Paulo, Brazil. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 22,167-175;
- MELLO, J.L., Avaliação da contaminação por HCH e DDT, dos leites de vaca e humano, provenientes da Cidade dos Meninos, Duque de Caxias - RJ / Tese de Mestrado, 2000- Escola Nacional de Saúde Pública;
- METCALF, R. L.,1955. Benzene hexachloride . In: *Organic inseticides : Their Chemistry and mode of action* (R.L. Metcalf), pp. 213 - 231, New York: Interscience Publishers;
- MILLER, J.C. & MILLER J. N., 1988. Basic statistical methods for analytical chemistry. Part I . Statistics of repeated measuraments. A reviw. *Analyst.* 113-: 1351 - 1356;
- MORAES, O. M. G., 1998. Validação da metodologia analítica. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE CONTAMINANTES INORGÂNICOS, 6, SIMPÓSIO SOBRE ESSENCIALIDADE DE ELEMENTOS NA NUTRIÇÃO HUMANA, pp. 42-50. Campinas: ITAL.
- MUELLER, W.H., WEAR, M.L., HANIS, C.L., et al. Which measure of body fat distribution is best for epidemiologic research? In: *Am J Epidemiol.* 133: 858-69;
- PARKE, D. V., 1981. Preface. In: International regulatory aspects for pesticides chemicals. (G. Vettirazzi & B. M. Radelli - Benvenuti), v.!, Boca Raton: CRC Press Incorporated;
- PICÓ, Y.; MOLTÓ, J.C.; MAÑES, J. & FONT, G. , 1994. Solid phase techniques in the extraction of pesticides and related compounds form foods and soils. *Journal of Microcolumn Separations*, 6: 331-359;

- QUINCEY, P.M.; DONOHUE, D.C & AHOKAS, J. T., 1995. Persistence of organochlorines in breast milk of women in Victoria, Australia. In: *Food and Chemical Toxicology*, 33(1) : 49-56;
- RICHARDSON, M. L. ; GONGOLLI, S., The dictionary of substances and their effects - *The Royal Society of Chemistry*. vol. 2, 4 e 6
- RITTER, L.; SOLOMON, K.R.; FORGET, J. STEMEROFF, M & O'LEARY, C. (1995). A Review of Selected Persistent Organic Pollutants. Draft Interim Report: International Program on Chemical Safety, WHO, Geneva, Switzerland;
- ROGAN, W.J., GLADEN, B.C.,Mc KINNEY, J.D., CARRERAS, N., HARDY, P., et al., (1987) Polychlorinated biphenyls (PCB's) and dichlorodiphenyl dichloroethylene (DDE) in human milk: effects on growth, morbidity and duration of lactation. *Am. J. Public Health* 77: 1294-97;
- SANT'ANA, L.S (1988). Níveis de Inseticidas Organoclorados no leite das mães residentes nas zonas: urbana e rural, do município de Botucatu, S.P. Belo Horizonte, Faculdade de Farmácia, UFMG, 118p. Dissertação do Mestrado;
- SNVS (Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária). Portaria nº 10/85 - SNVS - MS, de 08 de março de 1985 - Diário Oficial da União;
- SNVS (Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária). Portaria nº 329/85 - SNVS - MS, de 02 de setembro de 1985 - Diário Oficial da União;
- SHATTENBERG, H. J. & HSU, J.P., 1992. Pesticides residue survey of produce from 1989 to 1991. *Journal of AOAC International*, 75(5): 925-933;
- SIM, M. R & MC'NEIL, J.J (1992). Monitoring Chemical exposure using breast milk. A methodological review. *Am. J. Epidem.*, 136, 1- 11;

- STEVENSON, D. (1991). Rapid method for determination of organochlorine pesticides in milk. *J. of Chromatography*, 552 (1991) 249 – 257;
- SKALSKY, H.L., GUTHRIE, F. E., (1978) Binding of insecticides to human serum proteins. *Toxicol Appl Pharmacol*, 43: 229-35;
- TURNBULL, Alan (1997). Chlorinated Organic Micropollutents *Issues in Environmental Science and Technology*
- WILSON, J.T., BROWN, R.D., CHEREK. D.R., et al., Drug Excretion in human breast milk: principles pharmacokinetics and projected consequences. *Clin Pharmacokinet*, 1980, 5: 1-66;
- WHO (World Health Organization, 1989. *DDT and its Derivatives - environmental aspects*. Geneva: WHO. 98pp. (Environmental Health Criteria 83);
- WHO (World Health Organization, 1989. *Public Health impact of pesticides used in agriculture*. WHO. 128pp.;
- WOODRUFF, T. ; WOLFF, M.S.; DAVIS, D. L & HAYWARD, D. (1994). Organochlorine exposure estimation in the study of cancer etiology. *Environ. Res.*, 65, 132-144;
- YAKUSHIJI, T., WATANABE, I., KUWABARA, K., et al.(1978). Long-term studies of excretion of polychlorinated biphenyls (PCB's) through the mother's milk of na occupationally exposed worker. In: *Arch Environ Comtan Toxicol* .7: 493-504;
- ZANDONÁ, M.S & ZÁPIA, U.R.S (1993). Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos: Resultado de cinco anos de monitoramento realizado pela Secretaria de Saúde do Paraná. *Pesticidas R. Tec. Cient.*, 3, 4, 95.





## Anexo I

### TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS INFORMAÇÃO

**INSTITUIÇÕES:** Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana - ENSP / FIOCRUZ  
Instituto Fernandes Figueira (IFF) / FIOCRUZ

**TÍTULO DO PROJETO:** Avaliação da Contaminação do Leite Materno por Pesticidas Organoclorados Persistentes em Mulheres Doadoras do Banco de Leite do Instituto Fernandes Figueira.

**INVESTIGADORES (PESQUISADORES) :** Sueli Alexandra de Mesquita (aluna de mestrado), Ana Cristina Simões Pereira (Lab. de Toxicologia / CESTEHE), Josino Costa Moreira (orientador) e Paula de Novaes Sarcinelli , (co-orientadora).

**NOME DO VOLUNTÁRIO:** \_\_\_\_\_

Como voluntária, a Sra. está sendo solicitada a participar de uma investigação científica, patrocinada pela **Fundação Oswaldo Cruz com o objetivo de determinar a quantidade de pesticidas organoclorados presentes no seu organismo, através da análise do leite materno, uma das principais vias pela qual o organismo libera essas substâncias.** A pesquisa será feita por Sueli de Mesquita, sob a coordenação de Paula de Novaes Sarcinelli do Lab. de Toxicologia do CESTEHE/ENSP.

Este documento procura fornecer a Sra informações sobre o problema de saúde em estudo e a experiência que será realizada, detalhando os procedimentos e exames, benefícios, inconvenientes e riscos potenciais. A sra. poderá recusar-se a participar da pesquisa ou, mesmo, dela se afastar em qualquer tempo, sem que este fato lhe venha a causar qualquer constrangimento ou penalidade por parte da instituição. Os pesquisadores se comprometem a não revelar sua identidade em qualquer publicação resultante desse estudo, assim como poderão interromper a participação da sra. a qualquer momento, por razões técnico-médicas quando então, lhe serão oferecidos aconselhamento e orientação. Os exames e procedimentos aplicados são gratuitos.

Antes de se assinar este **Termo** a sr<sup>a</sup>. deve sentir-se plenamente a vontade em pedir esclarecimentos sob algum item ou aspecto que ainda lhe cause dúvida.

## **1. Objetivos da Investigação:**

Os pesticidas organoclorados têm sido usados no combate a certas pragas da lavoura e no tratamento da madeira contra cupins. Essas substâncias quando usadas na lavoura contaminam os alimentos, ao ingerir esses alimentos, os organoclorados neles presentes podem se acumular no organismo, no tecido gorduroso por muitos anos, e serem liberados no leite materno durante a amamentação.

## **2. Procedimentos de Coleta:**

As amostras de leite para a pesquisa serão coletadas manualmente no momento da doação para o Banco de Leite do Instituto Fernandes Figueira, e a quantidade é em torno de 20 ml (duas colheres de sopa), em frascos de vidro limpos e esterilizados.

## **3. Benefícios:**

Os testes feitos neste estudo podem indicar níveis de contaminação da mãe, e do bebê por essas substâncias, através da dosagem do leite materno. Não existem benefícios aparentes para você participar, entretanto os resultados deste estudo poderão nos ajudar a conhecer melhor os perigos das exposições ambientais e aprender como evitá-las da melhor maneira possível.

## **4. Inconvenientes:**

Uma vez que a coleta é muito simples, realizada pela própria mãe, que no ato da doação para o banco de leite receberá também um pequeno frasco onde ela mesma coletará o leite, não existe nenhum inconveniente.

## **5. Riscos potenciais conhecidos até os dias atuais:**

Não existe nenhum caso relatado sobre risco relacionado a coleta de leite materno, uma vez que a coleta das amostras são feitas durante a coleta de doação para o banco.

Rio de Janeiro, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2000

---

Voluntário

---

Sueli Alexandra de Mesquita  
(pesquisador responsável)



