

Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA  
SERGIO AROUCA  
ENSP

***“Níveis de trans, trans-mucônico na urina como biomarcador de  
exposição ao benzeno e alterações hematológicas na população do bairro  
Piquiá de Cima, Açailândia - MA”***

*por*

***Eliane Cardoso Araújo***

*Dissertação apresentada com vistas à obtenção do título de Mestre em  
Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente.*

*Orientadora: Prof.ª Dr.ª Carmen Freire Warden*

Rio de Janeiro, outubro de 2015.

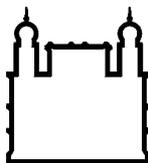
Catálogo na fonte  
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica  
Biblioteca de Saúde Pública

A663n Araújo, Eliane Cardoso  
Níveis de trans, trans-mucônico na urina como biomarcador de exposição ao benzeno e alterações hematológicas na população do bairro Piquiá de Cima, Açailândia-MA. / Eliane Cardoso Araújo. -- 2015.  
89 f. : il. ; tab. ; mapas

Orientador: Carmen Freire Warden  
Dissertação (Mestrado) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2015.

1. Benzeno - análise. 2. Benzeno – toxicidade. 3. Ácidos - urina. 4. Exposição Ambiental. 5. Biomarcadores Farmacológicos. 6. Análise Química do Sangue. I. Título.

CDD – 22.ed. – 615.9511



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA  
SERGIO AROUCA  
ENSP

*Esta dissertação, intitulada*

***“Níveis de trans, trans-mucônico na urina como biomarcador de exposição ao benzeno e alterações hematológicas na população do bairro Piquiá de Cima, Açailândia - MA”***

*apresentada por*

***Eliane Cardoso Araújo***

*foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:*

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Valéria Saraceni

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosalina Jorge Koifman

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carmen Freire Warden – Orientadora

*Dissertação defendida e aprovada em 06 de outubro de 2015.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Professora Carmen Freire Warden pelas palavras de incentivo e pelo apoio ao longo de toda a trajetória para a execução deste estudo.

Ao professor Sérgio Koifman *in memoriam*, por ter sido um visionário e nos trazer um pouco da Fiocruz para o Maranhão.

Aos meus filhos queridos pela paciência para suportar a ausência de sua mãe durante tantos meses.

Aos meus queridos professores do Programa de Saúde Pública e Meio Ambiente da ENSP/ Fiocruz, pelas aulas maravilhosas, pela disponibilidade de atender as dúvidas frequentes e pelo carinho e acolhida durante os estudos.

Aos meus pais e familiares que estiveram sempre comigo nas horas de angústia, sempre com uma palavra de carinho e alento.

A meu sobrinho Abel Ferreira Melo Neto, pela ajuda na revisão de textos, na formatação do trabalho, posso dizer que tenho em você um ombro amigo para horas difíceis.

Ao meu querido irmão Carlos Costa Cardoso, por ter participado do processo de coleta de dados na comunidade do Piquiá de Cima.

A enfermeira Daniele pela acolhida e pelo apoio durante o recrutamento dos moradores.

As agentes de saúde do Posto do Piquiá pela companhia durante as visitas aos moradores do Bairro.

Eis que é chegada a hora de colher os frutos de tão fervorosa batalha, foi maravilhoso cada momento ao lado de todas vocês.

Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. “Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes” (Marthin Luther King).

## RESUMO

**Introdução:** O benzeno é um composto orgânico volátil, cancerígeno para o ser humano, associado com alterações hematológicas e risco de desenvolvimento de leucemia. Os veículos automotores constituem a principal fonte de emissão de benzeno no meio ambiente. Por conta de seus efeitos adversos à saúde e por ser um poluente amplamente distribuído em áreas urbanizadas, muitos estudos têm sido realizados nas últimas décadas visando o biomonitoramento da exposição ao benzeno em trabalhadores, a maioria deles quantificando a concentração de metabólitos deste composto na urina. Entre eles, destaca-se o ácido *trans-trans* mucônico (*t,t*-MA), que tem mostrado boa correlação com a exposição a baixas concentrações de benzeno no ar. Estudos que avaliem a exposição ao benzeno em população geral ou sem exposição ocupacional ao benzeno são escassos. **Objetivo:** A presente pesquisa visa determinar os níveis de ácido *t,t*-MA na urina, sua relação com potenciais fontes de exposição ao benzeno e possível associação com parâmetros hematológicos em população adulta do bairro Piquiá de Cima, no município de Açailândia-MA, localizado às margens da BR 222, com intenso fluxo de veículos, e afetado pela poluição do polo siderúrgico. **Metodologia:** Foi realizado um estudo observacional do tipo seccional, numa amostra de conveniência de 150 moradores adultos ( $\geq 18$  anos), residentes no Bairro há pelo menos 1 ano. Por meio de questionário foram coletadas informações sociodemográficas, de ocupação, tabagismo, consumo de álcool, exposição a solventes orgânicos, entre outras. Foram coletadas amostras de urina e sangue para determinação dos níveis de *t,t*-MA e realização de hemograma completo. A concentração urinária do ácido foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Foram empregados testes paramétricos e não paramétricos (chi-quadrado, comparação de médias, correlação, entre outros) para realização das análises bivariadas. A magnitude de associação entre o *t,t*-MA e fatores de exposição ao benzeno, e entre o biomarcador e a presença de alterações hematológicas, foi determinada mediante regressão logística e linear múltipla. **Resultados:** A frequência de detecção de *t,t*-MA foi de 27%, e apenas 3% apresentou níveis acima de 0,5 mg/g. A média dos níveis detectados foi de 0,15 mg/g creatinina. As alterações hematológicas mais frequentes foram bastonetes baixos (41%), eosinofilia (33%) e níveis reduzidos de hemoglobina (19%). Não foi encontrada correlação estatisticamente significativa entre os níveis detectados de *t,t*-MA e os parâmetros do hemograma. Os fatores que influenciaram de forma significativa a

excreção de *t,t*-MA foram cor da pele, prática regular de atividades de lazer com exposição a solventes orgânicos e consumo de refrigerante e refresco nas últimas 24 horas. Foi encontrada uma associação negativa entre presença de *t,t*-MA na urina e hemoglobina corpuscular média (HCM) (coeficiente de regressão,  $\beta = -0,65$ , IC95% = -1,26; -0,03) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) ( $\beta = -0,87$ , IC95% = -1,15; -0,58), independentemente da idade, sexo e cor da pele. Não foram encontradas associações estatisticamente significativas entre as alterações hematológicas e presença do metabólito na urina. **Conclusão:** A população adulta residente no bairro Piquiá de Cima, em Açailândia-MA parece não estar exposta a concentrações elevadas de benzeno, como sugerem os valores do biomarcador *t,t*-MA encontrados na urina. No entanto, o perfil hematológico dos participantes revelou a presença de alterações compatíveis com anemia e comprometimento imunológico.

**Palavras-chave:** benzeno; ácido *trans*, *trans*-mucônico; alterações hematológicas; Piquiá.

## ABSTRACT

**Introduction:** Benzene is a volatile organic compound carcinogenic to humans associated with hematological disorders and risk of developing leukemia. Automotive vehicles are a major source of the benzene emissions to the environment. Because of their adverse health effects and to be a widely distributed pollutant in urban areas, many studies have been conducted in the last decades aimed at biomonitoring of exposure to benzene workers, most of them quantifying the concentration of metabolites of this compound in urine. Among them, there is the *trans, trans* muconic acid (*t,t*-MA), which has shown good correlation with exposure to low concentrations of benzene in the air. Studies assessing benzene exposure in the general population or without occupational exposure to benzene are scarce. **Objective:** This study aims to determine the levels of acid *t,t*-MA in the urine, its relationship to potential sources of benzene exposure and association with hematological parameters in adult population of Piquiá de Cima neighborhood in the city of Açailândia-MA, located along the BR 222, with heavy flow of vehicles, and affected by pollution from the steel pole. **Methods:** An observational study of sectional type was conducted on a convenience sample of 150 adult residents ( $\geq 18$  years) living in the neighborhood for at least 1 year. A questionnaire as used to collect information on sociodemographics, occupation, smoking, alcohol consumption, exposure to organic solvents, among others. Urine and blood were collected to determine levels of *t,t*-MA and complete blood count. Urinary acid concentration was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Parametric and non-parametric tests were used (chi-square, mean comparison, correlation, etc.) to perform the bivariate analyses. The magnitude of association between *t,t*-MA and benzene exposure factors, and between the biomarker and the presence of hematological disorders was determined by logistic regression and multiple linear. **Results:** The detection frequency of *t,t*-MA was 27%, with only 3% had levels higher than 0.5 mg/g. The detected average level was 0.15 mg/g creatinine. The most common hematologic alterations were lowered bastonet count (41%), reduced eosinophils (33%) and reduced hemoglobin (19%). There was no statistically significant correlation between the detected levels of *t,t*-MA and the hematological parameters. The factors that influenced significantly the excretion of *t,t*-MA were skin color, regular practice of leisure activities with exposure to organic solvents and soda consumption and refreshment in the past 24 hours. It found a negative association between the presence of *t,t*-MA in the

urine and mean corpuscular hemoglobin (MCH) (regression coefficient  $\beta = -0.65$ ; 95%CI= -1.26, -0.03) and concentration mean corpuscular hemoglobin (MCHC) ( $\beta = -0.87$ ; 95%CI= -1.15, -0.58), regardless of age, sex and skin color. No significant associations were found between the hematological disorders and presence of the metabolite in urine. **Conclusion:** The adult population in Piquiá de Cima district of Açailândia-MA does not seem to be exposed to high concentrations of benzene, as suggested by the values of the biomarker *t,t*-MA found in urine.

**Keywords:** benzene; *trans, trans*-muconic acid; hematological alterations; Piquiá.

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Resumo dos estudos que avaliaram a exposição ao benzeno por meio do ácido <i>trans, trans</i> -mucônico urinário e fatores associados.....	28
<b>Quadro 2.</b> Resumo dos estudos que avaliaram a exposição ao benzeno por meio do <i>trans, trans</i> -mucônico urinário e associação com alterações hematológicas .....	34
<b>Quadro 3.</b> Valores de referência do hemograma para adultos (>18 anos) .....	43

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Características da população de estudo, Piquiá de Cima, Açailândia-MA (N=150) .....	46
<b>Tabela 2.</b> Tabagismo e consumo de bebida alcoólica .....	48
<b>Tabela 3.</b> Exposição a solventes orgânicos.....	49
<b>Tabela 4.</b> Consumo de alimentos industrializados nas últimas 24 horas.....	49
<b>Tabela 5.</b> Distribuição dos níveis urinários de ácido <i>trans</i> , <i>trans</i> -mucônico .....	51
<b>Tabela 6.</b> Estatística descritiva dos parâmetros do hemograma .....	51
<b>Tabela 7.</b> Frequência de alterações hematológicas.....	52
<b>Tabela 8.</b> Distribuição de frequência (%) dos níveis urinários de ácido <i>trans</i> , <i>trans</i> -mucônico em função das características sociodemográficas da população .....	53
<b>Tabela 9.</b> Distribuição de frequência (%) dos níveis urinários de ácido <i>trans</i> , <i>trans</i> -mucônico em função do hábito de fumar e o consumo de bebida alcoólica .....	54
<b>Tabela 10.</b> Distribuição de frequência (%) dos níveis urinários de ácido <i>trans</i> , <i>trans</i> -mucônico em função da exposição a solventes orgânicos.....	55
<b>Tabela 11.</b> Níveis de urinários de ácido <i>trans</i> , <i>trans</i> -mucônico e consumo de alimentos industrializados.....	56
<b>Tabela 12.</b> Frequência de alterações hematológicas (%) em função das características sociodemográficas da população .....	59
<b>Tabela 13.</b> Correlação entre os níveis de ácido <i>trans</i> , <i>trans</i> -mucônico e os parâmetros do hemograma .....	61
<b>Tabela 14.</b> Valores médios dos parâmetros hematológicos em função dos níveis de <i>trans</i> , <i>trans</i> -mucônico na urina.....	62
<b>Tabela 15.</b> Fatores associados ao nível de ácido <i>trans</i> , <i>trans</i> -mucônico na urina.....	63
<b>Tabela 16.</b> Regressão linear múltipla para os níveis de ácido <i>trans</i> , <i>trans</i> -mucônico (variável dicotômica) e os parâmetros hematológicos .....	64
<b>Tabela 17.</b> Regressão logística múltipla para detecção de ácido <i>trans</i> , <i>trans</i> -mucônico e alterações hematológicas .....	64

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1 Benzeno</b> .....	<b>14</b>
2.1.1. Fontes de benzeno no ambiente .....	15
2.1.2. Níveis ambientais de benzeno .....	16
<b>2.2. Exposição humana ao benzeno</b> .....	<b>17</b>
<b>2.3. Toxicidade do benzeno</b> .....	<b>19</b>
2.3.1. Aspectos toxicocinéticos .....	19
2.3.2. Aspectos toxicodinâmicos .....	21
<b>2.4. Biomarcadores da exposição ao benzeno</b> .....	<b>22</b>
2.4.1. Ácido <i>trans, trans</i> -mucônico .....	23
<b>2.5. Exposição ao benzeno e efeitos na saúde humana</b> .....	<b>30</b>
2.5.1. Benzeno e alterações hematológicas .....	31
<b>2.6. Área de estudo</b> .....	<b>36</b>
<b>3. JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>38</b>
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	<b>39</b>
<b>4.1. Objetivo geral</b> .....	<b>39</b>
<b>4.2. Objetivos específicos</b> .....	<b>39</b>
<b>5. METODOLOGIA</b> .....	<b>40</b>
<b>5.1. Delineamento</b> .....	<b>40</b>
<b>5.2. População de estudo</b> .....	<b>40</b>
<b>5.3. Coleta de dados</b> .....	<b>40</b>
5.3.1. Questionário .....	41
5.3.2. Análises laboratoriais .....	41
5.3.2.1. Ácido <i>trans, trans</i> -mucônico .....	41
5.3.2.2. Hemograma .....	42
<b>5.4. Análise estatística dos dados</b> .....	<b>43</b>
<b>5.5. Aspectos éticos</b> .....	<b>45</b>
<b>6. RESULTADOS</b> .....	<b>46</b>
<b>6.1. Características da população de estudo</b> .....	<b>46</b>

<b>6.2. Níveis de ácido <i>trans, trans</i>-mucônico na urina.....</b>	<b>50</b>
<b>6.3. Valores do hemograma.....</b>	<b>51</b>
<b>6.4. Análise bivariada .....</b>	<b>53</b>
6.4.1. Níveis de ácido <i>trans, trans</i> -mucônico e características da população.....	53
6.4.2. Frequência de alterações hematológicas e características sociodemográficas da população. ....	57
6.4.3. Níveis de ácido <i>trans, trans</i> -mucônico e parâmetros hematológicos .....	61
<b>6.5. Análise multivariada.....</b>	<b>62</b>
6.5.1.Fatores associados com os níveis urinários de ácido <i>trans, trans</i> -mucônico. ....	62
6.5.2.Associação entre os níveis urinários de ácido <i>trans, trans</i> -mucônico e parâmetros do hemograma. ....	63
<b>7. DISCUSSÃO .....</b>	<b>65</b>
<b>8. CONCLUSÃO.....</b>	<b>721</b>
<b>9. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>73</b>
<b>10. ANEXOS .....</b>	<b>83</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O benzeno é um composto orgânico volátil produzido, principalmente, pela destilação do petróleo ou na siderurgia, como subproduto do coque. É também empregado na indústria química como matéria prima para a produção de plástico e outros elementos orgânicos e nas indústrias da borracha, tintas e vernizes, como solvente (BRASIL, 2002).

Uma das propriedades mais importantes deste composto é seu elevado poder de volatilização, o que o leva a repercutir significativamente na poluição do ar (ATSDR, 2007). Quando encontrado na atmosfera e no ar de ambientes interiores provém, principalmente, de emissões industriais, gases de escapamento de veículos automotores e fumaça de cigarro. Pode ser também encontrado no solo, água e alimentos sendo absorvido por via gastrointestinal ou dérmica tendo como principal via de exposição a inalação, sendo essa responsável por 98 a 99% da dose interna de benzeno no organismo humano (REIS, 2004).

O benzeno apresenta propriedades mielotóxicas e genotóxicas e, em 1987, a Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classificou este composto como cancerígeno para os seres humanos (grupo 1) (IARC, 1987). Os efeitos de sua exposição podem variar desde a diminuição da quantidade das células do sangue a efeitos imunológicos, podendo estabelecer a ocorrência de anemia aplástica e o desenvolvimento de vários tipos de neoplasias, principalmente leucemia (COSTA, 2009; GILMAN, 1996). Também apresenta toxicidade hepática, renal e no sistema nervoso central, porém os efeitos hematológicos são os mais frequentemente relacionados com exposição ao benzeno (CAMARGO, 2008).

O desenvolvimento de métodos mais precisos para determinar a exposição humana a poluentes atmosféricos tem sido uma área de pesquisa de muito interesse durante os últimos anos. A concentração de ácido *trans, trans*-mucônico urinário, metabólito do benzeno, parece o bioindicador mais promissor para avaliar sua exposição em estudos epidemiológicos, dado que, apesar de não ser específico, apresenta boa correlação com os níveis de benzeno ambiental, mesmo em baixas concentrações (MEDEIROS, BIRD e WITZ, 1993; ONG et al., 1994; WEAVER et al., 1996).

No bairro Piquiá de Cima, no município de Açailândia, cidade do sudoeste Maranhense, a instalação de cinco usinas siderúrgicas e o pátio da ferrovia Carajás-Itaqui, resultantes do processo de industrialização que se iniciou na década de 80, bem como a localização do bairro às margens da rodovia federal BR 222, transformou de modo significativo e num curto espaço de tempo a vida de seus moradores. Onde antes existia um pequeno povoado rural, habitado por camponeses ligados à agricultura de subsistência, surgiu um bairro industrial (SILVA, 2011).

Devido à atividade siderúrgica e ao intenso fluxo de veículos através da queima de combustíveis estarem entre as principais fontes de emissão de benzeno para atmosfera, observa-se a importância e a necessidade da realização de estudos de biomonitoramento na população residente no bairro Piquiá de Cima, na tentativa de avaliar a exposição dos seus moradores ao benzeno e detectar possíveis alterações na saúde. Este estudo tem como objetivo determinar as concentrações de ácido *trans*, *trans*-mucônico na urina de população adulta moradora do Piquiá de Cima, Açailândia-MA, e sua possível associação com alterações hematológicas.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Benzeno

O benzeno é um composto orgânico, constituinte do petróleo, utilizado como solvente em laboratórios, como matéria prima nas indústrias químicas, sendo encontrado, também em parques petroquímicos, de refino de petróleo, nas companhias siderúrgicas, na gasolina e na fumaça do cigarro. Vulcões e queimadas de florestas são fontes naturais que também contribuem para sua presença no meio ambiente (COSTA e COSTA, 2002).

Por ser um hidrocarboneto altamente volátil, ele é rapidamente degradado na atmosfera superior. Devido à sua solubilidade em água, uma pequena parte deste poluente atmosférico pode ser removida pela chuva para contaminar as águas superficiais e o solo. No entanto, não é persistente na água ou solo, podendo se volatilizar no ar ou ser degradado por bactérias (WHO, 2010).

Sua utilização aumentou muito a partir de 1910 quando passou a ser empregado na fabricação de borracha e do tolueno, que era a matéria prima para a confecção de explosivos usados na Primeira Guerra Mundial. Sua utilização foi amplamente difundida em razão da facilidade de sua produção a partir do petróleo e da sua participação na cadeia produtiva do aço (COSTA, 2009). Ao longo das últimas décadas, tem sido utilizado como um componente de tintas na indústria da impressão, como solvente para materiais orgânicos, como material de partida e intermediário nas indústrias químicas e farmacêuticas (por exemplo, na fabricação de borrachas, lubrificantes, corantes, detergentes, pesticidas), e como um aditivo para a gasolina sem chumbo (ATSDR, 2007; NTP, 2005; WILLIAMS et al., 2008). Mais recentemente seu uso tem sido banido em vários processos industriais e produtos comuns, porém ainda é uma molécula importante na indústria química. Entre os numerosos produtos que contêm este composto, encontram-se colas, tintas, móveis, cera, e detergentes.

O benzeno é uma substância classificada como cancerígena para o ser humano e tem sido objeto de controle no âmbito mundial dada sua característica de contaminante universal e seus potenciais efeitos à saúde humana, incluindo câncer e anemia aplástica, além de diversos efeitos agudos (OLMOS et al., 2006).

### 2.1.1. Fontes de benzeno no ambiente

A liberação do benzeno para o ambiente pode ocorrer a partir de fontes naturais e/ou antropogênicas.

As principais fontes antropogênicas no ambiente incluem as emissões industriais, gases da exaustão de automóveis e abastecimento de veículos automotores. De um modo global, sua emissão para a atmosfera aumentou significativamente entre 1960 e 1990 como consequência do rápido aumento do número de veículos. Cerca de 70% de sua emissão atualmente é proveniente do transporte rodoviário, principalmente da gasolina. As emissões veiculares são oriundas principalmente das perdas por evaporação durante o abastecimento e a combustão da gasolina (DUARTE-DAVIDSON et al., 2001).

O coque usado em atividades metalúrgicas, quando aquecido em altas temperaturas, emana um vapor composto por mais de 100 tipos diferentes de hidrocarbonetos, sendo o benzeno um dos principais. Nas coquearias ele é separado na fração de óleos leves de alcatrão, denominado BTX siderúrgico, constituído por misturas de benzeno, tolueno e xileno, da qual ele é o componente em maior proporção. Esta mistura é um subproduto na indústria siderúrgica, presente no carvão mineral, que também é utilizado como fonte energética, ampliando em muito seu potencial de contaminação (BRASIL, 2000).

Em áreas não industriais, o escapamento dos automóveis representa a maior fonte de benzeno no ambiente em geral (WHO, 2010). As emissões por veículos movidos a gasolina aumentaram consideravelmente após a substituição parcial ou completa dos compostos antidetonantes contendo chumbo por benzeno e outros hidrocarbonetos aromáticos (COUTRIM, CARVALHO e ARCURI, 2000).

Outros tipos de indústrias o utilizam para fabricação de produtos químicos, como estireno, na produção de isopor e outros plásticos; cumeno, para fabricação de resinas; e ciclo-hexano, para fabricação de nylon e fibras sintéticas. É também utilizado na fabricação de vários tipos de borrachas, lubrificantes, corantes, detergentes, drogas e pesticidas. Suas fontes naturais de emissão incluem os gases de vulcões e incêndios florestais que também contribuem para a sua presença no ambiente (ATSDR, 2007). Por se tratar de um componente do petróleo, é naturalmente encontrado em elevadas concentrações no ar nas proximidades de depósitos naturais de petróleo e gás (REIS,

2004). Contudo, as emissões resultantes da queima de carvão e petróleo e da combustão da gasolina são as principais responsáveis pela elevação dos seus níveis no ambiente, e particularmente no ar (ATSDR, 2007).

### **2.1.2. Níveis ambientais de benzeno**

Os níveis atmosféricos de benzeno em cidades ou áreas industriais são geralmente mais elevados do que aqueles encontrados em áreas rurais. De um modo geral, seus níveis no ar são mais elevados em locais próximos a refinarias de petróleo, fábricas petroquímicas e postos de gasolina (ATSDR, 2007).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as concentrações ambientais médias de benzeno no ar em áreas rurais estão, geralmente, cerca de  $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$  e em urbanas variam entre 5 e  $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (WHO, 2000). Segundo observado em diversos estudos, cidades com alta densidade de tráfego e condições meteorológicas ou geográficas desfavoráveis apresentam valores mais altos deste hidrocarboneto no ar (DEOLE, PHADKE e KUMAR, 2004; EPA, 1979; FARMER et al., 2005; MAVEI et al., 2005; NAVASUMRIT et al., 2005; ROSSI et al., 1999; WHO, 2000).

No Reino Unido o benzeno vem sendo monitorado desde 1991, encontrando concentrações médias anuais no ambiente urbano na faixa de  $2,2\text{-}8,0 \text{ mg}/\text{m}^3$ . No estudo de Duarte-Davidson et al. (2001), a concentração média anual de benzeno em uma área rural da Inglaterra foi de  $1,3 \text{ mg}/\text{m}^3$ , representando cerca de 30% a 35% da concentração encontrada na maioria das áreas urbanas. Suas concentrações ambientais também foram estudadas em vários locais dos Estados Unidos de América (EUA), sendo observados valores que variaram entre 0,02 ppb ( $0,06 \text{ mg}/\text{m}^3$ ) em áreas rurais até 112 ppb ( $356 \text{ mg}/\text{m}^3$ ) em áreas urbanas (CLEMENTS et al., 2006).

Na Europa, desde 2000, o valor limite de benzeno no ar estabelecido para os ambientes de trabalho é de  $3,25 \text{ mg}/\text{m}^3$  (1 ppm). Nos EUA, a Organização de Segurança e Saúde Ocupacional (OSHA) também estabelece uma concentração de 1 ppm de benzeno no ar para proteção da saúde do trabalhador. Já o Instituto Nacional de Saúde e Segurança Ocupacional (NIOSH) dos EUA recomenda um nível de 0,1 ppm, e a Conferência Americana dos Higienistas Industriais Governamentais (ACGIH) determina um limite de tolerância (TLV) de 0,5 ppm de benzeno no ambiente de trabalho (CAPLETON e LEVY, 2005). Assim, na América do Norte e na Europa os

trabalhadores são, hoje em dia, geralmente expostos a níveis médios de benzeno no ar inferiores a 1 ppm ( $<3,25 \text{ mg/m}^3$ ), embora níveis mais elevados ainda sejam relatados (CAPLETON e LEVY, 2005; CHAN et al., 2006; CONCAWE, 2002; GARTE et al., 2005; NAVASUMRIT et al., 2005; NICNAS, 2001; TSAI et al., 2004).

No Brasil, O Ministério do Trabalho e Emprego (MTE) estabelece na Portaria nº14, de 21 de Dezembro de 1995, que a concentração média de benzeno no ar não deve ser superior a 1 ppm para as empresas que produzem, armazenam, utilizam ou manipulam benzeno em suas misturas líquidas contendo 1% ou mais de volume. Já para as empresas siderúrgicas o limite de tolerância é de 2,5 ppm (SANTOS, 2009).

Os níveis de benzeno no ambiente doméstico são normalmente mais elevados do que os níveis ao ar livre, devido à influência do benzeno procedente do ar exterior, à fumaça de cigarro e ao uso de produtos, como tintas, colas, vernizes, entre outros (COSTA e COSTA, 2002). Estudo realizado nos EUA mostrou que as concentrações de benzeno no ar do interior das casas de fumantes variava entre 14 e 21  $\mu\text{g/m}^3$  e entre 0,8 e 5,3  $\mu\text{g/m}^3$  em casas de não-fumantes (IMBRIANI et al., 1996).

O benzeno também pode ser liberado para a água através da contaminação da mesma por águas residuais industriais sem tratamento, vazamentos de gasolina de tanques subterrâneos de armazenamento, derramamentos acidentais durante o transporte marítimo de produtos químicos e lixiviação de aterros sanitários e outros solos contaminados (CDC, 1994; CRAWFORD et al., 1995). A água para consumo humano contém concentrações geralmente menores do que 0,1 ppb (ATSDR, 2007).

O benzeno também se acumula em folhas e frutos de plantas. Collins et al. (2000) observaram que, após 40 dias, as plantas cultivadas em ambientes ricos em benzeno apresentaram concentrações nas folhas e frutos que eram maiores do que o coeficiente de fracionamento deste na atmosfera.

## **2.2. Exposição humana ao benzeno**

A exposição humana ao benzeno pode ocorrer no ambiente de trabalho ou não, como resultado do uso universal de derivados de petróleo que contém esta substância, incluindo combustíveis e solventes.

Segundo a *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ATSDR) dos EUA, as emissões de escapamento de veículos e as industriais são responsáveis por cerca de 20% da exposição total ao benzeno, e aproximadamente a metade da exposição na população dos EUA resulta do tabagismo ou da exposição passiva à fumaça do tabaco (ATSDR, 2007). O fumante com consumo médio de 32 cigarros por dia absorve aproximadamente 1,8 mg de benzeno diariamente. Esta dose é dez vezes superior à exposição média diária em não fumantes (ATSDR, 2007).

Em ambientes não ocupacionais cerca de 40% da exposição diária a este composto na população não fumante pode ser atribuída ao ar exterior, enquanto 60% está relacionada a atividades pessoais em ambientes fechados, incluindo a presença da fumaça do cigarro, a qual representa 50% da exposição (HARRISON et al., 1998). Além do hábito de fumar, a inalação do ar interior de veículos automotivos é apontada como responsável por uma parcela considerável da exposição diária não ocupacional (LARSEN e LARSEN, 1998).

As duas principais atividades industriais com risco de exposição ocupacional ao benzeno são as associadas com a sua produção e síntese e a sua utilização para sintetizar outros produtos químicos (ATSDR, 2007; JOHNSON, LANGARD e LIN, 2007; VCEEP, 2006; WEISEL, 2010). Além da ocupação em estas atividades, uma série de outras ocupações como trabalhadores de postos de gasolina (CARRIERI et al., 2006), motoristas de ônibus e policiais (CAPLETON e LEVY, 2005), trabalhadores de petroleiros (KIRKELEIT et al., 2006a, 2006b), trabalhadores urbanos (FUSTINONI et al., 2005; MANINI et al., 2008) e pescadores (KIRRANE et al., 2007) apresentam risco de exposição ao benzeno pela utilização de produtos derivados do petróleo. A exposição ao benzeno presente em solventes também foi demonstrada para os trabalhadores da produção de calçados (KIM et al., 2006; ZHANG et al., 1998). As concentrações no ar nestes ambientes profissionais oscilam entre 1 mg/m<sup>3</sup> e mais de 1000 mg/m<sup>3</sup> (SCOTT et al., 2013).

Tanto a exposição ambiental ao benzeno quanto a ocupacional ocorre principalmente por meio da inalação (WHO, 2010). A exposição também pode ocorrer através da ingestão de água, bebidas e alimentos contaminados (LACHENMEIER et al., 2008; NYMAN et al., 2008; VAN POUCKE et al., 2008) como resultado de

processamento e a manipulação inadequada (BECALSKI et al., 2009). Contudo, a contribuição destas vias na exposição total, em geral, é pouco relevante.

A prática de atividades que envolvem o uso de produtos que contêm este solvente, tais como colas, tintas, cera de mobiliário, e detergentes também podem contribuir para a exposição ao benzeno através da inalação de vapores (COSTA e COSTA, 2002). O reconhecimento do benzeno como composto cancerígeno para o ser humano acarretou a restrição do seu uso (ARAÚJO, 2008). No Brasil, a diminuição a de sua exposição ocorreu em 1982, quando foi proibida a fabricação de produtos que contivessem, em sua composição, uma concentração de benzeno superior a 1% em volume (COUTRIM, CARVALHO e ARCURI, 2000).

## **2.3. Toxicidade do benzeno**

### **2.3.1. Aspectos toxicocinéticos**

A exposição ao benzeno pode ocorrer por três vias de absorção: a inalatória, a dérmica, e a gastrointestinal, sendo a inalatória a principal via de entrada no organismo. Cerca de 50% do benzeno inalado é absorvido, e aproximadamente 50% eliminado pelos pulmões quase imediatamente. A dose absorvida na corrente sanguínea distribui-se rapidamente pelos tecidos atingindo maiores concentrações nos tecidos ricos em lipídios (fígado, baço, medula óssea e lipoproteínas sanguíneas), os quais funcionam como um reservatório desta substância (ARCURI et al., 2005).

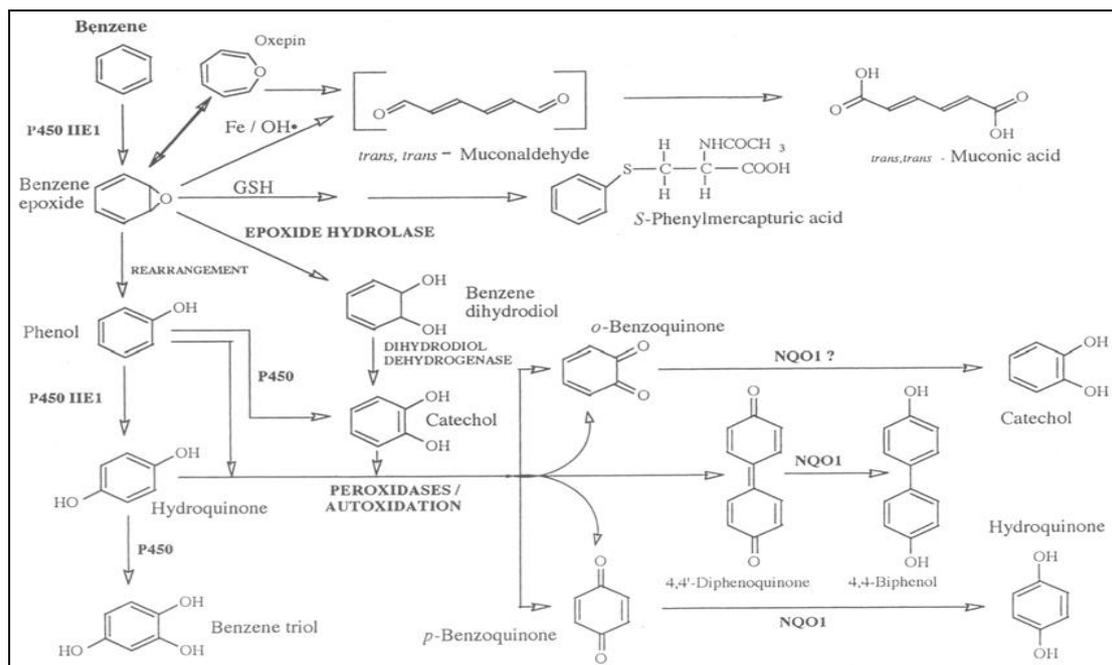
A quantidade absorvida pela via inalatória pode variar entre 10 e 50% dependendo da dose, do metabolismo e da quantidade de gordura no organismo. Na sua forma inalterada, é eliminado através do ar expirado e em torno de 0,1%, apenas, é eliminado pela urina. O benzeno que permanece no organismo é transformado principalmente no fígado e na medula óssea e eliminado pela urina em forma de metabólitos (ATSDR, 2007). Aproximadamente 40% do benzeno absorvido pelo organismo é transformado em compostos fenólicos. O fenol é o mais importante desses compostos sendo excretado principalmente pela urina, livre ou combinado com os ácidos glicurônico ou sulfúrico.

No fígado, o benzeno é transformado em óxido de benzeno, e a partir deste intermediário são formados os diversos compostos hidrossolúveis eliminados pela urina,

tais como o fenol. O óxido de benzeno também pode ser alterado por enzimas epóxido hidrolases para produzir diidrodiol de benzeno e ser transformado em catecol, ou pode ser conjugado com glutatona e excretado pela urina como ácido S-fenil-mercaptúrico (SNYDER e HEDLI, 1996) (Figura 1). O anel de óxido de benzeno pode também ser aberto para formar uma série de seis dienos de carbono, o mais reativo dos quais é o *trans, trans*-muconaldeído, excretado pela urina em forma de ácido *trans, trans*-mucônico. O benzeno também pode ser hidroxilado para formar catecol, hidroquinona e 1,2,4-tri-hidroxibenzeno. A hidroquinona pode ser oxidada para se obter 1,4-benzoquinona. Tanto o benzeno hidroxilado (fenol) quanto os outros metabólitos podem ser excretadas pela urina como sulfato ou na forma de conjugados glicuronídeos (Figura 1).

A capacidade dos indivíduos para metabolizar o benzeno é determinada por fatores genéticos (QU et al., 2003), gênero (COCCO et al., 2003; MELIKIAN et al., 2002), e fatores relacionados ao estilo de vida como o tabagismo (KIM et al., 2006; PAVANELLO et al., 2002; VERDINA et al., 2001).

Os efeitos biológicos do benzeno são, em parte, atribuídos aos produtos decorrentes de sua biotransformação, a exemplo do benzeno epóxido e a 1,4-benzoquinona, prováveis responsáveis pelos efeitos mielotóxicos desse produto. O benzeno epóxido tem sido responsabilizado, também, pelos efeitos carcinogênicos desta substância (COSTA e COSTA, 2002; MARTINS e SIQUEIRA, 2001).



**Figura 1.** Rotas metabólicas do benzeno (Fonte: EPA, 2012)

### 2.3.2. Aspectos toxicodinâmicos

O sistema hematopoiético é o principal tecido onde o benzeno exerce sua ação tóxica no organismo humano. A sua toxicidade medular (ou mielotoxicidade) deve-se à capacidade de ligação de um ou mais metabólitos formados na biotransformação a macromoléculas, tais como o RNA, DNA e proteínas. Como consequência ocorre uma alteração do microambiente hematopoiético com a inibição enzimática, destruição das células, alteração do crescimento celular, fragmentação do DNA, mutações e apoptose (GOLDSTEIN, 2010; RUIZ et al., 1993). No entanto, as quinonas podem inibir as proteases intervenientes na apoptose, sugerindo que a modulação da apoptose pode estar na origem das alterações hematopoiéticas e do processo neoplásico decorrentes da exposição ao benzeno (GOLDSTEIN, 2010).

Os metabólitos fenol, hidroquinona, catecol, benzoquinona e 1,2,4-triidroxibenzeno formam adutos da mitocôndria e inibem a síntese do RNA na mitocôndria do fígado e medula óssea. Por sua vez, a hidroquinona é capaz de inibir a ativação da pré-interleucina-1 a interleucina -1 (IL-1), elemento crítico para o funcionamento das células da medula, o que pode contribuir para o desenvolvimento de anemia aplásica. A inibição da síntese da IL-1 resulta da alteração da diferenciação das

células mieloides e linfoides. As células mieloides imaturas podem proliferar e adquirir características neoplásicas durante a diferenciação, resultando na leucemia mieloide aguda (SMITH, 2010).

Devido à sua capacidade para causar estresse oxidativo e ligar-se a proteínas do fígado, rim e outros órgãos, além da mielotoxicidade e genotoxicidade, o benzeno possui propriedades, neurotóxicas, hepatotóxicas e toxicidade renal.

A sua toxicidade independe da via de absorção, e qualquer dose de exposição torna-se perigosa para saúde (ASMUS e FERREIRA, 2002; MARTINS e SIQUEIRA, 2001). Contudo, são vários os fatores que determinam a sua toxicidade. Entre estes fatores, os principais são a dose ou quantidade de benzeno a qual o indivíduo foi exposto, e a duração da exposição.

#### **2.4. Biomarcadores da exposição ao benzeno**

O desenvolvimento de métodos mais precisos para determinar a exposição humana a poluentes atmosféricos tem sido uma área de pesquisa de muito interesse durante os últimos anos. Em decorrência deste fato há uma atenção especial na utilização de indicadores biológicos para quantificar a exposição humana a determinados agentes tóxicos presentes no ar.

Os biomarcadores, ou indicadores biológicos de exposição, podem ser substâncias tóxicas não reativas, ou seus metabólitos, ou os produtos de reação desses tóxicos com substâncias que ocorrem naturalmente no organismo. A determinação destes biomarcadores em fluídos biológicos (sangue, urina), tecidos ou ar exalado pode indicar se ocorreu ou não a exposição a um determinado tóxico (COUTRIM, CARVALHO e ARCURI, 2000), a intensidade da exposição e se a exposição é recente ou crônica. Classificam-se em biomarcadores de exposição (ou de dose interna) e biomarcadores de efeito. Idealmente o biomarcador de exposição deve ser específico e o seu nível no organismo deve se correlacionar com a extensão da exposição (LADEIRA et al., 2009). Dentre as matrizes biológicas utilizadas para a determinação da substância tóxica ou de seus metabólitos, a urina é a mais conveniente por ser coletada de forma não invasiva.

Os biomarcadores de exposição podem refletir a quantidade absorvida imediatamente antes da amostragem, como por exemplo, a concentração de um solvente no ar alveolar ou no sangue; podem refletir a quantidade absorvida no dia anterior; ou refletir a quantidade absorvida durante meses de exposição, quando a substância tem um tempo de meia vida longa, como a concentração de alguns metais no sangue (AMORIM, 2003).

Em relação ao benzeno, são vários os tipos de biomarcadores que são empregados para quantificar a sua exposição, tanto biomarcadores de dose interna como os metabólitos fenol, ácido *trans, trans*-mucônico e S-fenilmercaptúrico, encontrados na urina, bem como biomarcadores de efeito precoce como aductos que resultam da ligação do xenobiótico ou seu metabólito com macromoléculas, tais como DNA ou proteínas, aberrações cromossômicas, micronúcleos e ensaio cometa (BRANT e WATSON, 2003).

O fenol, principal metabólito do benzeno no organismo humano, é excretado principalmente pela urina, livre ou combinado com os ácidos glicurônico ou sulfúrico (COUTRIM, CARVALHO e ARCURI, 2000). Apesar do fenol na urina estar sendo usado mundialmente como biomarcador de exposição a concentrações elevadas de benzeno, ele não é um metabólito específico. Por exemplo, a ingestão de determinadas substâncias químicas contidas em alimentos e fármacos pode produzir um aumento nos níveis de fenol urinário.

Como existe uma tendência a diminuir os limites de exposição ambiental ao benzeno, outros biomarcadores de exposição estão sendo sugeridos. Entre eles estão sendo preconizados os ácidos *trans, trans*-mucônico e S-fenil-mercaptúrico na urina (COUTRIM, CARVALHO e ARCURI, 2000).

#### **2.4.1. Ácido *trans, trans*-mucônico**

O benzeno é metabolizado no fígado pelo citocromo P450E1 para óxido de benzeno. Este composto é processado através de vias enzimáticas e não enzimáticas para vários produtos: fenol (74-87%), ácido S-fenil-mercaptúrico (S-PMA) (1%) ou ácido *trans, trans*-mucônico (*t,t*-MA) (2%) (SNYDER e HEDLI, 1996).

Os dois metabólitos urinários que vêm sendo considerados como melhores bioindicadores da exposição a baixos níveis de benzeno no ar são o *t,t*-AM e o S-PMA (BOOGARD e VAN SITTERT, 1995, 1996; GHITTORI et al., 1995; ONG et al., 1994). No Brasil, o valor máximo recomendado de *t,t*-MA para trabalhadores expostos a níveis de 1 ppm de benzeno no ar é de 1,6 mg/g de creatinina (BRASIL, 2000). Para população sem exposição ocupacional a benzeno, a portaria nº34 de dezembro de 2001 estabelece um valor de referência de 0,5 mg/g. A Conferência Americana dos Higienistas Industriais Governamentais também recomenda o uso dos metabólitos S-PMA e *t,t*-MA na urina para o biomonitoramento da exposição ao benzeno e estabelece valores de referência de 25 µg/g creatinina para S-PMA e <500 µg/g creatinina para *t,t*-MA (<5 mg/g), respectivamente (APREA et al., 2008).

O metabólito *t,t*-MA é considerado um bom indicador para o monitoramento de exposição a níveis de benzeno <0,50 ppm, porém o ácido sórbico e o sorbitol presentes em determinados alimentos podem interferir nos níveis do metabólito (MARRUBINI, COCCINI e MANZO, 2002; PEZZAGNO, MAESTRI e FIORENTINO, 1999; WEAVER et al., 2000). Por este motivo, alguns autores têm sugerido que o S-PMA é melhor biomarcador que o *t,t*-MA quando se trata de baixos níveis de exposição ao benzeno (BOOGAARD e VAN SITTERT, 1996; MELIKIAN et al., 2002). No entanto, os métodos analíticos usados para mensuração da concentração de *t,t*-MA na urina são relativamente simples, e hoje este metabólito é dos mais usados para determinação da exposição ambiental ao benzeno (LEE et al., 2005; MARRUBINI, COCCINI e MANZO, 2002; OLMOS et al., 2006).

O S-PMA, apesar de ser mais específico e sensível, requer técnicas de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (ONG et al., 1994; POPP et al., 1994), o que ainda tem dificultado sua aplicação em análises rotineiras de biomonitorização no Brasil (MARTINS e SIQUEIRA, 2001). Para determinação do *t,t*-MA, os métodos mais empregados são os que utilizam a cromatografia líquida de alta eficiência (MARTINS e SIQUEIRA, 2001).

Assim, o *t,t*-AM urinário parece o bioindicador mais promissor para avaliar a exposição ao benzeno e, apesar de não ser específico, apresenta boa correlação com os níveis de benzeno ambiental, mesmo em baixas concentrações (MEDEIROS, BIRD e WITZ, 1993; ONG et al., 1994; WEAVER et al., 1996). Vários estudos têm

evidenciado a relação entre a exposição a baixas concentrações de benzeno no ar, cerca de 0,1 ppm (ou 0,3 mg/m<sup>3</sup>), e a excreção de *t,t*-MA, sugerindo uma boa correlação entre a concentração do metabólito na urina e a concentração de benzeno na zona das vias respiratórias superiores (BURATTI, FUSTINONI e COLOMBI, 1996; KIVISTO et al., 1997; ONG et al., 1994; PRIANTE et al., 1996; WEISEL, 1996).

O Quadro 1 resume os principais estudos que investigaram níveis de *t,t*-MA urinário em população com e sem exposição ocupacional ao benzeno e fatores associados com a exposição.

Em um estudo realizado em Calcutá, Índia, sobre exposição ao benzeno procedente de fontes veiculares, a concentração média de *t,t*-MA na urina de atendentes de postos de gasolina e mecânicos foi 2,72 mg/L, 3,8 vezes maior que os níveis encontrados em um grupo de indivíduos não expostos, que apresentou uma concentração média de 0,71 mg/L (RAY et al., 2007). Ainda, o estudo encontrou associação positiva entre exposição ambiental a fumaça de cigarro e exposição ocupacional às emissões de veículos automotores e o nível excretado de *t,t*-MA (RAY et al., 2007). Comparando também trabalhadores expostos ao benzeno com indivíduos sem exposição ocupacional, Melikian et al. (2012) relataram médias de *t,t*-MA de 6,2 nos expostos e 0,26 mg/g nos não expostos.

Em um estudo na Tailândia, o valor médio de concentração de *t,t*-MA em frentistas de postos de gasolina foi 4,0 mg/g de creatinina, enquanto que em indivíduos sem exposição ocupacional foi significativamente menor, de 0,12 mg/g (WIWANITKIT, SUWANSAKSRI e NASUAN, 2001). Em 2004, os mesmos pesquisadores encontraram níveis nove vezes maiores de *t,t*-MA em indivíduos fumantes, em relação aos não fumantes, com valores médios de 2,19 e 0,24 mg/g, respectivamente (WIWANITKIT, SUWANSAKSRI e SOOGARUM, 2004). Outro estudo, conduzido na Tailândia com vários grupos de trabalhadores expostos ao benzeno, indivíduos sem exposição ocupacional, e escolares da capital e do interior, encontrou níveis significativamente mais elevados de *t,t*-MA em todos os grupos de indivíduos expostos comparado aos grupos controle (NAVASUMRIT et al., 2005).

No Brasil, Paula et al. (2003) encontraram uma concentração média do metabólito urinário de 0,19 mg/g em trabalhadores de refinaria de petróleo em Belo Horizonte-MG expostos a níveis médios de benzeno no ar de 0,15 mg/m<sup>3</sup> (0,05 ppm).

Esses trabalhadores foram comparados com um grupo de indivíduos não expostos, que tiveram concentrações de *trans, trans*-mucônico significativamente menores às do grupo exposto, com uma média de 0,10 mg/g. No grupo de trabalhadores da refinaria, o nível de *t,t*-MA era mais elevado nos que fumavam, e no grupo de indivíduos não expostos, o nível de *t,t*-MA foi significativamente maior em aqueles maiores de 36 anos. Entretanto, não foi observada correlação entre os níveis do metabólito urinário e do benzeno no ar. A ingestão de álcool num período de até 48 horas antes da coleta das amostras não mostrou interferir nos níveis do metabólito nos dois grupos estudados. Outro estudo com trabalhadores de indústrias petroquímicas relatou concentrações de *t,t*-MA entre <0,02 e 0,92 mg/L, sendo a média de 0,060 mg/L (HOET et al., 2009).

Para avaliar a exposição ocupacional ao benzeno em áreas urbanas e rurais da Itália, foi realizado um estudo sobre a exposição pessoal ao benzeno em policiais de trânsito não fumantes, policiais motorizados e policiais trabalhadores de zonas rurais (MANUELA et al., 2012). O nível de *t,t*-MA nos fumantes (91,6 µg/g) foi quase o dobro da concentração nos não fumantes (47,6 µg/g). Entre os não fumantes, a concentração do metabólito foi maior entre os trabalhadores urbanos em comparação com os rurais. Tanto os níveis individuais de exposição ao benzeno quanto as concentrações de *t,t*-MA foram similares entre os policiais de trânsito e policiais motorizados. Aprea et al. (2008), visando definir valores de referência para o *t,t*-MA urinário em população geral da Itália sem exposição ocupacional ao benzeno, estudou 376 indivíduos residentes em três regiões, mostrando um intervalo de concentrações de 14,4–225,0 µg/L, e uma média geométrica de 52,5 µg/L. O valor médio de concentração de *t,t*-MA foi significativamente mais elevado em fumantes (76,1 µg/L) e em mulheres (44,7 µg/g vs. 36,7 µg/g em homens). Outro estudo italiano investigou o nível de *t,t*-MA na urina de 34 mulheres e 31 homens da população geral, encontrando concentração média 2 vezes maior em mulheres (28,7 vs. 11,5 µg/g hos homens) e fumantes (37,6 vs. 15,6 em não fumantes µg/g) (COCCO et al., 2003). Em análise multivariada, o hábito de fumar e a escolaridade (ensino médio) foram as variáveis associadas significativamente com a detecção do metabólito (COCCO et al., 2003).

Finalmente, em estudo francês com uma pequena amostra de crianças na faixa etária de 2-3 anos e seus pais, os valores médios de concentração de *t,t*-MA foram 0,85 e 0,73 mg/g, respectivamente, sendo significativamente mais elevados nas crianças (KOUNIALI et al., 2003).

De um modo geral, a concentração de *t,t*-MA em trabalhadores sem exposição ocupacional ao benzeno não supera os 0,50 mg/g de creatinina (BRASIL, 2000). Contudo, são escassas as pesquisas que estudam os níveis urinários de *t,t*-MA em população geral ou moradora de locais próximos a áreas industriais.

Além do hábito de fumar e o consumo de bebida alcoólica, entre os outros fatores apontados nos estudos epidemiológicos que podem influenciar os níveis de *t,t*-MA excretados, encontram-se a ingestão de ácido sórbico e seus sais presentes na alimentação (DUCOS et al., 1990; PEZZAGNO e MAESTRI, 1997), a exposição simultânea ao tolueno (GOLDSTEIN, 1989; INOUE et al., 1989) e a exposição a hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (COUTRIM, CARVALHO e ARCURI, 2000).

O ácido sórbico é um preservativo e agente fungistático muito comum em alimentos industrializados tais como produtos enlatados, embutidos, queijo, castanhas, peixe desidratado, vinho, cerveja, refrigerantes, entre outros. Estudos experimentais têm mostrado que o ácido sórbico é metabolizado via oxidação para ser transformado em *t,t*-MA, aparecendo na urina após ingestão oral (BRASIL, 2011; PEZZAGNO et al., 1999). Dessa forma, a ingestão de tais alimentos pode ser responsável pela baixa especificidade do *t,t*-MA urinário como biomarcador de exposição a níveis ambientais de benzeno (PEZZAGNO et al., 1999).

**Quadro 1.** Resumo dos estudos que avaliaram a exposição ao benzeno por meio do ácido *t,t*-MA urinário e fatores associados.

Estudo	País	Desenho	População	N	Concentração de benzeno no ar	Média ± DP de <i>t,t</i> -MA (por L de urina ou g de creatina)	Fatores associados
Ray et al., 2007	Índia	Seccional	Frentistas, trabalhadores de oficina mecânica e indivíduos não expostos.	50 expostos	285,3 µg/m <sup>3</sup>	2,72 ± 0,21 mg/L	Níveis de <i>t,t</i> -MA mais elevados (p<0,0001) em trabalhadores vs. não expostos. Associação positiva entre <i>t,t</i> -MA e exposição a fumaça de cigarro e poluição de veículos.
				35 não expostos	55,2 µg/m <sup>3</sup>	0,71 ± 0,11 mg/L	
Melikian et al., 2012	China	Seccional	Trabalhadores de fábricas de cola e calçados e indivíduos não expostos	130 expostos	9,7 ± 16,6 ppm	6,2 ± 6,48 mg/g	Níveis de <i>t,t</i> -MA antes e depois da jornada de trabalho mais elevados (p<0,05) nos trabalhadores expostos vs. não expostos.
				51 não expostos	N.I.	0,26 ± 0,27 mg/g	
Wiwanitkit, Suwansaksri e Nasuan, 2001	Tailândia	Seccional	Atendentes de postos de gasolina e indivíduos da população geral	30 expostos	0,76-4,4 ppm	4,00 ± 12,49 mg/g	Níveis de <i>t,t</i> -MA mais elevados (p<0,05) em expostos vs. não expostos
				49 não expostos		0,12 ± 0,03 mg/g	
Wiwanitkit, Suwansaksi e Soogarum, 2004	Tailândia	Seccional	Trabalhadores de garagens	30	N.I.	0,71 mg/g	Níveis de <i>t,t</i> -MA mais elevados (p<0,05) em fumantes vs. não fumantes.
Navasumrit et al., 2005	Tailândia	Seccional	Vendedores ambulantes de roupa (1) e grelhados (2), controles dos vendedores (3), escolares da capital (4), escolares do interior (5), frentistas (6), trabalhadores de fábrica (7) e controles dos trabalhadores expostos (8)	(1) 22	(1) 22,61 ppb	(1) 0,12 ± 0,02 mg/g	Níveis de <i>t,t</i> -MA (mensurados no final da tarde) mais elevados (p<0,05) em todos os grupos de expostos (1, 2, 4, 6, 7) comparado com os respectivos controles (3, 5 e 8). (Todos os indivíduos são não fumantes)
				(2) 21	(2) 28,19 ppb	(2) 0,11 ± 0,02 mg/g	
				(3) 18	(3) 12,95 ppb	(3) 0,06 ± 0,01 mg/g	
				(4) 41	(4) 5,50 ppb	(4) 0,17 ± 0,03 mg/g	
				(5) 30	(5) 2,54 ppb	(5) 0,06 ± 0,01 mg/g	
				(6) 50	(6) 121,67 ppb	(6) 0,18 ± 0,02 mg/g	
				(7) 30	(7) 73,55 ppb	(7) 0,08 ± 0,04 mg/g	
				(8) 45	(8) 4,77 ppb	(8) 0,06 ± 0,01 mg/g	
Paula et al., 2003	Brasil-MG	Seccional	Trabalhadores refinaria petróleo e indivíduos da	116 expostos	0,15 ± 0,05 mg/m <sup>3</sup>	0,19 ± 0,04 mg/g	Níveis de <i>t,t</i> -MA mais elevados (p<0,05) em:

			população geral	36 não expostos	N.I.	0,10 ± 0,08 m/g	expostos vs. não expostos; expostos fumantes vs. não fumantes; não expostos >36 anos.
Manuela et al., 2012	Itália	Seccional	Agentes de trânsito, policiais rodoviários, policiais rurais, atendentes de postos de gasolina e mecânicos.	249	<LD – 40,5 µg/m <sup>3</sup> (exposição pessoal)	Não fumantes: 47,6 µg/g Fumantes: 91,6 µg/g	Níveis de <i>t,t</i> -MA mais elevados (p<0,05) em: fumantes vs. não fumantes; trabalhadores urbanos não fumantes vs. trabalhadores rurais não fumantes.
Aprea et al., 2008	Itália	Seccional	População geral sem exposição ocupacional ao benzeno	376	3,9-6,6 µg/m <sup>3</sup>	52,5 µg/L (14,4-225 µg/L) Não fumantes: 44,8 µg/L Fumantes: 76,1 µg/L Homens: 36,7 µg/g Mulheres: 44,7 µg/g	Níveis de <i>t,t</i> -MA mais elevados (p<0,05) em fumantes e mulheres. Sem associação com o local de residência.
Cocco et al., 2003	Itália	Seccional	População geral	34 mulheres 31 homens	N.I.	Mulheres: 28,7 ± 5,1 µg/g Homens: 11,5 ± 4,1 µg/g Fumantes: 37,6 ± 4,1 µg/g Não fumantes: 15,6 ± 4,9 µg/g	Níveis de <i>t,t</i> -MA (no final da tarde) mais elevados (p<0,05) em mulheres e fumantes. Análise multivariada: hábito de fumar e escolaridade (ensino médio) associados com detecção do metabólito. Variáveis não significativas no modelo: idade, gênero, ingestão de ácido sórbico e residir nas proximidades de fontes de emissão de benzeno.
Kouniali et al., 2003	França	Seccional	Crianças de 2-3 anos e seus pais (não fumantes)	21 crianças 22 pais e mães	Crianças: 11,09±6,15 µg/m <sup>3</sup> Pais: 14,4±7,7 µg/m <sup>3</sup> (exposição pessoal)	Crianças: 0,85 ± 1,40 mg/g Pais: 0,73 ± 1,24 mg/g	Níveis de <i>t,t</i> -MA mais elevados (p<0,05) nas crianças.

N.I.: não informado; DP: desvio padrão.

## 2.5. Exposição ao benzeno e efeitos na saúde humana

A exposição crônica ao benzeno pode acarretar diversos efeitos tóxicos no organismo, como genotoxicidade (IARC, 1987), hematotoxicidade (ISKANDER e JAISWAL, 2005; RAY et al., 2007), imunotoxicidade (BOGADI-SARE et al., 2000), neurotoxicidade (LO PUMO et al., 2006) e hepatotoxicidade (VARDOULAKIS, PHOON e OCHIENG, 2010). A exposição aguda ao benzeno causa irritação nas mucosas (olhos, nariz, boca) e quando aspirado, pode provocar edema (inflamação aguda) pulmonar e hemorragia nas áreas de contato (ATSDR, 2007).

Em relação à toxicidade crônica do benzeno, os efeitos mais bem documentados em humanos são as alterações hematológicas e câncer hematológico, principalmente leucemia aguda (GALBRAITH, GROSS e PAUSTENBACH, 2010; PYSZEL et al., 2005). A utilização inicial de benzeno como solvente em ambientes ocupacionais levou à descoberta de que ele podia ser um agente potencialmente tóxico para a medula óssea. Os primeiros relatos de anemia aplástica ocorreram em mulheres que se dedicavam à produção de pneus de bicicleta na Suécia (SANTESSSEN, 1897). Em uma pesquisa nos EUA em indústrias que utilizavam benzeno, cerca de um terço dos trabalhadores tinha contagens anormalmente baixas de células brancas do sangue (menos de 5.500 por mL) (GREENBURG, 1926). Dolore e Borgomano (1928) relataram o primeiro caso de leucemia linfóide aguda em um trabalhador da indústria farmacêutica exposto a níveis elevados de benzeno.

Em 2000, a OMS, em suas diretrizes para a qualidade do ar na Europa, estabeleceu um excesso de risco de leucemia em populações com exposição crônica a uma concentração de  $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$  de benzeno no ar de 6 casos a cada 1 milhão de habitantes.

Além de leucemogênese, a toxicidade do benzeno está também relacionada ao surgimento de outras formas de neoplasias hematológicas, como linfomas não-Hodgkin, mieloma múltiplo e mielofibrose, embora as evidências epidemiológicas sejam mais limitadas (ARCURI et al., 2005). A genotoxicidade do benzeno estende-se a anormalidades cromossômicas evidentes, tais como hiperdiploidia, aneuploidias, translocações e deleções que claramente estão relacionadas com o risco de câncer (ZHANG, EASTMOND e SMITH, 2002).

Os efeitos na saúde decorrentes da exposição crônica ao benzeno têm sido estudados extensivamente em trabalhadores expostos a concentrações elevadas de benzeno, porém os estudos publicados até hoje demonstram uma lacuna no que tange principalmente ao conhecimento dos efeitos da exposição ambiental a níveis baixos ou moderados desta substância.

A maior parte das evidências de associação entre a exposição ao benzeno e o desenvolvimento de neoplasias hematológicas deriva de estudos em trabalhadores industriais, muitas vezes, expostos a uma mistura complexa de substâncias (KHALADE et al., 2010). Estes estudos incluem indústrias de fabricação de calçados, de impressão, petroquímicas, químicas, produção de coque e fabricação de borracha. Muitas das populações nestes estudos foram expostas a concentrações de benzeno extremamente elevadas em comparação com as concentrações existentes hoje nos locais de trabalho deste tipo de indústrias e nos ambientes exteriores.

Contudo, o aumento gradativo de concentrações de benzeno em atmosferas urbanas tem indicado que a exposição ao benzeno em ambientes não ocupacionais não deve ser desprezada. Alguns estudos epidemiológicos têm sido realizados para investigar a associação entre exposição à fumaça de veículos automotores e o risco de leucemia infantil (AMIGOU et al., 2011; DUARTE-DAVIDSON et al., 2001; ZHANG, EASTMOND e SMITH, 1998), tendo em vista que o tráfego rodoviário é uma fonte de exposição ambiental a compostos orgânicos voláteis, particularmente o benzeno. Dentre estes estudos, cabe destacar o estudo de base populacional ESCALE (*Study on Environmental and Genetic Risk Factors of Childhood Cancers and Leukemia*), realizado na França. Pesquisadores do estudo ESCALE encontraram associação entre os níveis de poluição do ar e proximidade a estradas de tráfego intenso e maior risco de leucemia aguda em crianças menores de 15 anos (AMIGOU et al., 2011).

### **2.5.1. Benzeno e alterações hematológicas**

O benzeno age, através de seus produtos de transformação, sobre a medula óssea, atingindo as células do sistema hematopoiético (ARCURI et al., 2012). A supressão da medula óssea (ou mielotoxicidade) pode causar redução do número de células sanguíneas primitivas e/ou provocar alterações estruturais ou citogenéticas, as

quais têm como consequência a hipoprodução celular e/ou o surgimento de linhagens de células anormais (JAMRA e LORENZI, 1997; OLIVEIRA, 1990; RUIZ et al., 1993).

Desta maneira, a exposição crônica a baixas concentrações de benzeno pode produzir uma diminuição reversível nas contagens de células sanguíneas. No entanto, a exposição crônica a elevadas concentrações levaria a depressão irreversível da medula óssea, resultando em anemia, leucopenia, linfocitopenia e/ou trombocitopenia (SYNDER, 2000). Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA), em geral, a exposição crônica a níveis de benzeno entre 100 e 500 ppm pode desencadear depressão da medula óssea e resultar em anemia, leucopenia, trombocitopenia ou pancitopenia. Para depressão da medula óssea, o menor nível observado de efeito adverso (LOAEL) em humanos é de 7,6 ppm ou 22 mg/m<sup>3</sup> (EPA, 1979).

Vários estudos epidemiológicos realizados na última década têm sugerido associação entre a exposição a benzeno e seu metabólito urinário *t,t*-MA e ocorrência de alterações hematológicas, particularmente estudos em trabalhadores expostos a concentrações elevadas de benzeno (DUARTE-DAVIDSON et al., 2001; IBRAHIM et al., 2012; MARTÍNEZ et al., 2014; QU et al., 2003; RAY et al., 2007; TUNSARINGKARN, SOOGARUN e PALASUWAN, 2013; WIWANITKIT, SUWANSAKSRI e SOOGARUM, 2004) (Quadro 2).

Um estudo observou que trabalhadores do Reino Unido com exposições repetidas a concentrações elevadas de benzeno (>320 mg/m<sup>3</sup> ou 100 ppm) apresentaram pancitopenia e anemia aplástica (DUARTE-DAVIDSON et al., 2001). Qu et al. (2003) estudaram trabalhadores chineses de quatro fábricas: uma fábrica de cola, uma fábrica de confecção de calçados, uma empresa de artigos esportivos (trabalhadores expostos ao benzeno) e indústria alimentícia (trabalhadores não expostos), e encontraram uma relação inversa entre os níveis de exposição ocupacional ao benzeno e a contagem de células do sangue, incluindo eritrócitos, leucócitos e neutrófilos.

Ray et al. (2007), em seu estudo de exposição ao benzeno a partir de fontes veiculares e seus impactos na saúde realizado em Calcutá, Índia, investigaram a presença de alterações hematológicas em atendentes de postos de gasolina, mecânicos e num grupo de controles. Em comparação com os controles, os trabalhadores expostos ao benzeno apresentaram redução significativa na concentração de hemoglobina e na

contagem de eritrócitos, linfócitos e plaquetas. Os níveis de *t,t*-MA na urina dos trabalhadores eram 3,8 vezes maiores em comparação com os controles.

No Egito, Ibrahim et al. (2012) investigaram um grupo de homens e mulheres trabalhadores de uma fábrica de decoração de cerâmica, expostos ao benzeno. Foi observado que os trabalhadores apresentavam menor contagem de eritrócitos, leucócitos, plaquetas, menor concentração de hemoglobina e hematócrito quando comparado com um grupo de trabalhadores não expostos ao benzeno. O nível de *t,t*-MA na urina dos trabalhadores expostos foi mais elevado que nos indivíduos não expostos, e particularmente elevado entre os fumantes. Na Tailândia, foi encontrada correlação inversa e significativa entre os níveis urinários de *t,t*-MA e a concentração de hemoglobina, valor do hematócrito, e contagem de leucócitos e plaquetas em trabalhadores de postos de gasolina (TUNSARINGKARN, SOOGARUN e PALASUWAN, 2013). Ainda, indivíduos com maiores níveis de *t,t*-MA na urina tinham uma menor contagem de eosinófilos.

Em estudo mexicano com crianças residentes de áreas próximas a indústrias, foi observada correlação negativa entre a concentração urinária de *t,t*-MA e a contagem de células brancas e vermelhas do sangue e a concentração de hemoglobina corpuscular (MARTÍNEZ et al., 2014).

Em contrapartida, Wiwanitkit, Suwansaksri e Soogarum (2004) não encontraram correlação significativa entre os níveis de *t,t*-MA urinário e contagem de plaquetas em trabalhadores de garagens expostos ao benzeno. No entanto, apesar de não haver significância estatística, a contagem de plaquetas foi menor em trabalhadores com níveis de *t,t*-MA mais elevados.

**Quadro 2.** Resumo dos estudos que avaliaram a associação entre exposição ao benzeno por meio do *t,t*-MA urinário e alterações hematológicas.

Estudo	País	Desenho	População	N	Concentrações de benzeno no ar	Média ± DP do nível de <i>t,t</i> -MA (por L ou g de creatinina)	Alterações hematológicas observadas
Ibrahim et al., 2012	Egito	Seccional	Trabalhadores de fábrica de cerâmica e trabalhadores não expostos	81 expostos 83 não expostos	N.I.	Expostos: 0,22 ± 0,48 mg/g  Não expostos: 0,043 ± 0,008 mg/g	Trabalhadores expostos: ↓ número de leucócitos, plaquetas e eritrócitos; ↓ nível de hemoglobina e hematócrito; ↑ volume corpuscular médio, monócitos e eosinófilos.
Martinez et al., 2014	México	Seccional	Crianças residentes em três áreas com poluição de origem industrial	102 crianças	N.I.	Allende (n=45): 388 µg/g Mundo Nuevo (n=37): 363 µg/g López Mateos (n=20): 369 µg/g	Correlação negativa entre <i>t,t</i> -MA e contagem de leucócitos, eritrócitos, e concentração de hemoglobina corpuscular.
Qu et al., 2003	China	Seccional	Trabalhadores de fábricas de cola, sapatos e artigos esportivos e grupo de trabalhadores não expostos	130 expostos 51 não expostos	Média: 3,2 ppm Min: 0,06 ppm Máx: 122 ppm	Expostos: 1,03-13,3 mg/g  Não expostos: 0,31 ± 0,06 mg/g	Relação inversa entre os níveis de exposição ao benzeno e a contagem de eritrócitos, leucócitos e neutrófilos.
Ray et al., 2007	Índia	Seccional	Atendentes de postos de gasolina e mecânicos e trabalhadores não expostos	50 expostos 35 não expostos	11,5-134,2 µg/m <sup>3</sup>	Expostos: 2,72 ± 0,21 mg/L  Não expostos: 0,71 ± 0,11 mg/L	Trabalhadores expostos: ↓ número de eritrócitos, linfócitos e plaquetas; ↓ nível de hemoglobina; ↑ número de neutrófilos.

Tunsarinkgarn, Soogarun e Palasuwan, 2013	Tailândia	Seccional	Trabalhadores de postos de gasolina	102	N.I.	1,45 mg/g	↓ contagem de eosinófilos. Correlação negativa entre valores de <i>t,t</i> -MA e concentração de hemoglobina, valor do hematócrito, e contagem de leucócitos e plaquetas.
Wiwanitikit, Suwansaksri e Soogarum, 2004	Tailândia	Seccional	Trabalhadores de garagens	30	N.I.	0,71 mg/g	Não foi encontrada correlação significativa entre <i>t,t</i> -MA e a contagem de plaquetas.

↑ Nível ou concentração aumentada; ↓ nível ou concentração diminuída; N.I.: não informado; DP: desvio padrão.

## 2.6. Área de estudo

O município de Açailândia está localizado no oeste do Estado do Maranhão. A área territorial do município corresponde a 5.806,440 km<sup>2</sup> e sua população em 2010 foi estimada em 107.790 habitantes (IBGE, 2010).

O distrito industrial do Piquiá fica localizado a 14 km da sede municipal, às margens da BR 222. O Bairro do Piquiá foi construído no final da década de 1970, com o objetivo de alojar famílias que vinham de vários municípios vizinhos, sobretudo para trabalhar em serrarias. Até a primeira metade dos anos 80, a dinâmica econômica de Açailândia estava relacionada com o desenvolvimento das explorações agrícolas madeireiras e pecuária, cenário que foi modificado com a construção da estrada de Ferro Carajás e a implantação do distrito industrial Piquiá (EVANGELISTA, 2008).

Atraída pelos investimentos na região, as indústrias de ferro-gusa foram instaladas no final da década de 1980, modificando o quadro social, político, econômico e ambiental da região (CANCELA, 1992). Associada à atividade siderúrgica expande-se a produção de carvão vegetal que é o processo produtivo de maior impacto para a região (CARNEIRO, 1992).

A partir daí, Açailândia, bem como o Bairro Piquiá, adentram em um processo de expansão acelerada, e o bairro começa a identificar-se com as primeiras siderúrgicas que nele se instalaram e a consolidar-se como local de residência da maior parte dos trabalhadores ligados às atividades minero-metalúrgicas. Ocorreu então o crescimento do mesmo e ele foi dividido em duas zonas: o Piquiá de Cima e o Piquiá de Baixo.

O Piquiá de Cima fica na margem esquerda da BR 222, onde está localizada a Viena Siderúrgica e as residências dos moradores que possuem maior poder aquisitivo dentro do bairro (Figura 2), e nele moram aproximadamente 602 famílias (IBGE, 2012). No Piquiá de Baixo, onde residem cerca de 320 famílias (IBGE, 2012), estão localizadas as siderúrgicas Gusa Nordeste, Fergumar, Vale do Pindaré e Simasa. Por estarem próximos do complexo siderúrgico, o Piquiá de Cima assim como o Piquiá de Baixo sofrem também os efeitos nocivos da industrialização. A fumaça e as cinzas lançadas no ar e a poeira resultante do transporte e manuseio do carvão espalham-se pelo bairro, sujando a parede das residências de fuligem.



**Figura 2.** Bairro Piquiá de Cima (Fonte: Google Earth)

### 3. JUSTIFICATIVA

O benzeno é um composto cancerígeno para o ser humano relacionado com o desenvolvimento de leucemia e outras alterações hematológicas. A população geral é exposta a este composto principalmente pela inalação do mesmo presente no ar. A atividade siderúrgica e o trânsito de veículos automotores são fontes de emissão de benzeno na atmosfera. Um dos bioindicadores mais utilizados para avaliar a exposição humana a este composto é o ácido *trans,trans*-mucônico (*t,t*-MA) na urina, o qual tem demonstrado sensibilidade suficiente para a monitorização biológica da exposição a baixos níveis de benzeno.

O Piquiá de Cima é um bairro do município de Açailândia onde atualmente residem cerca de 602 famílias. O mesmo está localizado próximo aos muros da Viena siderúrgica. Na margem direita da BR-222 está a estação da estrada de Ferro Carajás, que é um importante meio de transporte para a região, servindo de embarque e desembarque de passageiros e transporte do minério de ferro.

Diante destes aspectos, esta pesquisa visa avaliar a exposição ao benzeno em residentes no bairro Piquiá de Cima, por meio da determinação dos níveis de *t,t*-MA na urina, sua relação com potenciais fontes de exposição ao benzeno e associação com alterações hematológicas em população adulta desta comunidade.

A presente pesquisa poderá fornecer dados importantes que podem ser de grande utilidade tanto na vigilância da exposição ao benzeno quanto na avaliação da saúde da população do bairro de Piquiá de Cima, mediante a detecção de possíveis alterações hematológicas precoces. Os resultados podem configurar como referência para outros estudos relacionados à poluição ambiental e na prevenção da exposição ao benzeno e outros contaminantes nesta comunidade, tendo em vista que a mesma é assolada por baixos índices de desenvolvimento humano, como analfabetismo, ausência de saneamento básico e precariedade das moradias.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo geral**

Determinar os níveis de ácido *t,t*-MA na urina, sua relação com potenciais fontes de exposição ao benzeno, e a associação com alterações hematológicas em população adulta do bairro Piquiá de Cima, Açailândia-MA.

### **4.2. Objetivos específicos**

1. Determinar as concentrações urinárias de ácido *t,t*-MA em população adulta moradora no bairro Piquiá de Cima, Açailândia-MA.
2. Determinar o padrão de distribuição das concentrações do *t,t*-MA na urina em função das características sociodemográficas, de ocupação e de estilo de vida naquela população.
3. Identificar fatores de exposição que influenciam os níveis de *t,t*-MA excretados na urina naquela população.
4. Descrever o padrão de distribuição dos parâmetros do hemograma e a frequência de alterações hematológicas naquela população.
5. Determinar a magnitude de associação entre os níveis urinários de *t,t*-MA e alterações hematológicas.

## **5. METODOLOGIA**

### **5.1. Delineamento**

Foi realizado um estudo observacional, do tipo seccional, em população adulta residente no bairro Piquiá de Cima, no Distrito Industrial da cidade de Açailândia, Maranhão, para avaliar o nível de exposição ao benzeno por meio do biomarcador *t,t*-MA urinário e possíveis efeitos hematológicos.

### **5.2. População de estudo**

#### ***População elegível***

A população de estudo foi selecionada dentre os indivíduos com idade acima de 18 anos, de ambos os sexos, residentes no Piquiá de Cima há pelo menos 1 ano. Na atualidade, o bairro conta com 2.353 moradores, dos quais 1.480 têm mais de 18 anos de idade (SIAB, 2014). Por amostra de conveniência, foram selecionados para participação no estudo 150 indivíduos (10% da população elegível).

#### ***Crítérios de exclusão***

Foram excluídos indivíduos com diagnóstico prévio de doenças hepáticas, doenças metabólicas, malária e neoplasias hematológicas (leucemia e linfoma).

### **5.3. Coleta de dados**

Os indivíduos foram contatados pessoalmente e convidados a participar da pesquisa. Após esclarecimentos dos objetivos do estudo, foram agendadas as entrevistas com os moradores que cumpriam os critérios de inclusão e exclusão e que aceitaram participar do estudo.

As entrevistas e coleta do material biológico foram realizadas no período de 4 a 25 de março de 2015 na Praça Maçaranduba do bairro durante o período da manhã, das 8:00 às 11:00 horas, após a leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO 1). A coleta de sangue foi realizada em conjunto com a coleta da urina, no início da manhã.

Os frascos contendo as amostras de urina e sangue foram cuidadosa e hermeticamente fechados, rotulados (nome, local e data da coleta), e em seguida acondicionados em recipiente de isopor vedado contendo gelo reciclável em seu interior com cuidado de fixação adequada dos frascos de modo a evitar que os mesmos quebrassem ou tombassem durante o transporte. Logo após a coleta as amostras foram transportadas e acondicionadas em freezer até serem posteriormente enviadas para o laboratório de análise. O material biológico foi coletado por dois profissionais da saúde, sendo um deles técnico de laboratório da Climed de Açailândia e um enfermeiro convidado pela pesquisadora.

As entrevistas foram realizadas pela pesquisadora principal do projeto com a colaboração dos agentes de saúde, técnicos em enfermagem e enfermeiros do posto de saúde do bairro, devidamente treinados para tal fim.

### **5.3.1. Questionário**

Durante a entrevista com os participantes, foi administrado um questionário estruturado desenhado especificamente para o presente estudo (ANEXO 2), com uma duração média de aplicação de 30 minutos. O questionário inclui informações sociodemográficas (sexo, idade, naturalidade, etnia, escolaridade, renda, ocupação, estado civil), histórico ocupacional, atividades com risco de exposição a solventes orgânicos, hábitos de fumar e beber, fumo e consumo de bebida alcoólica nas últimas 24 horas, e consumo nas últimas 24 horas de alimentos que poderiam apresentar ácido sórbico como conservante.

### **5.3.2. Análises laboratoriais**

#### **5.3.2.1. Ácido *trans*, *trans*-mucônico**

Após a realização da entrevista com cada participante, foi coletada amostra de urina de 50 mL em frascos de 100 mL de plástico com tampa de rosca, para análise do *t,t*-MA, sendo conduzidas logo após o término das coletas ao laboratório Climed de Açailândia, que encaminhou as amostras de urina para o laboratório Hermes Pardini em

Belo Horizonte, laboratório que trabalha em parceria com a Climed na execução de análises cromatográficas para a determinação do ácido *t,t*-MA.

A determinação das concentrações de *t,t*-MA na urina foram realizadas por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC). Resumidamente, 0,5 mL de urina foram misturados com 2 mL de solução tampão. Esta mistura foi percolada através de uma coluna de permuta iônica pré-condicionada (Dowex I, com 100-200 mesh, 1 cm de diâmetro, a 10 cm de altura). Depois a coluna foi lavada com solução de ácido fosfórico, tampão de acetato e água desionizada, o analito foi eluído em 2 mL de uma solução compreendendo volumes iguais de solução de cloreto de sódio 1,5 M e metanol. Deste, 10 µL foram injetados numa coluna de HPLC (Lichrocart 125x4mm 100RP-18 5UM). O limite mínimo de detecção de *t,t*-MA foi de 0,003 mg/mL. Também foram determinadas neste laboratório as concentrações de creatinina urinária para correção dos níveis do metabólito pela diluição da urina. Valores abaixo de 0,2 g/L e acima de 3,0 g/L foram considerados alterados para correção.

### 5.3.2.2. Hemograma

As amostras de sangue foram coletadas por meio de punção venosa, utilizando seringa de 10 mL descartável de plástico. As amostras foram coletadas em um volume de 5 mL e acondicionadas em tubos de potássio com anticoagulante EDTA e conservadas em caixa térmica.

Foi realizado hemograma completo para determinação da concentração de hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), variação do tamanho entre as hemácias (RDW), contagem de eritrócitos, leucócitos, bastonetes, segmentados, linfócitos típicos e atípicos, monócitos, eosinófilos, basófilos, metamielócitos, mielócitos, promielócitos, blastos e plaquetas.

Os valores de referência do laboratório Climed de Açailândia para os parâmetros do hemograma são apresentados no Quadro 3.

**Quadro 3.** Valores de referência do hemograma para adultos

	<b>Homens</b>	<b>Mulheres</b>
<b>Eritrócitos (milhões/mm<sup>3</sup>)</b>	4,5-5,9	4,0-5,2
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	13,5-17,5	12,0-16,0
<b>Hematócrito (%)</b>	41,0-53,0	36,0-46,0
<b>VCM (fL)</b>	80,0-100,0	
<b>HCM (pg)</b>	26,0-34,0	
<b>CHCM (g/dL)</b>	31,0-37,0	
<b>RDW (%)</b>	11-16	
<b>Leucócitos (mil/mm<sup>3</sup>)</b>	4,0-10,0	3,5-10,0
<b>Bastonetes (%)</b>	1-5	
<b>Segmentados (%)</b>	50-75	
<b>Linfócitos típicos (%)</b>	20-45	
<b>Linfócitos atípicos (%)</b>	0	
<b>Monócitos (%)</b>	2-10	
<b>Eosinófilos (%)</b>	1-4	
<b>Basófilos (%)</b>	0-1	
<b>Metamielócitos (%)</b>	0	
<b>Mielócitos (%)</b>	0	
<b>Promielócitos (%)</b>	0	
<b>Blastos (%)</b>	0	
<b>Plaquetas (mil/mm<sup>3</sup>)</b>	140-400	

#### 5.4. Análise estatística dos dados

Os dados obtidos no trabalho de campo foram armazenados em bancos de dados construídos com essa finalidade. Primeiramente foi feita a análise descritiva das características sociodemográficas da população de estudo, hábito de fumar e beber, ocupação e exposição a solventes orgânicos e consumo de alimentos nas últimas 24 horas, por meio da sua distribuição de frequências.

As concentrações urinárias de *t,t*-MA foram categorizadas da seguinte forma: níveis não detectados, níveis detectados inferiores ou iguais a 0,5 mg/g (valor de referência estabelecido pelo MTE para população sem exposição ocupacional a benzeno), e níveis maiores que 0,5 mg/g. Assim, os níveis do metabólito foram primeiramente descritos por sua distribuição de frequências, usando tais pontos de corte. Em seguida, foi calculada a média, mediana, percentis 25 e 75, e valores mínimo e máximo das concentrações quantificadas. Os parâmetros do hemograma foram descritos

por meio do cálculo da média, mediana e percentis 25 e 75, assim como foi calculada a frequência de alterações hematológicas, tais como anemia, leucopenia e trombocitopenia, na população total, e em homens e mulheres, usando como pontos de corte os valores de referência do laboratório.

A normalidade das variáveis contínuas (parâmetros do hemograma e níveis de *t,t*-MA) foi testada utilizando os testes Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk. Foram realizadas análises bivariadas entre as características da população, níveis de *t,t*-MA (categorizados) e presença de alterações hematológicas mediante os testes de qui-quadrado de Pearson e exato de Fisher, para comparação da distribuição de frequências entre os grupos. Para comparar a distribuição dos valores do hemograma entre os grupos de *t,t*-MA (<LD, LD-0,5 e >0,5 mg/g) para parâmetros com distribuição não normal foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e para variáveis com distribuição normal o teste paramétrico de comparação de médias One-Way ANOVA. Foi realizada análise de correlação entre os valores do hemograma e concentrações detectadas de *t,t*-MA utilizando o teste de Spearman.

Para a identificação de fatores de exposição ao benzeno associados aos níveis de *t,t*-MA na urina, foi realizada análise multivariada usando a técnica de regressão logística, sendo a variável dependente a presença ou ausência de níveis detectados do metabólito. Foi selecionado o modelo com o maior valor de R<sup>2</sup> (coeficiente de determinação), introduzindo aquelas variáveis associadas com o nível do biomarcador com um nível de significância de p-valor<0,20 na bivariada e sendo mantidas as variáveis significativas no modelo (p-valor <0,05).

A magnitude de associação entre o nível do ácido *t,t*-MA e parâmetros do hemograma e presença de alterações hematológicas foi estimada mediante análise de regressão linear e logística, respectivamente. Para cada desfecho, foi calculado o coeficiente de regressão (parâmetros hematológicos em contínuo) ou a odds ratios (OR) (alterações hematológicas), e seu respectivo intervalo de confiança de 95%, ajustada pelo sexo, idade e cor da pele, variáveis identificadas na literatura.

Foi utilizado o programa estatístico *Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows*, versão 20, para realização das análises estatísticas dos dados coletados.

### **5.5. Aspectos éticos**

Os objetivos do estudo foram esclarecidos aos moradores em visitas às residências do bairro pela pesquisadora e as agentes de saúde que atendiam a localidade, onde foram apresentadas a equipe técnica que seria responsável pela realização do trabalho.

A entrevista e a coleta de material biológico foram realizadas com a prévia leitura e assinatura do TCLE. Os participantes foram informados sobre os objetivos da pesquisa, o sigilo de suas identidades quanto aos resultados encontrados e que sua recusa em participar não lhes incorreria em prejuízo sob nenhum aspecto. Os resultados do hemograma e do teste de urina foram entregues aos participantes em mãos, pelos agentes de saúde que trabalhavam no Bairro.

As atividades programadas no projeto de pesquisa foram iniciadas após submissão e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Nacional de Saúde Pública/Fiocruz, protocolo CEP/ENSP N° 727.371/2014, CAAE: 32335014.1.0000.5240.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Características da população de estudo

Com base na análise dos dados obtidos a partir da aplicação dos questionários à população que aceitou participar do estudo foram elaboradas as estatísticas descritivas que estão relacionadas abaixo na forma de tabelas de frequência, que versam sobre as características sociodemográficas, de estilo de vida e ocupação dos moradores do bairro Piquiá de Cima.

Na Tabela 1 observa-se que a maioria dos moradores do Piquiá de Cima que participaram do estudo era do sexo feminino e metade dos homens e mulheres tinha idade entre 30 e 49 anos. A idade média de todos participantes foi de 39 anos, com idade mínima de 18 e máxima de 73 anos. Metade dos indivíduos se autodeclarou pertencer à etnia parda ou ser indígena, e a maioria afirmou ser oriunda de outro município, particularmente os homens. A maioria dos homens e um pouco mais da metade das mulheres entrevistadas, respectivamente, apresentava apenas o ensino fundamental e possuía renda média entre 1.000 e 1.500 reais. Aproximadamente dos terços dos participantes eram casados. A grande maioria dos entrevistados não trabalhava, particularmente as mulheres, metade convivia com até duas pessoas, e uma terceira parte residia no bairro há pelo menos 5 anos.

**Tabela 1.** Características da população de estudo, Piquiá de Cima, Açailândia-MA (N=150).

<b>Variáveis</b>	<b>HOMENS</b>	<b>MULHERES</b>
<b>N (%)</b>	27 (18)	123 (82)
<b>Idade (anos)</b>		
<b>18-29</b>	4 (15)	36 (29)
<b>30-49</b>	13 (48)	61 (50)
<b>≥50</b>	10 (37)	25 (21)
<b>Cor da pele</b>		
<b>Branco</b>	5 (19)	27 (22)
<b>Negro</b>	3 (12)	12 (10)
<b>Pardo ou índio</b>	15 (56)	64 (52)
<b>Naturalidade</b>		

<b>Açailândia</b>	1 (4)	23 (20)
<b>Outros</b>	26 (96)	98 (80)
<b>Escolaridade</b>		
<b>Superior completo</b>	1 (4)	2 (2)
<b>Médio completo</b>	4 (15)	49 (40)
<b>Fundamental</b>	20 (74)	69 (56)
<b>Estado civil</b>		
<b>Solteiro</b>	7 (26)	29 (24)
<b>Casado</b>	18 (67)	77 (63)
<b>Viúvo ou separado</b>	1 (4)	10 (8)
<b>Renda familiar (reais)</b>		
<b>Até 500</b>	1 (4)	2 (2)
<b>501 a 1.000</b>	4 (15)	50 (41)
<b>1.001 a 1.500</b>	20 (74)	68 (55)
<b>Ocupação atual</b>		
<b>Empregado</b>	12 (44)	36 (29)
<b>Não trabalha</b>	15 (55)	87 (71)
<b>Número de pessoas que convive</b>		
<b>Até 2</b>	13 (48)	67 (54)
<b>3</b>	7 (26)	26 (21)
<b>4 ou mais</b>	5 (18)	19 (15)
<b>Tempo de residência no Pequiá</b>		
<b>Até 2 anos</b>	7 (26)	29 (23)
<b>3-4 anos</b>	12 (44)	56 (45)
<b>5 ou mais anos</b>	8 (29)	38 (31)

A Tabela 2 mostra a frequência do tabagismo e do consumo de bebidas alcoólicas na população. Em relação ao hábito de fumar, 11% dos entrevistados eram fumantes e 20% ex-fumantes. Entre os fumantes, 8 afirmaram ter fumado 10 ou mais cigarros nas 24 horas anteriores à coleta de urina e 6 fumaram entre 1 e 9 cigarros. Em relação aos anos de tabagismo, metade dos fumantes e ex-fumantes relataram ter fumado durante 20 ou mais anos. Entre os não fumantes, a maioria dos entrevistados afirmou não ser fumante passivo.

Quanto a ingestão de bebidas alcoólicas, 27% da população declarou ter hábito de beber e 4 indivíduos ingeriram álcool nas 24 horas que antecederam a coleta da urina para a determinação do *t,t*-MA.

**Tabela 2.** Tabagismo e consumo de bebida alcoólica.

<b>Variáveis</b>	<b>N (%)</b>
<b>Tabagismo</b>	
<b>Nunca fumou</b>	103 (69)
<b>Ex-fumante</b>	30 (20)
<b>Fumante</b>	17 (11)
<b>Nº cigarros por dia (N=17), min-máx.</b>	1-20
<b>Quantidade de cigarros nas últimas 24 horas</b>	
<b>Nenhum</b>	135 (91)
<b>1-9</b>	6 (4)
<b>≥10</b>	9 (5)
<b>Anos de tabagismo (N=40)</b>	
<b>1-9</b>	14 (35)
<b>10-19</b>	7 (17)
<b>≥20</b>	19 (48)
<b>Fumo passivo (N=133)</b>	
<b>Sim</b>	23 (17)
<b>Não</b>	110 (83)
<b>Consumo de bebida alcoólica</b>	
<b>Sim</b>	41 (28)
<b>Não</b>	109 (72)
<b>Bebeu álcool nas últimas 24 horas</b>	
<b>Sim</b>	4 (3)
<b>Não</b>	146 (97)

De acordo com os dados da Tabela 3, 7% da população do estudo tinha profissão com risco de exposição a solventes orgânicos. Dentre os indivíduos que manipularam solventes antes ou durante a jornada de trabalho, 14 foram expostos mediante a utilização de produtos de limpeza, 4 por uso de vernizes e/ou tintas, e 2 indivíduos por meio de uso de cola. Aproximadamente, um terço dos entrevistados declarou ter andado de carro ou ônibus nas últimas 24 horas, e entre os que o fizeram, 10% permaneceu no interior do veículo mais de 30 minutos.

Quanto à prática de atividade de lazer com risco de exposição a solventes orgânicos, a maioria não realizou este tipo de atividade. Entre os indivíduos que as realizaram, a maioria praticava pintura ou artesanato. Finalmente, 17% afirmaram ter reformado ou pintado a casa recentemente (Tabela 3).

**Tabela 3.** Exposição a solventes orgânicos.

<b>Variáveis</b>	<b>N (%)</b>
<b>Exposição ocupacional a solventes orgânicos</b>	
<b>Não</b>	139 (93)
<b>Sim</b>	10 (7)
<b>Manipulou solventes orgânicos no trabalho*</b>	
<b>Não manipulou</b>	130 (87)
<b>Vernizes e tintas</b>	4 (3)
<b>Cola</b>	2 (1)
<b>Produtos de limpeza</b>	14 (9)
<b>Gasolina</b>	0 (0)
<b>Andou de carro ou ônibus nas últimas 24 horas</b>	
<b>Não</b>	110 (74)
<b>Sim</b>	40 (26)
<b>Tempo de permanência interior do veículo (N=40)</b>	
<b>Até 30 minutos</b>	25 (17)
<b>Mais de 30 minutos</b>	15 (10)
<b>Prática regular atividade de lazer com exposição a solventes orgânicos</b>	
<b>Não</b>	126 (84)
<b>Sim</b>	24 (16)
<b>Tipo de atividade de lazer que pratica (N=24)</b>	
<b>Pintura</b>	9 (6)
<b>Artesanato</b>	11 (7)
<b>Restauração de móveis</b>	4 (3)
<b>Reformou ou pintou a casa recentemente</b>	
<b>Não</b>	124 (83)
<b>Sim</b>	26 (17)

\*Antes ou durante a jornada de trabalho

Quanto à ingestão de alimentos nas últimas 24 horas, destaca-se a margarina, refrigerante e refresco, consumidos por mais de 20% dos entrevistados, respectivamente (Tabela 4).

**Tabela 4.** Consumo de alimentos industrializados nas últimas 24 horas.

<b>Variáveis</b>	<b>N (%)</b>	<b>Nº de fatias ou doses Média</b>
<b>Queijo</b>		
<b>Não</b>	128 (85)	
<b>Sim</b>	22 (15)	2
<b>Margarina</b>		

<b>Não</b>	101 (67)	
<b>Sim</b>	49 (33)	2
<b>Castanha</b>		
<b>Não</b>	149 (99)	
<b>Sim</b>	1 (1)	1
<b>Peixe defumado</b>		
<b>Não</b>	146 (97)	
<b>Sim</b>	4 (3)	1
<b>Tempero para salada</b>		
<b>Não</b>	132 (88)	
<b>Sim</b>	18 (12)	1
<b>Refrigerante</b>		
<b>Não</b>	115 (77)	
<b>Sim</b>	35 (23)	4
<b>Refresco</b>		
<b>Não</b>	111 (74)	
<b>Sim</b>	39 (26)	3
<b>Vinho</b>		
<b>Não</b>	146 (97)	
<b>Sim</b>	4 (3)	1
<b>Verdura em conserva</b>		
<b>Não</b>	138 (92)	
<b>Sim</b>	12 (8)	2

---

## 6.2. Níveis de ácido *trans, trans*-mucônico na urina.

A frequência de detecção de *t,t*-MA na urina foi de 27% (Tabela 5). Entre os moradores com níveis acima do limite de detecção, 24% apresentaram concentrações até 0,5 mg/g de creatinina, valor de referência estabelecido pela portaria 34/2001 do Ministério de Trabalho e Emprego para população sem exposição ocupacional ao benzeno, e apenas 3% da população apresentando concentração superior a 0,5 mg/g. A média aritmética e a mediana dos níveis detectados foram de 0,15 mg/g e 0,10 mg/g, respectivamente.

**Tabela 5.** Distribuição dos níveis urinários de ácido *trans, trans*-mucônico

	N (%)
<LD	109 (73)
LD-0,5 mg/g*	37 (24)
>0,5 mg/g*	4 (3)
mg/g de creatinina**	
Média	0,15
Mediana	0,10
Percentil 25	0,05
Percentil 75	0,16
Min-máx.	0,01-0,78

LD: limite de detecção (0,003 mg/mL ou 0,05 mg/g)

\*Valor de referência estabelecido pela portaria 34/2001 do MTE para população não exposta ocupacionalmente ao benzeno.

\*\*Estatística descritiva dos níveis >LD.

### 6.3. Valores do hemograma

A Tabela 6 mostra a média e os quartis dos valores dos parâmetros do hemograma. Observa-se ausência de linfócitos atípicos, basófilos, metamielócitos, mielócitos, promielócitos e blastos.

**Tabela 6.** Estatística descritiva dos parâmetros do hemograma (N=150).

Parâmetros	Média	Percentil 25	Percentil 50	Percentil 75
Eritrócitos (milhões/mm <sup>3</sup> )	4,4	4,2	4,4	4,6
Hemoglobina (g/dL)	13,0	12,2	12,9	13,7
Hematócrito (%)	40,2	38,1	40,1	42,1
VCM (fL)	90,9	88,0	91,3	94,4
HCM (pg)	29,4	28,6	29,6	30,5
CHCM (g/dL)	32,3	31,7	32,4	33,0
RDW (%)	12,9	12,2	12,8	13,4
Leucócitos (mil/mm <sup>3</sup> )	6798	5633	6610	8003
Bastonetes (%)	1,0	0	1,0	1,2
Segmentados (%)	57	52	58	63
Linfócitos típicos (%)	35	29	33	40
Linfócitos atípicos (%)	0	0	0	0
Monócitos (%)	4	3	3	4
Eosinófilos (%)	4	2	4	5
Basófilos (%)	0	0	0	0

<b>Metamielócitos (%)</b>	0	0	0	0
<b>Mielócitos (%)</b>	0	0	0	0
<b>Promielócitos (%)</b>	0	0	0	0
<b>Blastos (%)</b>	0	0	0	0
<b>Plaquetas (mil/mm<sup>3</sup>)</b>	228	188	220	261

Tomando como ponto de corte os valores de referência do laboratório, as alterações mais frequentes na população de estudo foram: bastonetes baixos (41%), seguido de eosinofilia (33%), níveis reduzidos de hemoglobina (19%), segmentados baixos (19%), hematócrito reduzido (11%) e linfocitose (10%). A frequência de segmentados baixos foi maior em mulheres (p-valor=0,08), enquanto homens tiveram maior frequência de valores baixos do hematócrito (p-valor=0,04) e de eritrócitos (p-valor=0,004) (Tabela 7).

**Tabela 7.** Frequência de alterações hematológicas.

	<b>Total (%)</b>	<b>Homens (%)</b>	<b>Mulheres (%)</b>
<b>N</b>	150	27	123
<b>Eritrócitos baixos</b>	14 (9,3)	7 (26,0)	7 (6,0)**
<b>Hematócrito baixo</b>	16 (10,7)	6 (22,0)	10 (8,0)**
<b>Hemoglobina baixa</b>	29 (19,3)	8 (29,0)	21 (17,0)
<b>VCM baixo</b>	3 (2,0)	0	3 (2,0)
<b>HCM baixo</b>	4 (2,7)	0	4 (3,3)
<b>CHCM baixo</b>	7 (4,7)	1 (3,7)	6 (4,9)
<b>RDW baixo</b>	0	0	0
<b>RDW elevado</b>	2 (1,3)	0	2 (1,6)
<b>Leucopenia</b>	1 (0,7)	0	1 (0,8)
<b>Leucocitose</b>	8 (5,3)	2 (7,4)	6 (4,9)
<b>Bastonetes baixos</b>	62 (41,3)	10 (37,0)	52 (42,3)
<b>Bastonetes elevados</b>	0	0	0
<b>Segmentados baixos</b>	29 (19,3)	2 (7,4)	27 (22,0)*
<b>Segmentados elevados</b>	1 (0,7)	0	1 (0,8)
<b>Linfopenia</b>	3 (2,0)	0	3 (2,4)
<b>Linfocitose</b>	15 (10,0)	1 (3,7)	14 (11,4)
<b>Presença linfócitos atípicos</b>	0	0	0
<b>Monocitopenia</b>	2 (1,3)	0	2 (1,6)
<b>Monocitose</b>	0	0	0
<b>Eosinopenia</b>	0	0	0
<b>Eosinofilia</b>	49 (32,7)	9 (33,3)	40 (32,5)
<b>Basófilos baixos</b>	0	0	0

\*Teste de chi-quadrado entre homens e mulheres: p-valor <0,05

\*\*Teste de chi-quadrado entre homens e mulheres: p-valor <0,10

## 6.4. Análise bivariada

### 6.4.1. Níveis de ácido *trans, trans*-mucônico e características da população.

Na análise bivariada entre os níveis urinários de *t,t*-MA e as características sociodemográficas da população, evidenciou-se diferença estatisticamente significativa na distribuição dos níveis de *t,t*-MA em função da cor da pele, sendo que a frequência de níveis não detectados foi maior entre os negros (100%), seguido de pardos/índios (71%) e brancos (59%). Não foram observadas diferenças significativas nos níveis do biomarcador em função das demais características (Tabela 8).

**Tabela 8.** Distribuição de frequência (%) dos níveis urinários de ácido *trans, trans*-mucônico em função das características sociodemográficas da população.

Variáveis	<i>t,t</i> -MA			p-valor*
	<LD	LD-0,5 mg/g	>0,5 mg/g	
<b>Sexo</b>				
Masculino	74,1	25,9	0	0,63
Feminino	72,4	24,4	3,3	
<b>Idade</b>				
18-29	70,0	30,0	0	0,74
30-49	75,7	26,1	2,7	
≥50	71,4	25,7	2,9	
<b>Cor da pele</b>				
Branco	59,4	40,6	0	0,03
Negro	100	0	0	
Pardo ou índio	71,0	25,3	4,0	
<b>Naturalidade</b>				
Açailândia	75,0	25,0	0	0,74
Outros	72,6	25,0	2,4	
<b>Escolaridade</b>				
Superior	66,7	33,3	0	0,31
Médio completo	67,9	32,1	0	
Fundamental	75,3	20,2	4,5	
<b>Estado civil</b>				
Solteiro	75,0	25,0	0	0,59
Casado	71,6	25,3	3,2	
Viúvo/separado	63,6	27,3	9,1	
<b>Renda familiar (reais)</b>				

<b>Até 500</b>	66,7	33,3	0	
<b>501 a 1.000</b>	68,5	31,5	0	0,33
<b>1.001 a 1.500</b>	75,0	20,5	4,5	
<b>Número de pessoas que convive</b>				
<b>Até 2</b>	71,2	26,2	2,5	
<b>3</b>	75,8	21,2	3,0	0,86
<b>4 ou mais</b>	62,5	33,3	4,2	
<b>Tempo de residência no bairro</b>				
<b>Até 2 anos</b>	66,7	30,6	2,8	
<b>3-4 anos</b>	73,5	22,1	4,4	0,56
<b>5 ou mais anos</b>	76,1	23,9	0	

LD: limite de detecção

\*Teste de chi-quadrado de Pearson.

Os dados de distribuição de frequência dos níveis urinários de *t,t*-MA em função do hábito de fumar e do consumo de bebida alcoólica revelaram uma relação entre o nível de *t,t*-MA e a quantidade de cigarros fumados nas 24 horas que antecederam a coleta do material biológico, sendo que entre os indivíduos que fumaram entre 1 e 9 cigarros, a frequência de níveis acima de 0,5 mg/g foi maior comparada à daqueles que não fumaram nas últimas 24 horas (17% *versus* 2%). Porém, todos os que fumaram mais de 9 cigarros não tiveram o *t,t*-MA detectado (Tabela 9). As outras variáveis de tabagismo e bebida alcoólica não estavam associadas com os níveis do biomarcador.

**Tabela 9.** Distribuição de frequência (%) dos níveis urinários de ácido *trans, trans*-mucônico em função do hábito de fumar e o consumo de bebida alcoólica.

Variáveis	<i>t,t</i> -MA			p-valor*
	<LD	LD-0,5 mg/g	>0,5 mg/g	
<b>Tabagismo</b>				
<b>Nunca fumou</b>	68,9	29,1	1,9	
<b>Ex-fumante</b>	76,7	20,0	3,3	0,26
<b>Fumante</b>	88,2	5,9	5,9	
<b>Quantidade de cigarros 24 horas</b>				
<b>Nenhum</b>	71,1	26,7	2,2	
<b>1-9</b>	83,3	0	16,7	<b>0,05</b>
<b>≥10</b>	100	0	0	

<b>Anos de tabagismo</b>				
Nenhum	68,9	29,1	1,9	0,47
1-9	71,4	21,4	7,1	
10-20	71,4	28,6	0	
≥20	84,2	10,5	5,3	
<b>Fumo passivo</b>				
Não	72,5	24,2	3,3	0,83
Sim	72,4	27,6	0	
<b>Consumo de bebida alcoólica</b>				
Não	71,6	25,7	2,8	0,88
Sim	75,6	22,0	2,4	
<b>Bebeu álcool nos últimos 30 dias</b>				
Não	74,4	23,1	2,6	0,68
Sim	66,7	30,3	3,0	
<b>Bebeu álcool nas últimas 24 horas</b>				
Não	72,6	24,7	2,7	0,94
Sim	75,0	25,0	0	

LD: limite de detecção

\*Teste de qui quadrado de Pearson

Na Tabela 10 verifica-se que a frequência de detecção do metabólito nos moradores que afirmaram praticar regularmente algum tipo de atividade de lazer com exposição a solventes orgânicos foi de 50%, enquanto nos indivíduos que não praticavam este tipo de atividades, a frequência foi de 23%, sendo esta diferença estatisticamente significativa (p-valor=0,006).

**Tabela 10.** Distribuição de frequência (%) dos níveis urinários de ácido *trans, trans*-mucônico em função da exposição a solventes orgânicos.

Variáveis	<i>t,t</i> -MA			p-valor*
	<LD	LD-0,5 mg/g	>0,5 mg/g	
<b>Exposição ocupacional a solventes orgânicos</b>				
Não	80,0	20,0	0	0,79
Sim	71,9	25,2	2,9	
<b>Manipulou solventes orgânicos no trabalho</b>				
Não	70,0	30,0	0	0,63
Sim	73,1	23,8	3,1	

<b>Andou de carro ou ônibus nas últimas 24 horas</b>				
Não	75,5	22,0	2,7	0,40
Sim	65,0	32,5	2,5	
<b>Tempo de permanência interior veículo</b>				
Até 30 minutos	72,0	28,0	0	0,36
Mais de 30 minutos	53,3	40,0	6,7	
<b>Pratica regularmente atividade de lazer com exposição a solventes orgânicos</b>				
Não	77,0	19,8	3,2	0,006
Sim	50,0	50,0	0	
<b>Tipo de atividade de lazer que pratica</b>				
Pintura	44,4	55,6	0	
Artesanato	54,5	45,5	0	0,10
Restauração de móveis	50,0	50,0	0	
<b>Reformou ou pintou a casa recentemente</b>				
Não	75,0	22,6	2,4	0,37
Sim	61,5	34,6	3,8	

LD: limite de detecção

\*Teste de qui quadrado de Pearson

Em relação ao consumo de alimentos que podem conter ácido sórbico nas últimas 24 horas, foram encontradas diferenças na distribuição dos níveis de *t,t*-MA em função do consumo de refrigerante e refresco (Tabela 11). Moradores que beberam refrigerante apresentaram níveis mais elevados de *t,t*-MA comparado aos que não beberam (p-valor=0,05), enquanto que entre aqueles que consumiram refresco a frequência de níveis não detectados e inferiores a 0,5 mg/g foi maior (p-valor=0,02).

**Tabela 11.** Níveis de ácido *trans*, *trans*-mucônico e consumo de alimentos industrializados.

Variáveis	<i>t,t</i> -MA			p-valor*
	<LD	LD-0,5 mg/g	>0,5 mg/g	
<b>Queijo</b>				
Não	73,4	24,2	2,3	0,78
Sim	68,2	27,3	4,5	
<b>Margarina</b>				
Não	76,2	20,8	3,0	0,28
Sim	65,3	32,7	2,0	

<b>Castanha</b>				
Não	72,5	24,8	2,7	0,83
Sim	100,0	0	0	
<b>Peixe defumado</b>				
Não	72,6	24,7	2,7	0,94
Sim	75,0	25,0	0	
<b>Tempero para salada</b>				
Não	71,2	25,8	3,0	0,50
Sim	83,3	16,7	0	
<b>Refrigerante</b>				
Não	77,4	20,0	2,6	0,05
Sim	57,1	40,0	2,9	
<b>Refresco</b>				
Não	66,7	29,7	3,6	0,02
Sim	89,7	10,3	0	
<b>Vinho</b>				
Não	74,0	23,3	2,7	0,06
Sim	25,0	75,0	0	
<b>Verdura em conserva</b>				
Não	73,2	23,9	2,9	0,67
Sim	66,7	33,3	0	

LD: limite de detecção

\*Teste de qui quadrado de Pearson

#### 6.4.2. Frequência de alterações hematológicas e características sociodemográficas da população.

A Tabela 12 retrata a distribuição de frequências das principais alterações hematológicas encontradas na população que participou do estudo em relação às características sociodemográficas. Além da maior frequência de eritrócitos baixos na população masculina (p-valor<0,001), evidencia-se que todos os moradores que apresentavam contagem elevada de plaquetas eram naturais da cidade de Açaílândia (p-valor=0,02). Observa-se também uma maior frequência de eosinofilia entre os casados e os separados ou viúvos, de 42 e 45%, respectivamente, comparado aos indivíduos solteiros (8%) (p-valor=0,001).

Foi observada também relação entre eritrócitos baixos e escolaridade e renda, entre leucocitose e naturalidade, escolaridade e renda, e entre eosinofilia e idade, porém sem significância estatística.

**Tabela 12.** Frequência de alterações hematológicas (%) em função das características sociodemográficas da população.

	Eritrócitos baixos			Hemoglobina baixa			Leucopenia			Leucocitose			Eosinopenia			Eosinofilia			Trombocitopenia			Trombocitose		
	Não	Sim	P-valor	Não	Sim	P-valor	Não	Sim	P-valor	Não	Sim	P-valor	Não	Sim	P-valor	Não	Sim	P-valor	Não	Sim	P-valor	Não	Sim	P-valor
<b>Sexo</b>																								
<b>Masculino</b>	74,1	25,9	<0,001	70,4	29,6	0,13	100,0	0	0,63	92,6	7,4	0,61	100,0	0	—	66,7	33,3	1	100,0	0	—	100,0	0	0,64
<b>Feminino</b>	94,3	5,7		82,9	17,1		99,2	0,8		95,0	5,0		100,0	0		66,7	33,3		100,0	0		99,2	0,8	
<b>Idade</b>																								
<b>18-29</b>	95,0	5,0	0,53	82,5	17,5	0,83	100,0	0	0,20	92,3	7,7	0,66	100,0	0	—	72,5	27,5	0,09	100,0	0	—	97,5	2,5	0,25
<b>30-49</b>	89,2	10,8		81,1	18,9		100,0	0		94,5	5,5		100,0	0		70,3	29,7		100,0	0		100,0	0	
<b>≥50</b>	88,6	11,4		77,1	22,9		97,1	2,9		97,1	2,9		100,0	0		51,4	48,6		100,0	0		100,0	0	
<b>Cor da pele</b>																								
<b>Branco</b>	90,6	9,4	0,91	78,1	21,9	0,76	100,0	0	0,75	93,5	6,5	0,77	100,0	0	—	78,1	21,9	0,43	100,0	0	—	96,9	3,1	0,23
<b>Negro</b>	86,7	13,3		86,7	13,3		100,0	0		92,9	7,1		100,0	0		66,7	33,3		100,0	0		100,0	0	
<b>Pardo/índio</b>	88,6	11,4		82,3	17,7		98,7	1,3		96,2	3,8		100,0	0		65,8	34,2		100,0	0		100,0	0	
<b>Naturalidade</b>																								
<b>Açailândia</b>	91,7	8,3	0,84	75,0	25,0	0,46	100,0	0	0,66	87,0	13,0	0,08	100,0	0	—	75,0	25,0	0,32	100,0	0	—	95,8	4,2	0,02
<b>Outros</b>	90,3	9,7		81,5	18,5		99,2	0,8		95,9	4,1		100,0	0		64,5	35,5		100,0	0		100,0	0	
<b>Escolaridade</b>																								
<b>Superior</b>	66,7	33,3	0,09	66,7	33,3	0,76	100,0	0	0,73	100	0	0,06	100,0	0	—	100	0	0,26	100,0	0	—	100,0	0	0,73
<b>Médio</b>	96,2	3,8		79,2	20,8		100,0	0		88,5	11,5		100,0	0		71,7	28,3		100,0	0		100,0	0	
<b>Fundamental</b>	87,6	12,4		82,0	18,0		98,9	1,1		97,8	2,2		100,0	0		62,9	37,1		100,0	0		98,9	1,1	
<b>Estado civil</b>																								
<b>Solteiro</b>	94,4	5,6	0,31	80,60	19,4	0,80	100,0	0	0,78	91,7	8,3	0,56	100,0	0	—	91,7	8,3	0,001	100,0	0	—	100,0	0	0,78
<b>Casado</b>	88,4	11,6		81,1	18,9		98,9	1,1		94,7	5,3		100,0	0		57,9	42,1		100,0	0		98,9	1,1	
<b>Viúvo/</b>	100,0	0,0		72,7	27,3		100,0	0		100,0	0		100,0	0		54,5	45,5		100,0	0		100,0	0	

separado

**Renda familiar (\$R)**

<b>Até 500</b>	66,7	33,3		66,7	33,3		100,0	0		100,0	0		100,0	0		100,0	0		100,0	0		100,0	0	
<b>500 a 1.000</b>	96,3	3,7	0,08	79,6	20,4	0,78	100,0	0	0,72	88,7	11,3	0,07	100,0	0	—	72,2	27,8	0,23	100,0	0	—	100,0	0	0,73
<b>1.001 a 1.500</b>	87,5	12,5		81,8	18,2		98,9	1,1		97,7	2,3		100,0	0		62,5	37,5		100,0	0		98,9	1,1	

**Nº pessoas que convive**

<b>Até 2</b>	90,0	10,0		78,2	21,2		98,7	1,3		96,2	3,8		100,0	0		62,5	37,5		100,0	0		98,2	1,2	
<b>3</b>	90,9	9,1	0,91	84,8	15,2	0,63	100,0	0	0,69	87,9	12,1	0,21	100,0	0	—	57,6	42,4	0,21	100,0	0	—	100,0	0	0,70
<b>4 ou mais</b>	87,5	12,5		75,0	25,0		100,0	0		95,8	4,2		100,0	0		79,2	20,8		100,0	0		100,0	0	

**Tempo de residência**

<b>Até 2 anos</b>	88,9	11,1		75,0	25,0		100,0	0		94,4	5,6		100,0	0		72,2	27,8		100,0	0		100,0	0	
<b>3-4 anos</b>	89,7	10,3	0,73	80,9	19,1	0,54	98,5	1,5	0,53	92,4	7,6	0,46	100,0	0	—	66,2	33,8	0,68	100,0	0	—	98,5	1,5	0,54
<b>5 ou mais anos</b>	93,5	6,5		84,8	15,2		100,0	0		97,8	2,2		100,0	0		63,0	37,0		100,0	0		100,0	0	

p-valor: teste de qui quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher.

### 6.4.3. Níveis de ácido *trans*, *trans*-mucônico e parâmetros hematológicos

Não foi encontrada nenhuma correlação estatisticamente significativa entre os níveis de *t,t*-MA e os parâmetros do hemograma para os 41 moradores com concentração de *t,t*-MA detectada e quantificada (Tabela 13).

**Tabela 13.** Correlação entre os níveis de ácido *trans*, *trans*-mucônico e os parâmetros do hemograma\*

<b>Parâmetros</b>	<b>r</b>	<b>p-valor</b>
<b>Eritrócitos (milhões/mm<sup>3</sup>)</b>	-0,24	0,13
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	0,08	0,63
<b>Hematócrito (%)</b>	-0,05	0,73
<b>VCM (fL)</b>	0,22	0,16
<b>HCM (pg)</b>	0,20	0,19
<b>CHCM (g/dL)</b>	-0,05	0,74
<b>RDW (%)</b>	-0,03	0,86
<b>Leucócitos (mil/mm<sup>3</sup>)</b>	-0,10	0,52
<b>Segmentados (%)</b>	-0,29	0,07
<b>Linfócitos típicos (%)</b>	0,14	0,37
<b>Monócitos (%)</b>	-0,21	0,17
<b>Eosinófilos (%)</b>	0,21	0,18
<b>Plaquetas (mil/mm<sup>3</sup>)</b>	-0,10	0,53

\*Análise realizada apenas para os indivíduos com níveis de *t,t*-MA detectados.

r: coeficiente de correlação de Spearman.

Em relação aos valores médios dos parâmetros do hemograma em função dos níveis de *t,t*-MA na urina (Tabela 14) constatou-se maior concentração média de hemoglobina corpuscular (CHCM) no grupo de moradores com *t,t*-MA não detectado (p-valor=0,01) comparado com os que tiveram níveis detectados e acima de 0,5 mg/g, respectivamente, e menor contagem de monócitos entre os indivíduos com *t,t*-MA não detectado comparado com aqueles que tinham concentração entre maior que o LD e menor que 0,5 mg/g (Bonferroni p-valor=0,01). A média de HCM foi maior em moradores com *t,t*-MA não detectado, e a contagem de segmentados foi menor naqueles com níveis >0,5 mg/g, porém sem significância estatística.

**Tabela 14.** Valores médios dos parâmetros hematológicos em função dos níveis de ácido *trans, trans*-mucônico na urina.

Parâmetros	<i>t,t</i> -MA			p-valor
	<LD	LD-0,5 mg/g	>0,5 mg/g	
Eritrócitos (milhões/mm <sup>3</sup> )	4,4	4,5	4,3	0,73*
Hemoglobina (g/dL)	13,0	12,8	12,5	0,17*
Hematócrito (%)	40,0	40,4	39,4	0,73**
VCM (fL)	90,68	90,96	91,20	0,94**
HCM (pg)	29,57	28,80	29,00	0,08**
CHCM (g/dL)	32,60	31,72	31,82	0,01**
RDW (%)	12,97	12,79	12,92	0,43**
Leucócitos (mil/mm <sup>3</sup> )	6938,5	6508,9	5607,5	0,12**
Segmentados (%)	56,9	57,2	46,8	0,09**
Linfócitos típicos (%)	34,8	33,1	44,5	0,12*
Monócitos (%)	3,48	4,35	2,75	0,01**
Eosinófilos (%)	3,94	4,16	5,25	0,60**
Plaquetas (mil/mm <sup>3</sup> )	225,6	236,4	224,5	0,30**

\*Teste não paramétrico de Kruskal-Wallis; \*\*ANOVA

## 6.5. Análise multivariada

### 6.5.1. Fatores associados com os níveis urinários de ácido *trans, trans*-mucônico.

Na análise multivariada para identificar fatores de exposição ao benzeno que influenciam os níveis excretados de *t,t*-MA na urina, os fatores que foram associados significativamente com a presença do biomarcador na urina (>LD) foram cor da pele, prática regular de atividade de lazer com risco de exposição a solventes orgânicos, e consumo de refrigerante e refresco nas últimas 24 horas (Tabela 15). Indivíduos que apresentaram *t,t*-MA na urina tinham chance 48% menor de ser negro, de praticar atividade de lazer com exposição a solventes orgânicos (79%) e de ter ingerido refrigerante nas últimas 24 horas (72%), quando comparado com aqueles que não tiveram *t,t*-MA detectado. No entanto, a chance de ingerir refresco nas últimas 24 horas foi 6 vezes maior nos indivíduos que tiveram *t,t*-MA detectado na urina, e a chance de ser pardo foi 1,8 vezes maior, quando comparado com aqueles que não tiveram. O valor do coeficiente de determinação do modelo ( $R^2$ ) foi de 25%.

**Tabela 15.** Fatores associados à detecção de ácido *trans, trans*-mucônico na urina.

Variáveis explicativas	<i>t,t</i> -MA >LD (R <sup>2</sup> =25%)		
	OR	p-valor (Wald)	IC 95%
<b>Constante</b>	1,71	-	-
<b>Cor da pele (ref=branco)</b>			
<b>Negro</b>	0,52	0,05	0,26 - 1,00
<b>Pardo</b>	1,85	0,09	0,91 - 3,80
<b>Atividade de lazer com exposição a solventes orgânicos</b>	0,21	0,003	0,07 - 0,60
<b>Consumo refrigerante 24 horas</b>	0,28	0,007	0,11 - 0,70
<b>Consumo refresco 24 horas</b>	6,17	0,002	1,90 - 20,0

LD: limite de detecção; OR: odds ratio; IC: intervalo de confiança; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinação.

### 6.5.2. Associação entre os níveis urinários de ácido *trans, trans*-mucônico e parâmetros do hemograma.

A magnitude da associação entre os parâmetros hematológicos e a detecção de *t,t*-MA na urina são apresentados na Tabela 16. Foi encontrada associação negativa estatisticamente significativa com o valor de hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Moradores que tiveram o metabólito detectado apresentavam valores de HCM 0,65 pg menor (IC95%= -1,26; -0,03) e de CHCM 0,87 g/dL menor (IC95%= -1,15; -0,58) quando comparados com indivíduos que não tiveram *t,t*-MA detectado. Os demais parâmetros analisados não se mostraram significância estatística.

**Tabela 16.** Regressão linear múltipla para os níveis de *trans, trans*-mucônico (variável dicotômica) e os parâmetros hematológicos\*

Parâmetros do hemograma	<i>t,t</i> -MA >LD		
	$\beta$	p-valor	IC 95%
Hematócrito (%)	0,36	0,47	- 0,64; 1,37
VCM (fL)	0,50	0,59	-1,35; 2,35
HCM (pg)	-0,65	<b>0,04</b>	-1,26; -0,03
CHCM (g/dL)	-0,87	<b>0,001</b>	-1,15; -0,58
RDW (%)	-0,22	0,21	-0,56; 0,12
Leucócitos (mil/mm <sup>3</sup> )	-565,6	0,08	-1194; 62,9
Segmentados (%)	-0,13	0,94	-3,41; 3,15
Monócitos (%)	0,02	0,21	-0,56; 0,12
Eosinófilos (%)	0,41	0,33	-0,41; 1,23
Plaquetas (mil/mm <sup>3</sup> )	8,60	0,38	-10,8; 28,0

\*Modelos ajustados pela idade, sexo e cor da pele.

$\beta$ : coeficiente de regressão linear; IC: intervalo de confiança.

A Tabela 17 mostra os resultados da análise de regressão logística múltipla para níveis detectados de *t,t*-MA e alterações hematológicas, ajustados por idade, sexo e cor da pele. Não foram encontradas associações estatisticamente significativas entre as alterações hematológicas e a detecção de *t,t*-MA na urina.

**Tabela 17.** Regressão logística múltipla para detecção de ácido *trans, trans*-mucônico na urina e alterações hematológicas\*

Alterações hematológicas	<i>t,t</i> -MA >LD		
	OR	p-valor (Wald)	IC 95%
Eritrócitos baixos <sup>a</sup>	0,30	0,16	0,06; 1,58
Hematócrito baixo <sup>b</sup>	1,05	0,93	0,32; 3,45
Hemoglobina baixa <sup>c</sup>	1,67	0,26	0,69; 4,07
Bastonetes <1%	0,73	0,43	0,34; 1,59
Segmentados <50%	0,92	0,87	0,35; 2,43
Eosinopenia (eosinófilos <1%)	-	-	-
Eosinofilia (eosinófilos >4%)	1,14	0,74	0,52; 2,53

\*Modelos ajustados por idade, sexo e cor da pele.

<sup>a</sup><4,5 milhões/mm<sup>3</sup> em homens e <4,0 milhões/mm<sup>3</sup> mulheres.

<sup>c</sup><41,0% em homens e <36,0% em mulheres.

<sup>b</sup><13,5 g/dL em homens e <12,0 g/dL em mulheres. OR: odds ratio; IC: intervalo de confiança.

## 7. DISCUSSÃO

Devido à presença do benzeno na gasolina e sua liberação por diversas atividades industriais decorrente dos processos de combustão, este composto é um poluente ambiental generalizado. Nos países em desenvolvimento, há um crescente reconhecimento dos perigos para a saúde pública da exposição a este hidrocarboneto, mas relativamente poucos desses países têm políticas, regulamentos e programas para combater o problema. Por conta de seu efeito hematotóxico e de sua classificação como um carcinógeno humano, torna-se extremamente importante monitorar e controlar a exposição humana ao benzeno, assim como implementar ações de vigilância em saúde de populações expostas. A principal finalidade deste estudo foi avaliar a exposição ambiental ao benzeno em uma comunidade carente nas proximidades de áreas industriais e de trânsito intenso de veículos no município de Açailândia, no interior do Estado do Maranhão.

Os níveis urinários de *t,t*-MA, produto da biotransformação do benzeno, encontrados na população adulta moradora do bairro Piquiá de Cima que participou do presente estudo foram relativamente baixos e condizentes com a literatura. A frequência de detecção de *t,t*-MA foi de 27%, e 3% apresentou concentrações acima de 0,5 mg/g de creatinina, valor de referência estabelecido pela portaria 34/2001 do Ministério de Trabalho e Emprego para população sem exposição ocupacional ao benzeno. O valor médio de concentração do metabólito foi 0,15 mg/g, nível semelhante aos encontrados em indivíduos sem exposição ocupacional de diferentes locais (MARTÍNEZ et al., 2014; MELIKIAN et al., 2012; NAVASUMRIT et al., 2005; PAULA et al., 2003; QU et al., 2003; WIWANITKIT, SUWANSAKSRI e NASUAN, 2001).

Em estudo brasileiro, o nível médio de *t,t*-MA em 116 indivíduos residentes na área metropolitana de Belo Horizonte-MG foi 0,10 mg/g (PAULA et al., 2003). Em 102 crianças mexicanas moradoras de áreas próximas a indústrias, com intensa poluição ambiental, foi encontrado valor médio de concentração de *t,t*-MA em torno de 0,37 mg/g (MARTÍNEZ et al., 2014). Em 22 vendedores ambulantes de roupas e 21 vendedores de grelhados e 41 escolares da área urbana de Bangkok, na Tailândia, a concentração média de *trans, trans*-mucônico na urina foi 0,12, 0,11 e 0,17 mg/g, respectivamente (NAVASUMRIT et al., 2005). Em outros estudos asiáticos, foram descritas concentrações médias de 0,12 mg/g em 49 tailandeses (WIWANITKIT, SUWANSAKSRI e NASUAN, 2001), 0,31 mg/g em 51 chineses (QU et al., 2003), e

0,26 mg/g em 51 chineses sem exposição ocupacional ao benzeno (MELIKIAN et al., 2012).

No entanto, o nível médio de *t,t*-MA encontrado na população adulta do Piquiá foi maior do que os encontrados em população de outros países não exposta ocupacionalmente ao benzeno. Assim, o nível médio de *t,t*-MA na urina de 376 residentes de áreas urbanas na Itália foi de 0,045 mg/g em mulheres e 0,037 mg/g em homens (APREA et al., 2008). Também na Itália, o valor médio de concentração do metabólito na urina de 249 trabalhadores de áreas urbanas e rurais foi 0,09 mg/g em fumantes e 0,05 mg/g em não fumantes (MANUELA et al., 2012). Em 65 indivíduos da população geral do mesmo país, foram descritos valores médios de 0,03 mg/g nas mulheres e 0,01 mg/g nos homens (COCCO et al., 2003). Em 83 trabalhadores do Egito sem exposição ocupacional ao benzeno foi encontrado nível médio de 0,043 mg/g (IBRAHIM et al., 2012). Finalmente, em 63 indivíduos adultos de Bangkok e 30 escolares do interior, os níveis de *t,t*-MA foram aproximadamente metade dos encontrados no presente estudo (NAVASUMRIT et al., 2005).

Maiores concentrações de *t,t*-MA em trabalhadores com exposição ocupacional ao benzeno eram esperadas (MELIKIAN et al., 2012; QU et al., 2003; RAY et al., 2007; TUNSARINGKARN, SOOGARUN e PALASUWAN, 2013; WIWANITKIT, SUWANSAKSRI e NASUAN, 2001, 2004). Apenas um estudo em população sem exposição ocupacional ao benzeno relatou níveis mais elevados do metabólito: 21 escolares franceses de 2-3 anos de idade e seus pais apresentaram média geométrica de 0,85 mg/g e 0,73 mg/g, respectivamente (KOUNIALI et al., 2003).

A baixa frequência de detecção do ácido *trans, trans*-mucônico na população estudada sugere que a população adulta do bairro Piquiá de Cima não está exposta a concentrações elevadas de benzeno no ar e que outros fatores, como o tabagismo e a ingestão de alimentos industrializados que apresentam ácido sórbico na sua constituição, contribuem para a excreção do metabólito. Especificamente, os fatores que influenciaram significativamente a excreção urinária de *t,t*-MA na população estudada foram a cor da pele, prática regular de atividade de lazer com exposição a solventes orgânicos e consumo de refrigerantes e refresco nas últimas 24 horas. A associação inversa entre prática regular de atividade com risco de exposição a solventes orgânicos e consumo de refrigerante nas últimas 24 horas e detecção de *t,t*-MA na urina poderia ser devida à relação dessas variáveis com alguma característica não contemplada no estudo

relacionada à exposição ao benzeno ou ainda à ingestão de ácido sórbico através de outros alimentos industrializados. Em relação à prática regular de atividade de lazer, esta variável não é indicadora da exposição recente a solventes orgânicos, o que sim poderia ter influência direta no nível do biomarcador na urina.

A ingestão de refresco nas 24 horas que antecederam a coleta de urina foi positivamente associada com a detecção do metabólito, o que era esperado. Sabe-se que alguns conservantes químicos alimentares tais como o ácido sórbico e seus sais de sódio de cálcio e potássio, amplamente utilizados na conservação de alimentos (MACHADO et al., 2007), têm influência nos níveis excretados de *t,t*-MA na urina (PEZZAGNO et al., 1999). Em concordância com nosso achado, Hoet et al. (2009) encontraram que a variação de níveis de *t,t*-MA na urina de 110 trabalhadores da indústria petroquímica era explicada pela ingestão de ácido sórbico proveniente do consumo de alimentos industrializados. Por sua vez, Fracasso et al. (2009), em estudo conduzido com 33 trabalhadores da indústria petroquímica, 21 trabalhadores de postos de gasolina e 51 controles não expostos ocupacionalmente ao benzeno, observaram que a exposição individual ao benzeno nos controles foi influenciada significativamente pelo tabagismo e a ingestão de ácido sórbico. No estudo italiano de Cocco et al. (2003), no entanto, os valores estimados de ingestão de ácido sórbico não se associaram com as concentrações excretadas de *t,t*-MA.

Em relação ao fumo, Menezes et al. (2008) analisando 40 amostras de urina de indivíduos não expostos ocupacionalmente ao benzeno obtiveram valores de *t,t*-MA na faixa de 0,14-0,61 mg/g para fumantes e 0,05-0,21 mg/g para não fumantes. Igualmente, a concentração de *t,t*-MA em fumantes dobrou a de não fumantes em outros estudos (APREA et al., 2008; COCCO et al., 2003; MANUELA et al., 2012; PAULA et al., 2003). Na população adulta do Piquiá, embora a concentração de *t,t*-MA tenha sido maior nos indivíduos que fumaram até 10 cigarros nas últimas 24 horas, na análise multivariada, o tabagismo não se mostrou significativo. Estes resultados sugerem que outros fatores, principalmente a ingestão de alimentos industrializados, têm maior influência na excreção de *t,t*-MA. Diferente de outros estudos (APREA et al., 2008; KOUNIALI et al., 2003; PAULA et al., 2003), não foi encontrada diferença significativa nos níveis de *t,t*-MA em função da idade e o gênero, o que poderia ser devido à baixa frequência de moradores com concentrações detectadas.

Evidenciou-se, no presente estudo, a frequência elevada de níveis reduzidos do número de bastonetes, da concentração de hemoglobina, contagem de segmentados, valor do hematócrito, e frequência particularmente elevada de eosinofilia (37%). As alterações observadas sugerem possível presença de quadros característicos de anemia ferropriva, particularmente na população masculina. Por outro lado, o aumento significativo e duradouro dos eosinófilos em circulação é geralmente devido a doenças parasitárias, alérgicas e inflamatórias (CHAUFFAILLE, 2010). Dessa forma, níveis elevados de eosinófilos poderiam indicar comprometimento do sistema imunológico, relacionado com a defesa do organismo contra infecções parasitárias e com alteração da resposta imunológica associada com doenças alérgicas (FURUTA, ATKINS e LEE, 2014). O bairro Piquiá de Cima, assim como o município de Açailândia, não possui sistema de tratamento de esgoto doméstico adequado, a cidade como um todo é desprovida deste serviço, sendo este despejado nas ruas, favorecendo assim a ocorrência de diversas doenças parasitárias, o que poderia explicar a frequência de eosinofilia encontrada na população estudada, sugerindo assim a necessidade de realização de outros estudos complementares que avaliem estes aspectos.

Na análise multivariada, a presença do metabólito na urina se associou com redução da concentração de hemoglobina corpuscular média (HCM), compatível com características de anemia. A associação observada foi independentemente da idade, do sexo e da cor da pele do indivíduo. Os efeitos hematotóxicos do benzeno são reconhecidos internacionalmente e são descritos na literatura científica desde o final do século XIX, sendo relatados casos de anemia aplástica, leucemia e alterações em outros parâmetros hematológicos (CAZARIN, AUGUSTO e MELO, 2007). Em concordância com nosso achado, alguns estudos epidemiológicos publicados nos últimos anos têm evidenciado alterações hematológicas em populações expostas a diferentes níveis de benzeno, particularmente redução da contagem de hemácias e da concentração de hemoglobina. Em estudo com 102 trabalhadores de postos de gasolina da cidade de Bangkok, foi observada correlação negativa significativa entre a concentração urinária de *t,t*-MA e o nível de hemoglobina e o valor do hematócrito (TUNSARINGKARN, SOOGARUN e PALASUWAN, 2013). No Egito, trabalhadores de uma fábrica de cerâmica com exposição ocupacional ao benzeno apresentaram valores significativamente menores do número de eritrócitos, hematócrito, leucócitos e plaquetas, comparado com um grupo de indivíduos não expostos (IBRAHIM et al.,

2012). A concentração de *t,t*-MA na urina de crianças mexicanas expostas a diversos poluentes de origem industrial mostrou correlação negativa com o nível de hemoglobina, o hematócrito e a contagem de eritrócitos (MARTINEZ et al., 2014). Em um estudo conduzido na Índia com 25 trabalhadores de postos de gasolina, 25 mecânicos e população sem exposição ocupacional ao benzeno, encontraram-se níveis de hemoglobina reduzidos nos indivíduos expostos ocupacionalmente comparado aos indivíduos não expostos (RAY et al., 2007).

Em contrapartida, no estudo de Wiwanitikit et al. (2007) a detecção de *t,t*-MA na urina não se associou com a presença de alterações hematológicas em 30 homens tailandeses que trabalhavam em uma área urbana de Bangkok. De igual forma, no presente estudo, além da HCM, os demais parâmetros analisados não se mostraram associados com a detecção do metabólito.

A principal limitação do estudo refere-se ao tamanho da amostra, constituída por 150 moradores, o que tem limitado o poder estatístico para detectar associações entre as variáveis de estudo. Contudo, apesar de ser um número de indivíduos relativamente baixo, não perde para outros estudos seccionais realizados em outros locais que trabalharam com um número mais reduzido ainda. A estratégia utilizada para selecionar a população de estudo, que foi feita por amostragem de conveniência é outra das limitações do estudo, pois, em princípio, os indivíduos selecionados não poderiam ser considerados como representativos da população adulta residente no Piquiá de Cima, o que compromete a generalização dos dados para a população alvo do estudo. No entanto, torna-se interessante ressaltar que o grupo de indivíduos selecionados era em sua maioria mulheres, que ficavam em casa boa parte do dia, caracterizando desta forma uma população exposta a níveis ambientalmente relevantes.

Por outro lado, o biomarcador *t,t*-MA urinário é válido como indicador da exposição recente ao benzeno, o que limita a capacidade de estabelecer qualquer relação causa-efeito para desfechos ou efeitos tóxicos crônicos. Adicionalmente, o limite de detecção do equipamento utilizado para realizar as análises de *trans*, *trans*-mucônico urina (0,05 mg/g de creatinina) não foi o suficientemente baixo para quantificar concentrações pequenas do metabólito, não sendo possível observar a variabilidade dos níveis de exposição no conjunto da amostra de população investigada. Apenas 27% dos indivíduos tiveram o metabólito detectado e quantificado na urina, o que comprometeu

mais ainda as análises estatísticas realizadas com os valores de *trans, trans*-mucônico de forma contínua.

Entre as forças do trabalho, cabe destacar que se trata de um estudo inédito no Brasil, particularmente na Região Nordeste, onde nenhum estudo tem investigado a exposição humana ao benzeno, além de não ter sido identificados na literatura estudos que determinaram níveis excretados de *t,t*-MA em população brasileira sem exposição ocupacional ao benzeno e associação com parâmetros hematológicos. Nesse sentido, não foi possível comparar nossos achados com outros relacionados à exposição a este carcinógeno em população brasileira exposta a contaminação de origem industrial e proveniente do trânsito de veículos. Outros aspectos positivos do estudo são: a utilização de um biomarcador amplamente utilizado para avaliação da exposição ambiental ao benzeno; o uso de um questionário que coletou diversas informações relevantes para a avaliação da exposição ao benzeno, incluindo dados de ocupação, tabagismo e exposição a solventes orgânicos; a realização de análises multivariadas, que permitiu explorar associações controlando por potenciais fatores de confundimento; e a participação efetiva na execução do estudo dos enfermeiros e agentes de saúde que atendem a população do bairro.

Finalmente, a avaliação da ingestão de alimentos industrializados nas 24 horas que antecederam à coleta de urina deve ser considerada como uma força do estudo. O *t,t*-MA é também um metabólito do ácido sórbico presente na dieta e, por consequência, seus níveis podem ser influenciados pelo consumo de alimentos que apresentam este aditivo. Portanto para avaliar a exposição ao benzeno com a utilização deste biomarcador, torna-se necessária a investigação do consumo de ácido sórbico do indivíduo durante a véspera da coleta de urina.

O estudo do comportamento epidemiológico das alterações hematológicas relacionadas a exposições ambientais é algo extremamente importante para o estabelecimento de medidas profiláticas para a saúde de populações não expostas ocupacionalmente a poluentes. Por ser um composto orgânico emitido por veículos automotores e empregado como matéria-prima na cadeia produtiva de vários tipos de materiais, como tintas, vernizes, solventes, borracha e plástico, o benzeno é considerado um contaminante universal, não havendo níveis seguros para a sua exposição. Em decorrência de tais aspectos, estudos de biomonitoramento devem ser preconizados em populações como as do Piquiá de Cima que, em consequência das mazelas ambientais e

principalmente sociais, são negligenciadas no que tange aos aspectos de moradia e melhoria das condições de vida.

## 8. CONCLUSÃO

Conclui-se, portanto, que a população adulta residente no bairro Piquiá de Cima, em Açailândia-MA parece não estar exposta a concentrações elevadas de benzeno, mas a concentrações ambientalmente relevantes, como sugerem os níveis do biomarcador *t,t*-MA encontrados na urina. Os indivíduos com presença de níveis superiores a 0,05 mg/g apresentaram menor concentração de hemoglobina corpuscular média, além de o perfil hematológico dos participantes apontar a presença de alterações compatíveis com anemia e comprometimento imunológico. Biomarcadores de exposição a poluentes ambientais e indicadores de alterações bioquímicas precoces devem ser usados como medidas de vigilância ambiental e vigilância em saúde em grupos populacionais vulneráveis, como o da comunidade do Piquiá, residente nas proximidades de áreas industriais e com condições precárias de moradia e saneamento.

## 9. REFERÊNCIAS

AMIGOU, A. et al. Road traffic and childhood leukemia: the ESCALE study (SFCE). **Environ Health Perspect**, v.119, n. 4, p.52-566.2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21147599>> Acesso em: 04 mar. 2014.

ARAÚJO, A. E. O. **Avaliação da genotoxicidade dos gases derivados do petróleo em trabalhadores expostos ocupacionalmente em ambiente fechado**. 2008. 79f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Patologia Molecular) - Universidade de Brasília. Brasília, 2008.

ATSDR. Toxicological Profile for Benzene. Atlanta,GA: **Agency for Toxic Substances and Disease Registry**, p. 438. 2007. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp3.pdf>> Acesso em: 03 jan. 2014.

ARCURI, A. et al. **Vigilância do risco químico módulo do Benzenismo**. Versão para consulta pública. Área técnica de Saúde do Trabalhador, Ministério da Saúde, p.1-38, 2005.

AMORIM, Leilane Coelho André. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.6, n. 2. 2003. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415790X2003000200009&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415790X2003000200009&script=sci_arttext)>. Acesso em: 04 mar. 2014.

ASMUS, C. I. R. F.; FERREIRA, H. P. Epidemiologia e Saúde do Trabalhador. In: MEDRONHO, R. A. (Org.). **Epidemiologia**. São Paulo: Atheneu, 2002. cap. 26, p. 385-402.

APREA, C. et al. Reference values of urinary trans, trans-muconic acid: Italian multicentric study. **Arch Environ Contam Toxicol**, v. 55, p. 329–40, 2008.

BECALSKI, A. et al. Determination of benzene in soft drinks and other beverages by isotope dilution headspace gas chromatography/mass spectrometry. **J AOC Int**, v. 90. n. 2, p. 479-84, 2009.

BOGADI-SARE A. et al. Study of some immunological parameters in workers occupationally exposed to benzene. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v.73, p. 397–400. 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11007343>> Acesso em: 02 fev. 2014.

BRANDT, H.C; WATSON, W.P. Monitoring human occupational and environmental exposures to polycyclic aromatic compounds. **Ann. Occup. Hyg**, v.47, p. 349–378. 2003. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12855487>> Acesso em: 06 mar. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Exercício Prático de avaliação e gerenciamento de riscos: o caso dos trabalhadores expostos ao Benzeno no Brasil**. set.2000. Disponível em: <[www.bvsde.paho.org/bvsast/p/fulltext/benzeno/capitulo7.pdf](http://www.bvsde.paho.org/bvsast/p/fulltext/benzeno/capitulo7.pdf)>. Acesso em: 23 abr.2014.

BRASIL. **Portaria nº 34 de 2001**. Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em: <<http://portal.mte.gov.br/legislacao/portaria-n-33-de-20-12-2001-1.htm>> Acesso em: 07 jan.2015.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. **Comissão Nacional Permanente do Benzeno**. 2010. Disponível em: <[http://www3.mte.gov.br/seg\\_sau/comissoes\\_benzeno.asp](http://www3.mte.gov.br/seg_sau/comissoes_benzeno.asp)> Acesso em 07 jan. 2015.

BRASIL. Quanto valem os direitos humanos? Os impactos sobre os direitos humanos relacionados a indústria da mineração e da siderurgia em Açailândia. **Federação Internacional dos Direitos Humanos**, Paris, ago. 2011. Disponível em: <[www.fidh.org](http://www.fidh.org)> Acesso em: 10 mar. 2014.

BRASIL. Secretaria de Saúde do Estado do Paraná, **Comissão Estadual do Benzeno do Paraná**, 2002. Disponível em: <<http://www.saude.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1581>>. Acesso em: 23 abr. 2014.

BOOGAARD, P.J.; VAN SITTEERT, N. Biological monitoring of exposure to benzene: a comparison between S-phenylmercapturic acid, trans, trans,-muconic acid, and phenol. **Occup Environ Med**, v. 52, p. 611–20, 1995.

\_\_\_\_\_. Suitability of S-phenyl mercapturic acid and trans-trans-muconic acid as biomarkers for exposure to low concentrations of benzene. **Environ Health Perspect**, v.104, supl. 6, p.1151–7, 1996.

BURATTI, M.; FUSTINONI, S.; COLOMBI, A. Fast liquid chromatography determination of urinary trans, transmuconic acid. **J Chromatogr B**, v. 677, p. 257-63, 1996.

CAMARGO, Camila Panizza de. **Efeitos do Benzeno em ultra alta diluições, frente ao benzolismo experimental agudo em camundongos**. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária. Faculdade de Ciências Veterinárias (UNESP-Jaboticabal). São Paulo, 008. Disponível em: < [www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/cmv/d/2067.pdf](http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/cmv/d/2067.pdf)> Acesso em: 04 mar. 2014.

CANCELA, Cristina Donza. Estação Piquiá: um novo quilômetro na fronteira Amazônica. **Desenvolvimento & Cidadania**, São Luis, v. 2, n. 6, dez/jan.,1992.

CARNEIRO, Marcelo Domingos Sampaio. Do latifúndio agropecuário à empresa latifundiária carvoeira. In: Coelho, M.C.N.; Cota, R.G. (Org.). **10 anos da Estrada de Ferro Carajás**. Belém: UFPA/NAEA, 1997.

CARRIERI M, et al. Comparison of exposure assessment methods in occupational exposure to benzene in gasoline filling-station attendants. **Toxicology Letters**, v.162, n. 2-3, p. 146-152, 10 abr. 2006. Disponível em:<<http://www.radiello.it/articoli/Carrieri.htm>> Acesso em: 02 jan. 2014.

CAPLETON, A.C.; LEVY, L.S. An overview of occupational benzene exposures and occupational exposure limits in Europe and North America. **Chem Biol Interact**, v. 30, p. 153-154.2005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15935799>> Acesso em: 01 jan. 2014.

CRAWFORD, M. N. et al. Nitrate: nutrient and signal for plant growth. **The Plant Cell**, v.7, p.859-868, 1995.

CAZARIN, G. ; AUGUSTO, L. G.da. S.; MELO, R. A. M. Doenças hematológicas e situações de risco ambiental a importância do registro para a vigilância epidemiológica. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. v. 10, n. 3, p 380-390, 2007.

CDC.Continued use of drinking water wells contaminated with hazardous chemical substances Virgin Islands and Minnesota 1981-1993. Centers for Disease Control. **Morbid Mortal Weekly Rep**, v. 43, n.5, p.89-92. 1994.

CHAN, C.C. et al. Workers' exposures and potential health risks to air toxics in a petrochemical complex assessed by improved methodology. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 79, p. 135–142. 2006.

CHAUFFAILLE, M.de L. L. F. Eosinofilia reacional, leukemia eosinofílica crônica e síndrome hipereosinofílica idiopática. **Rev. Bras. Hematol. Hemometer**, v. 32, n. 5, São Paulo, 2010.

CLEMENTS, A. L. et al. The Control of Air Toxics: Toxicology Motivation and Houston Implications. Rice University Department of Civil and Environmental Engineering, 2006. Disponível em: <<http://hydrology.rice.edu/ceve/fraser/FINAL%20MASTER.pdf>>. Acesso em: 01 jan.2014.

COCCO, P. et al. Trans, trans- muconic acid excretion in relation to environmental exposure to benzene. **Int Arch Occup Environ Health**, n. 76, p. 456-460, 2003.

COSTA, Danilo Fernandes. **Prevenção da exposição ao Benzeno no Brasil**. 2009.Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5144/tde-25092009-135349/pt-br.php>> Acesso em: 05 mar. 2014.

COSTA, M. A, F.; COSTA, M. F. B. Benzeno: uma questão de Saúde Pública. **Interciência**, v. 27, n. 4, p. 201-204, 2002. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/pdf/339/33906709.pdf>>. Acesso em: 04 mar. 2014.

CONCAWE, A Survey of European Gasoline Exposures for the Period 1999–2001, CONCAWE, **Brussels**, Belgium, 2002.

COUtrim, M. X.; CARVALHO, L. R. F.; ARCURI, A. S. A. Avaliação dos Métodos analíticos para a determinação de metabólitos do benzeno como potenciais biomarcadores de exposição humana ao benzeno no ar. **Quím. Nova**, v. 23, p. 653–663, 2000.

DEOLE, S.; PHADKE, K.M.; KUMAR, A. Benzene, toluene and xylene (BTX) pollution in ambient air: a case study. **J Environ Sci Eng**, v. 46, p.15–20. 2004.

DOLORE, P.; BORGOMANO, C. Acute leukemia in the course of benzene poisoning: The toxic origin of certain acute leukemias and their relationship to severe anemia, **J. Med. Lyon**, v. 9, p. 227–233, 1928.

DUCOS, P. et al. Improvement in HPLC analysis of urinary trans,trans-muconic acid, a promising substitute for phenol in the assessment of benzene exposure. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 62, p. 529–34, 1990.

DUARTE-DAVIDSON, R. et al. Benzene in the environment: an assessment of the potential risks to the health of the population. **Occup Environ Med**, v.58,n.1, p. 2–13, 2001.

EPA. Environmental monitoring benzene. Washington, DC: U.S. **Environmental Protection Agency**, Office of Toxic Substances. EPA560679006. 1979.

EPA. **Rotas metabólicas do benzeno**.2002. Disponível em:< <http://www.epa.gov/>>. Acesso em: 01 jan.2014.

EVANGELISTA, Leonardo Nunes. **A cidade da fumaça**: a construção do grupo operário do bairro Pequiá no município de Açailândia-MA. Dissertação (Mestrado em Ciências Sociais). Universidade Federal do Maranhão (UFMA). São Luís, 2008. Disponível em: <[www.ppgsoc.ufma.br/index.php%BFoption%3D](http://www.ppgsoc.ufma.br/index.php%BFoption%3D)> Acesso em: 03 mar. 2014.

FARMER, P.B. et al. The use of S-phenylmercapturic acid as a biomarker in molecular epidemiology studies of benzene. **Chem Biol Interact**, p. 97–102, 2005.

FRACASSO, M. E . et al. Low air levels of benzene: Correlation between biomarkers of exposure and genotoxic effects. **Toxicology Letters**, v. 192, p. 22-28, 2009.

FURUTA, G. T.; ATKINS, F.D.; LEE, J. J. Changing roles of eosinophils in health and disease. **Ann. Allergy Asthma Immunol**, n. 113, p. 3-8, 2014.

FUSTINONI, S. et al. Urinary t,t-muconic acid, S phenylmercapturic acid and benzene as biomarkers of low benzene exposure. **Chem Biol Interact**, p. 153–154, 2005.

GALBRAITH, D.; GROSS, S.A.; PAUSTENBACH, D. Benzene and human health: historical review and appraisal of associations with various diseases. **Crit Rev Toxicol**, v.2, p. 1-46, 2010.

GARTE, S. et al. Biomarkers of exposure and effect in Bulgarian petrochemical workers exposed to benzene. **Chem Biol Interact**, v. 153–154, p.247–251, 2005.

GILMAN, A. G. et al. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9. ed., Rio de Janeiro: McGraw- Hill, 1996.

GHITTORI, S. et al. Evaluation of occupational exposure to benzene by urinalysis. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 67, p.195–200, 1995.

GOLDSTEIN, B.D. Benzene as a cause of lympho proliferative disorders. **Chem Biol Interact**, v.84, n. 1-2, p. 147-50, 2010.

GOLDSTEIN, B. D. Introduction: Occam's razor is dull. **Environ. Health Perspect**, v. 82, p. 3-6, 1989.

- GOOGLE EARTH. **Bairro Piquiá de Cima**. 2014. Disponível em:<<https://www.google.it/maps/@-4.8935924,47.395899,12691m/data=!3m1!1e3>> Acesso em: 05 mar. 2015.
- GREENBURG, L., Benzol poisoning as an industrial hazard. **Public Health Rep**, v.41, p. 1516–1539, 1926.
- HARRISON, R. M. et al. Analysis of incidence of childhood cancer in the West Midlands of United Kingdom in relation to proximity to main roads and petrol stations. **Occup Environ Med**, v.56, p. 774–80, 1998.
- HOET, P. et al. Evaluation of urinary biomarkers of exposure to benzene: Correlation with blood benzene and influence of confounding factors. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 82, p. 985-995, 2009.
- IARC. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC Monographs volumes 1 to 42. **IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum Suppl**, v.7, n. 1, p.40. 1987.
- IBRAHIM, K. S. et al. Hematological effect of benzene exposure with emphasis of muconic acid as biomarker. **Toxicol Ind Health**, p. 1-8, 2012.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. **Censo demográfico**. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em:< <http://censo2010.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 04 mar. 2014.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cidades@**: site que traz uma série de informações sobre os municípios brasileiros. 2012. Disponível em:<<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=210005>>. Acesso em: 04 mar.2014.
- IMBRIANI, M. et al. S.Indoor pollution and biological monitoring of volatile organic compounds (VOC). **G Ital Med Lav**, v. 18, p. 151–160, 1996.
- INOUE, O. et al. Urinary t,t-muconic acid as an indicator of exposure to benzene. **BrJ Ind Med**, v. 46, p. 122–7, 1989.
- ISKANDER, K.; JAISWAL, A.K . Quinone oxidoreductases in protection against yelogenous hyperplasia and benzene toxicity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 153–154, p. 147–157, 2005.
- JAMRA, M.; LORENZI, T. F. Sistema Hematopoiético. In: PORTO, C.C. **Semiologia Médica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p.763-787.
- JOHNSON, E,S.; LANGARD, S.; LIN, Y,S. A critique of benzene exposure in the general population. **Sci Total Environ**, v. 374, p. 183–98, 2007.
- KHALADE, A. et al. Exposure to benzene at work and therisk of leukemia: a systematic review and meta-analysis. **Environ Health.**, p. 9:31, 2010.
- KIM, S. et al. Using urinary biomarkers to elucidate dose-related patterns of human benzene metabolism. **Carcinogenesis**, v. 27, p. 772–81, 2006.

KIRKELEIT, J. et al.; Benzene exposure on a crude oil production vessel. **Ann Occup Hyg**, v.50, p. 123–9, 2006a.

KIRKELEIT, J. et al. Biological monitoring of benzene exposure during maintenance work in crude oil cargo tanks. **Chem Biol Interact**, v.164, p. 60–7, 2006b.

KIRANE, E. et al. Personal exposure to benzene from fuel emissions among commercial fishers: comparison of two-stroke, four-stroke and diesel engines. **J Expo Sci Environ Epidemiol**, v. 17, p. 151–8, 2007.

KIVISTO, H. et al. Biological monitoring of exposure to benzene in the production of benzene and in a coker. **Sci Total Environ**, v. 199, p. 49–63, 1997.

KOUNIALI, A. et al. Environmental benzene exposure assessment for parent–child pairs in Rouen, France. **Sci Total Environ**, v. 308, p. 73–82, 2002.

LADEIRA, M. S. et al. Genotoxicity of cigarette smoking in maternal and new born lymphocytes. **Mutat Res**, v. 679, p. 72–8, 2009.

LARSEN, J. C.; LARSEN, P. B. Chemical carcinogens. **Air Pollution and Health**, p. 33–56, 1998.

LEE, B. L. et al. A sensitive liquid chromatographic method for the spectrometric determination of urinary trans,trans-muconic acid. **J Chromatogr B**, v. 818, p. 277–283, 2005.

LO PUMO, R. et al. Long-lasting neurotoxicity of prenatal benzene acute exposure in rats. **Toxicology**, v. 223, n.3, p. 227–234, 2006.

MACHADO, R. M. D. et al. Presence of benzoic and sorbic acids in Brazilian wines and ciders. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4. Campinas, 2007.

MANINI, P. et al. Biological monitoring of low benzene exposure in Italian traffic policemen. **Toxicol Lett**, v.181, p. 25–30, 2008.

MANINI, P.; DE PALMA, G.; ANDREOLI, R.; et al. Environmental and biological monitoring of benzene exposure in a cohort of Italian taxi drivers. **Toxicol Lett**, v.167, p. 142–51, 2012.

MANUELA, C. et al. Environmental and biological monitoring of benzene in traffic policemen, police drivers and rural outdoor male workers. **J Environ Monit.**, v.14, n.6, p. 1542–50, 2012.

MARTINS, I.; SIQUEIRA, M. E. P. B. Exposição ocupacional ao benzeno: aspectos toxicológicos. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 15, n. 1, p. 43–51, 2001.

MARTÍNEZ, N. A. P. et al. Genotoxic and hematological effects in children exposed to a chemical mixture in a petrochemical area in Mexico. **Arch Environ Contam Toxicol**, 2014.

MARRUBINI, G.; COCCINI, T.; MANZO, L. Direct analysis of urinary trans,trans-muconic acid by coupled column liquid chromatography and spectrophotometric

ultraviolet detection: method applicability to human urine. **J Chromatogr B**, v. 758, p. 295–303, 2002.

MAVEI, F. et al. Effects of environmental benzene: micronucleus frequencies and haematological values in traffic police working in an urban area. **Mutat Res**, v. 583, p.1–11, 2005.

MEDEIROS, A. M.; BIRD, M. G.; WITZ, G. Potential biomarkers of benzene exposure. **Toxicol. Environ. Health**, Washington, v.40, n.2-3, p.377-386, 1993.

MELIKIAN, A. A. et al. Personal exposure to different levels of benzene and its relationships to the urinary metabolites S- phenylmercapturic acid *trans*, *trans*- muconic acid. **Journal of Chromatography B**, n. 778, p. 211- 221, 2002.

MENEZES, M. et al. Influência do hábito de fumar na excreção urinária do ácido *trans*, *trans*- mucônico. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, 2008.

NAVASUMRIT, P. et al. Environmental and occupational exposure to benzene in Thailand. **Chem Biol Interact**, v.153–154, p. 75–83, 2005.

NICNAS (National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme). Benzene priority existing chemical. **Assessment Report**, Commonwealth of Australia, n. 21, 2001.

NYMAN, P. J. et al. Survey results of benzene in soft drinks and other beverages by headspace gas chromatography/mass spectrometry. **J Agric Food Chem**, v. 56 (2), p. 571- 6, 2008.

NTP (National Toxicology Program). Seventh annual report on carcinogens: 1994 Summary: National Toxicology Program: Benzene. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Washington, DC, 2005.

OLIVEIRA, H. P. Anemias aplásticas e diseritropoiéticas. In: \_\_\_\_\_. **Hematologia Clínica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1990. cap. 11, p. 215-225.

OLMOS, V. et al. High-Performance Liquid Chromatography Method for urinary *trans*,*trans*-muconic acid. Application to Environmental Exposure to Benzene. **Journal of Analytical Toxicology**,[s.:l.], v. 30, 2006.

ONG, C. N. et al. Elevated levels of benzene-related compounds in the urine of cigarette smokers. **Int J Cancer**, v. 59, p. 177 –180, 1994.

PAULA, F. C. S. de. et al. Avaliação do ácido *trans*, *trans*-mucônico urinário como biomarcador de exposição ao benzeno. **Revista de Saúde Pública**, v.37, n.6, p.780-785, 2003.

PAVANELLO, S. et al. Tobacco-smoke exposure indicators and urinary mutagenicity. **Mutat. Res**, v.521, p.1-9, 2002.

PENATI, F.; VIGLIANI, CE. Sul Problema delle mielopatie asplische pseudo-apalastische e leucemiche da benzolo. **Rass. Med**, v.9, p. 345-361, 1938.

PEZZAGNO, G.; MAESTRI, L. The specificity of trans,trans-muconic acid as a biological indicator of low levels of environmental benzene. **Indoor Built Environ**, v. 6, p. 12–18, 1997.

PEZZAGNO, G.; MAESTRI, L.; FIORENTINO, M. L. Trans,trans-muconic acid, a biological indicator to low levels of environmental benzene: some aspects of its specificity. **Am J Ind Med**, v. 35, n.5, p. 511-518, 1999.

POPP, W. et al. Concentrations of benzene in blood and S-phenylmercapturic and t,t-muconic acid in urine in car mechanics, **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, v. 66, p. 1–6, 1994.

PRIANTE, E. et al. Exposizione agli inquinati dell'aria urbana dei vigili municipali. **Med. Lav.**, Milano, v.87, n.40, p.314-322, 1996.

PYSZEL, A. et al. Effect of metals, benzene, pesticides and ethylene oxide on the haematopoietic system. **Medycyna Pracy**, v. 56, n.3, p. 249–255, 2005.

QU, Q. et al. Benzene exposure measurement in shoe and glue manufacturing: a study to validate biomarkers. **Applied Occupational and Environmental Hygiene**, v. 18, n.12, p. 988–998, 2003.

RAY, M.R. et al. Occupational benzene exposure from vehicular sources in India and its effect on hematology, lymphocyte subsets and platelet P-selectin expression. **Toxicology and Industrial Health**, v. 23, p.167–175, 2007.

REIS, M. Moreno dos. **Avaliação de risco de Benzeno em Volta Redonda: as incertezas na avaliação da exposição**. 2004. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública). FIOCRUZ, 2004. Disponível em: <[www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/5326/2/618.pdf](http://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/5326/2/618.pdf)> Acesso em: 04 mar. 2014.

ROSSI, A.M. et al. Genetic polymorphisms influence variability in benzene metabolism in humans. **Pharmacogenetics**, v. 9, p. 445–451, 1999.

RUIZ, M.A. et al. Bone Marrow Morphology In Neutropenic Patients Due To Chronic Exposition To Organic Solvents (Benzene) : Early Lesions. **Pathology Research Practice**, n.190, p. 151-6, 1993.

SANTESSSEN, C.G., Chronische Vergiftungen mit Steinkohlentheerbenzin: Vier Todesfälle. **Arch. Hyg. Bakteriol**, v. 31, p.336-376, 1897.

SANTOS, Miriam dos Anjos. **Avaliação de Risco a saúde humana por exposição ambiental a hidrocarbonetos aromático monocíclicos – Estudo de Caso**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade de Brasília. Brasília, 2009. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10482/4625>> Acesso em: 04 mar. 2014.

SCOTT, M. A. et al. The use of biomonitoring data in exposure and human health risk assessment benzene case study. **Critical Reviews in Toxicology**, v.43, n. 2, p. 119-153, 2013. Disponível em: < <http://pubmedcentralcanada.ca/pmcc/articles/PMC3585443/>> Acesso em: 02 jan. 2014.

SHAHTAHERI, S. J.; GHAMARI, F. et al. Sample preparation followed by high performance liquid chromatography (HPLC) analysis for monitoring muconic acid as a biomarker of occupational exposure to benzene. **JOSE**, v. 11(4), p. 377–88, 2005.

SIAB. **Sistema de Informação da Atenção Básica**. 2014. Disponível em: <<http://www2.datasus.gov.br/SIAB/index.php>> Acesso em: 05 mar. 2015.

SILVA, Dêide Luci. **Ambiente Urbano e Cidadania na Pré-Amazônia Maranhense**: a qualidade de vida sob o olhar dos moradores da cidade de Açailândia. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) - Pós-graduação. Faculdades Integradas de Jacarepaguá. Imperatriz, 2011.

SMITH, M.T. Advances in understanding benzene health effects and susceptibility, v.31, p. 133-48, 2010.

SNYDER, R. Overview of the toxicology of benzene. **J Toxicol Environ Health**, v. 61, p.46-339, 2000.

SNYDER, R.; HEDLI, C.C. An overview of benzene metabolism. **Environmental Health Perspectives**, v. 104, p. 1165-1171, 1996.

TSAI, S.P. et al. A hematology surveillance study of petrochemical workers exposed to benzene. **Regul Toxicol Pharmacol**, v. 40, p. 67–73, 2004.

TUNSARINGKARN, T ; SOOGARUN, S; PALASUWAN, A. Occupational exposure to benzene and changes in hematological parameters and urinary *trans, trans*- muconic acid. **Int J Occup Environ Med**, v. 4, p. 45-49, 2013.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Toxicological Review of Benzene (Noncancer Effects)**. 2002. Disponível em:<<http://www.epa.gov/iris/toxreview/0276-tr.pdf>> Acesso em: 04 mar. 2014.

US-EPA (US Environmental Protection Agency) (1998) **Carcinogenic effects of benzene: an update**. Prepared by the National Center for Environmental Health, Office of Research and Development, Washington, DC. EPA/600/P-97/001F

VAN POUCKE, C. et al. Monitoring the benzene contents in soft drinks using headspace gas chromatography- Mass Spectrometry a survey of the situation on the Belgian Market. **J.Agric.Food Chem**, v. 56, p. 4504-4510, 2008.

VARDOULAKIS, S; PHOON, X.; OCHIENG, C. Health effects of air pollutants. In: LAZARIDIS, M.; COBECK, I. (Ed). Human exposure to pollutants via dermal absorption and inhalation. **Environmental pollution**, v. 17, p. 160–165, 2010.

VERDINA, A. et al. Metabolic polymorphisms and urinary biomarkers in subjects with low benzene exposure. **J. Toxicol Environ Health. A**, v.64, n.8, p. 607-18, 2001.

WEISEL, C.P. Benzene exposure: an overview of monitoring methods and their findings. **Chem Biol Interact**, v.184, p.58–66, 2010.

- WEISEL, C. P. et al. Measurement of the urinary benzene metabolite *trans,trans*-muconic acid from benzene exposure in humans. **Journal of Toxicology & Environmental Health**, v. 48 (5), p. 453–477, 1996.
- WEAVER, V. M. et al. Benzene exposure, assessed by urinary *trans,trans*-muconic acid, in urban children with elevated blood lead levels. **Environ Health Perspect**, v. 104, p. 318–23, 1996.
- WEAVER, V. M. et al. Lack of specificity of *trans, trans*-muconic acid as a benzene biomarker after ingestion of sorbic acid-preserved foods. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 9, p. 749–55, 2000.
- WILLIAMS, P.R.D.et al. Occupational exposures associated with petroleum-derived products containing trace levels of benzene. **J Occup Environ Hyg**, v. 5, p. 565–574, 2008.
- WIWANITKIT, V.; Benzene exposure and hypertension: an observation. **Cardiovascular Journal of Africa**, v. 18, n. 4, p. 264-265, 2007.
- WIWANITKIT, V.; SUWANSAKSRI, J.; NASUAN, P. Urine *trans, trans*-muconic acid as a biomarker for benzene exposure in gas station attendants in Bangkok, Thailand. **Annals of Clinical and Laboratory Science**, v. 31, n. 4, p. 399–401, 2001.
- WIWANITKIT, V.; SUWANSAKSRI, J.; SOOGARUM, S. A note on urine *trans, trans*-muconic acid level among a sample of Thai police: implication for an occupational health issue. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 76, n. 3, p. 103–108, 2003.
- WIWANITKIT, V.; SUWANSAKSRI, J.; SOOGARUM, S. The urine *trans-trans* muconic acid biomarker and platelet count in a sample of subjects with benzene exposure. **Clinical and Applied Thrombosis / Hemostasis**, v. 10, n.1, p. 73–76, 2004.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Air quality guidelines for Europe**. 2.ed. Regional Publication, Copenhagen: European Series, 2000.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Iron deficiency anaemia, assessment, prevention and control, a guide for programme managers**. World Health Organization, Geneva, 2001.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Preventing disease through healthy environment, exposure to benzene: a major public health concern**. Geneva, 2010. Disponível em: < [www.who.int/ipcs/features/benzene.pdf](http://www.who.int/ipcs/features/benzene.pdf) > Acesso em: 04 mar. 2014.
- ZHANG, L. P. et al. Increased aneusomy and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in the lymphocytes of Chinese workers exposed to benzene. **Carcinogen**, v. 19, p. 1955-1961, 1998.
- ZHANG, L.; EASTMOND, D.A.; SMITH, M.T. The nature of chromosomal aberrations detected in humans exposed to benzene. **Crit. Rev. Toxicol.**, v.32, p. 1–42, 2002.

## 10 ANEXOS

### ANEXO 1: TCLE



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Comitê de Ética em Pesquisa



### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Prezado participante,

Você está sendo convidado para participar da pesquisa “Níveis de *trans*, *trans*-mucônico na urina como biomarcador de exposição ao benzeno e alterações hematológicas na população do Bairro Piquiá de Cima, Açailândia, MA”, desenvolvido pela pesquisadora Eliane Cardoso Araújo, aluna do Programa de Mestrado Interinstitucional (MINTER) em Saúde Pública e Meio Ambiente da Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), e o Instituto Federal do Maranhão (IFMA).

Você foi selecionado por residir no Bairro Piquiá de Cima, Açailândia-MA, e sua participação na pesquisa não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou qualquer instituição.

O objetivo deste estudo é conhecer o grau de exposição ao benzeno, poluente do ar, através da mensuração das concentrações de ácido *trans*, *trans*-mucônico na urina, e investigar a sua relação com a presença de alterações hematológicas na população moradora no Bairro Piquiá de Cima.

Sua participação nesta pesquisa, com duração de aproximadamente 45 minutos, consistirá na realização de um questionário sobre características sociodemográficas, como estudos e ocupação, hábito de fumar e beber, e outras

características relacionadas com seu estilo de vida, e a coleta de uma amostra de sangue e de urina. Os resultados obtidos nos exames (nível de ácido *trans*, *trans*-mucônico na urina e hemograma) lhe serão entregues em mãos.

Sua privacidade será respeitada e o seu nome não será jamais identificado em relatórios ou publicações que eventualmente resultem desta investigação. A propriedade das informações geradas será de uso exclusivo da equipe de pesquisa e o pesquisador responsável garante que nenhuma pessoa estranha à equipe de pesquisadores terá acesso aos dados, para que se preserve a confidencialidade das informações. Qualquer dado que possa identificá-lo será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa, e o material será em arquivo, por pelo menos 5 anos, conforme Resolução 466/12 e orientações do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da ENSP. A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo.

Os resultados da pesquisa serão informados, bem como você será orientado sobre possíveis condutas de acompanhamento e/ou tratamento caso necessárias.

Sua recusa em participar desta pesquisa não trará qualquer prejuízo pessoal ou familiar, e em caso de qualquer dúvida que tenha agora ou futuramente sobre esta investigação, poderá solicitar esclarecimentos ao pesquisador principal, Eliane Araújo.

Você receberá uma via deste termo onde consta o telefone e o endereço institucional do pesquisador principal e do CEP, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da ENSP. O Comitê de Ética é a instância que tem por objetivo defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

Rúbrica pesquisador: \_\_\_\_\_

Rúbrica participante: \_\_\_\_\_

Dessa forma o comitê tem o papel de avaliar e monitorar o andamento do projeto de modo que a pesquisa respeite os princípios éticos de proteção aos direitos humanos, da dignidade, da autonomia, da não maleficência, da confidencialidade e da privacidade.

Comitê de Ética em Pesquisa

Escola Nacional de Saúde Pública - Fundação Oswaldo Cruz

Rua Leopoldo Bulhões 1480, térreo, Manguinhos, Rio de Janeiro, CEP: 21041-210

Telefone e Fax: (21) 2598-2863

E-mail: [cep@ensp.fiocruz.br](mailto:cep@ensp.fiocruz.br)

<http://www.ensp.fiocruz.br/etica>

---

Eliane Cardoso Araújo, pesquisador principal

ENDEREÇO: Rua H, Quadra 16, Casa 6B, Bairro Jardim de Alah

TELEFONE: 99 3538-0262/ 99 9112-7935

E-MAIL: [eliane.araujo@ifma.edu.br](mailto:eliane.araujo@ifma.edu.br)

Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação na pesquisa e concordo em participar

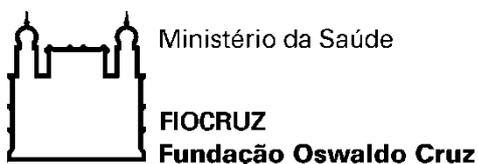
---

Assinatura do participante

Rúbrica pesquisador: \_\_\_\_\_

Rúbrica participante: \_\_\_\_\_

## ANEXO 2: QUESTIONÁRIO



### Programa de Mestrado Interinstitucional ENSP/IFMA

**PROJETO: Níveis de *trans*, *trans*-mucônico na urina como biomarcador de exposição ao benzeno e alterações hematológicas na população do bairro Piquiá de Cima, Açailândia, MA**

### QUESTIONÁRIO

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ Hora da entrevista: \_\_\_\_ Entrevistador: \_\_\_\_\_

Hora de coleta da urina: \_\_\_\_\_

#### Identificação do participante

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone fixo: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_

#### I – DADOS SÓCIO-DEMOGRÁFICOS

1 – Data de nascimento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ 2 – Idade: \_\_\_\_\_ (anos)

3 – Sexo: |\_\_| (1-Masc; 2-Fem) 4 – Cor |\_\_| (1-branco; 2-negro; 3-pardo; 4-índio)

5 – Estado Civil: |\_\_| (1-solteiro; 2-casado/união conj.; 3-viúvo/a; 4-separado/a)

6 – Nacionalidade: |\_\_| (1-Brasil; 2-outro país: \_\_\_\_\_)

7 – Natural: \_\_\_\_\_ 8 – Estado: \_\_\_\_\_

9 – Escolaridade: |\_\_| (1-superior completo; 2-médio completo; 3- fundamental completo/incompleto)

10 – Anos de escolaridade \_\_\_\_\_ (anos)

11 – Qual a renda mensal de toda sua família? (salário mínimo R\$ 510,00)

Até 500,00 |\_\_| 500,00- 1.000,00 |\_\_| 1.001,00-1500,00 |\_\_| 1.500,00-3.000,00 |\_\_|  
> 3.000,00 |\_\_|

12 – Quantas pessoas residem na sua casa? \_\_\_\_\_

13 – Há quanto tempo que reside no bairro? \_\_\_\_\_

## II – OCUPAÇÃO

14 – Você trabalha? Sim:  Não:  Desempregado/a:

15 – Se sim, em que trabalha atualmente?: \_\_\_\_\_

16 – Qual o seu local de trabalho?: \_\_\_\_\_

17 – Há quanto tempo?: \_\_\_\_\_

18 – Quais dias da semana você trabalha?: \_\_\_\_\_

19 – Qual seu horário de trabalho?: \_\_\_\_\_

20 – Em que você trabalhava antes?: \_\_\_\_\_

21 – Por quanto tempo trabalhou nesta atividade?: \_\_\_\_\_

22 – Indique se trabalha atualmente ou já trabalhou em alguma das seguintes ocupações:

Ocupações	Atualmente		Passado	
	Marcar com X	Há quanto tempo? (anos/meses)	Marcar com X	Quando? (idade) Durante quanto tempo? (anos/meses)
a. Indústria petroquímica ou de petróleo				
b. Indústria metalúrgica				
c. Fábrica de plásticos, resinas, nylon ou fibras sintéticas				
d. Fábrica de borracha				
e. Fábrica de lubrificantes				
f. Fábrica de corantes, detergentes				
g. Fábrica de tintas				
h. Fábrica de calçados				
i. Posto de gasolina				
j. Frentista posto gasolina				
k. Borracheiro				
l. Mecânico				
m. Motorista				
n. Bombeiro				
o. Guarda/agente de trânsito				

p. Outro trabalho na rua		(Especificar)		(Especificar)
q. Artista plástico				
r. Cabeleireiro				

### III – EXPOSIÇÃO A SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

**23** – Antes e/ou durante a jornada de trabalho de hoje, você manipulou alguma destas substâncias químicas?

Vernizes e tintas  Colas  Produtos de limpeza  Gasolina

Outros solventes

**24** – Para mecânicos e frentistas: Manipulou gasolina antes ou durante a jornada de trabalho?

Sim  Não

**25**- Você andou de carro ou ônibus nas últimas 24 horas? Sim  Não ;

Se sim, quanto tempo permaneceu no carro ou ônibus? \_\_\_\_\_

**26** – Você pratica alguma destas atividades de lazer?

Pintura: Sim  Não  Artesanato: Sim  Não

Restauração de móveis: Sim  Não

**27** – Você reformou ou pintou sua casa recentemente? Sim  Não ; Se sim, há quantos dias/semanas/meses? \_\_\_\_\_

### IV – HÁBITO DE FUMAR

**28** – Em relação ao hábito de fumar cigarros, você é: fumante  ex-fumante  não fumante

**29** – Se você é fumante, quantos cigarros fuma por dia? \_\_\_\_\_

**30** – Quantos cigarros você fumou nas últimas 24 horas? \_\_\_\_\_

**31** – Se é fumante ou ex-fumante, com que idade começou a fumar? \_\_\_\_\_ anos

**32** – Há quantos anos fuma (para fumantes) ou fumou (para ex-fumantes)? \_\_\_\_\_ anos

**33** – Se você é ex-fumante, com que idade deixou de fumar? \_\_\_\_\_ anos

**34** – Se você sempre foi não fumante, mora ou trabalha com fumantes? Sim  Não

### V- HÁBITO DE BEBER

**35** – Em relação ao consumo de bebida alcoólica, você bebe regularmente (vinho, cerveja, cachaça, uísque, etc.)? Sim  Não

**36** – Durante os últimos 30 dias, aproximadamente, quantos dias, por semana ou por mês, você consumiu bebidas alcoólicas? \_\_\_\_\_ dias/semana \_\_\_\_\_ dias/mês

**37** – Quantas doses de bebida alcóolica você consome por dia? \_\_\_\_\_

**38** – Você consumiu alguma bebida alcóolica nas últimas 24 horas? Sim  Não ; Se sim, qual? \_\_\_\_\_ quantas doses? \_\_\_\_\_

### VI – ALIMENTOS

**39** – Você comeu algum destes alimentos nas últimas 24 horas?

Queijo: Sim  Não ; Se sim, que quantidade?: \_\_\_\_\_

Margarina Sim  Não ; Se sim, que quantidade?: \_\_\_\_\_

Castanhas: Sim  Não ; Se sim, que quantidade?: \_\_\_\_\_

Peixe defumado: Sim  Não ; Se sim, que quantidade?: \_\_\_\_\_

Tempero para salada: Sim  Não ; Se sim, que quantidade?: \_\_\_\_\_

Refrigerante: Sim  Não ; Se sim, que quantidade?: \_\_\_\_\_

Refresco: Sim  Não ; Se sim, que quantidade?: \_\_\_\_\_

Vinho: Sim  Não ; Se sim, que quantidade?: \_\_\_\_\_

Verdura em conserva: Sim  Não ; Se sim, que quantidade?: \_\_\_\_\_