

PROGRAMA DE PÓS GRADUÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Isabela Giardini

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS GENOTÓXICOS ASSOCIADOS A EXPOSIÇÃO AO  
BENZENO EM TRABALHADORES DE POSTOS DE COMBUSTÍVEIS NO  
MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO**

Rio de Janeiro

2016

Isabela Giardini

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS GENOTÓXICOS ASSOCIADOS A EXPOSIÇÃO AO  
BENZENO EM TRABALHADORES DE POSTOS DE COMBUSTÍVEIS NO  
MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito para obtenção do título de Mestre em Vigilância Sanitária

Orientadoras: Dra. Karen Friedrich  
Dra. Marcia S. de Campos Mello

Rio de Janeiro

2016

Isabela Giardini

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS GENOTÓXICOS ASSOCIADOS A EXPOSIÇÃO AO  
BENZENO EM TRABALHADORES DE POSTOS DE COMBUSTÍVEIS NO  
MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós  
Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto  
Nacional de Controle de Qualidade em Saúde  
da Fundação Oswaldo Cruz como requisito  
para obtenção do título de Mestre em  
Vigilância Sanitária

Aprovado em: 30 / 03 / 2016

**BANCA EXAMINADORA**

---

Fabio Coelho Amendoeira (Doutor)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – INCQS

---

Sheila Coelho Soares Lima (Doutora)  
Instituto Nacional do Câncer – INCA

---

Katia Soares da Poça (Doutora)  
Instituto Nacional do Câncer – INCA

---

Karen Friedrich (Doutora) - Orientadora  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – INCQS

---

Marcia Sarpa de Campos Mello (Doutora) - Orientadora  
Instituto Nacional do Câncer - INCA

Catálogo na fonte  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde  
Biblioteca

Giardini, Isabela

Avaliação dos efeitos genotóxicos associados a exposição ao benzeno em trabalhadores de postos de combustíveis no Município do Rio de Janeiro / Isabela, Giardini – Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2016.

139 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) – Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional em Controle de Qualidade em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. 2016.

Orientadoras: Karen Friedrich, Marcia S. de Campos Mello

1. Contaminação Química. 2. Exposição Ocupacional. 3. Doenças Profissionais. 4. Benzeno. 5. Dano ao DNA. 6. Testes para Micronúcleos. I. Título

Evaluation of genotoxic effects associated with exposure to benzene in gas station attendants in Rio de Janeiro.

**À Luiza, Lucas e Ivan, pelas palavras de sabedoria, pelos conselhos, pela compreensão durante esses anos de estudo e pela certeza de que o sucesso é trilhado pelo caminho do conhecimento.**

## AGRADECIMENTOS

Maravilhoso é olhar para trás e ver quantos momentos foram vividos, quantos sorrisos, quantos obstáculos vencidos, quantas preocupações!

A Deus, por toda orientação, luz e sabedoria concedida. Por ser a força que me ajudava a caminhar nos momentos de fraqueza e dificuldade;

A meus pais e irmão, por exatamente tudo. Vocês são meus maiores e melhores exemplos. Sem vocês eu nada seria!

Ao meu amor Tiago por me alegrar nos momentos difíceis, por todos os conselhos e amizade. Obrigada principalmente por ser a razão do meu sorriso de todos os dias.

À minha orientadora Marcia Sarpa por ser muito mais do que uma orientadora. Obrigada por acreditar em meus sonhos e ajudar a torná-los realidade. Obrigada por estar sempre disponível a nos ajudar, obrigada pela confiança depositada em mim em todo esse tempo. E por sempre acreditar no potencial que existe em cada um de nós, obrigada!

À minha orientadora Karen Friedrich pelo incentivo e apoio desde a iniciação científica. Minha vida mudou completamente com a sua orientação e só posso agradecer-la por isso.

À Katia Poça por tudo! Acho que sem você não conseguiria chegar tão longe! Obrigada por me orientar, por me ajudar nas dificuldades, pelo apoio no processamento das amostras, nas leituras e por tudo aquilo que você fez por mim em todo esse tempo. Obrigada pela amizade e por também acreditar em meu potencial!

À Antonella Bellomo e à Paula Baptista pela ajuda nas coletas, processamentos e leituras de lâminas. Obrigada também pela amizade e por sempre me ajudar quando precisei.

A toda equipe Antonella., Barbara, Deborah, Katia, Luisa, Marcia, Paulinha, Ubirani e Valnice. Cada uma teve um papel essencial para esta pesquisa. Obrigada a todas!

A Elida e Fernanda pela ajuda nas questões estatísticas.

Ao Departamento de Farmacologia e Toxicologia do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/FIOCRUZ) por ceder espaço para a realização deste trabalho.

Ao Departamento Vigilância do Câncer relacionado ao Trabalho e ao Ambiente do Instituto Nacional do Câncer (INCA) pelo apoio e incentivo para a execução deste trabalho.

Por último mas não menos importante, agradeço a todos os trabalhadores de postos de combustíveis por se tornarem sujeitos desta pesquisa. Obrigada pela confiança depositada em nós para que mudanças nos processos possam acontecer visando a proteção e promoção da saúde do trabalhador.

*Viver é a coisa mais rara do mundo.  
A maioria das pessoas apenas existe.*

Patrick Rothfuss – O Nome do Vento



## RESUMO

O benzeno é uma das substâncias mais produzidas em quantidade e diversidade e está presente na composição de diversos produtos entre eles a gasolina. Por sua ação carcinogênica, exige maior controle e precaução, admitindo-se que para substâncias carcinogênicas e genotóxicas não há limite seguro de exposição. No Brasil, trabalhadores de postos de combustíveis são expostos ao benzeno cronicamente através da inalação e/ou absorção dérmica de concentrações da substância durante o processo de trabalho e por se tratar de uma substância cancerígena é minimamente necessária a vigilância de todas as formas de contaminação, inclusive relacionadas ao ambiente de trabalho. A Vigilância Sanitária assume um papel fundamental, dando suporte ao monitoramento a exposição ocupacional dos trabalhadores ao benzeno e a outras substâncias químicas a fim de avaliar os riscos e implementar estratégias para melhorar as condições ocupacionais e estabelecer um ambiente de trabalho seguro. O objetivo deste estudo foi investigar a associação entre a exposição ao benzeno e os efeitos genotóxicos, utilizando o teste do micronúcleo (MN). Ensaio citogenéticos, como é o caso do teste do MN, são capazes de fornecer informações fundamentais para o estabelecimento do potencial genotóxico de agentes químicos e físicos, pois avaliam a formação de danos decorrentes de exposição prévia. Os resultados desta pesquisa mostraram um aumento significativo de células com micronúcleo no grupo exposto ocupacionalmente ao benzeno, comparado com o grupo de trabalhadores não expostos. Além disso, foi possível identificar a maior frequência de sinais e sintomas, como sudorese noturna e tremores, característicos de benzenismo em trabalhadores com contagem de micronúcleos indicativa de efeitos genotóxicos. Foi possível identificar também, a execução de atividades caracterizadas por aumentar a exposição ao benzeno e associá-la aos efeitos genotóxicos e manifestações clínicas presentes na intoxicação por benzeno. As informações resultantes dessa pesquisa poderão ser consideradas para a execução e interpretação de programas de monitorização de populações expostas às substâncias genotóxicas e irão subsidiar estratégias de prevenção, controle e vigilância do câncer relacionado ao trabalho e ao ambiente.

Palavras-chave: Vigilância Sanitária. Benzeno. Teste do Micronúcleo.

## **ABSTRACT**

Benzene is one of the substances produced in quantity and diversity and is present in the composition of various products such as gasoline. For its carcinogenic action requires greater control and caution, assuming that for genotoxic carcinogens and there is no safe limit of exposure. In Brazil, gas stations workers are exposed to benzene chronically through inhalation or dermal absorption of substance concentrations in the process of work and because it is a carcinogen is minimally necessary surveillance of all forms of contamination, including related the working environment. The health surveillance plays a key role in supporting the monitoring occupational exposure of workers to benzene and other chemicals to assess the risks and implement strategies to improve occupational conditions and establish a safe working environment. The aim of this study was to investigate the association between exposure to benzene and genotoxic effects, using the micronucleus test (MN). Cytogenetic assays, such as the MN test, is capable of providing key information for establishing the potential mutagenic chemical and physical agents, for evaluating the formation damage resulting from prior exposure. Our results showed a significant increase of cells with micronuclei in the occupationally exposed to benzene group compared to the group of workers not exposed. Moreover, it was possible to identify the highest frequency characteristic signs and symptoms, such as night sweats and tremors, of benzene poisoning workers with micronuclei count indicative genotoxic effects. It was possible to identify also the execution of activities characterized by increasing exposure to benzene and associate it to the genotoxic effects and clinical manifestations present in benzene poisoning. The result of this research information may be considered for implementation and interpretation of population monitoring programs exposed to mutagenic substances/genotoxic and will support strategies for prevention, control and surveillance of cancer related to labor and environment.

**Keywords:** Health Surveillance. Benzene. Micronucleus Test.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Distribuição dos postos de combustíveis por região geográfica.....	22
Figura 2. Vias de metabolização do benzeno.....	27
Figura 3. Formação de MN a partir de quebra ou perda cromossômica; formação de PNP a partir de cromossomos dicêntricos; e BN a partir da amplificação gênica .....	38
Figura 4. Esquema Teste do Micronúcleo .....	48
Figura 5. Tipos de células encontradas no teste do micronúcleo .....	51
Figura 6. Comparação do histórico de doenças pregressas segundo a contagem de micronúcleos da população total do estudo e de ambos os grupos estudados (grupo não exposto e grupo exposto ocupacionalmente ao benzeno) analisados separadamente e inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.....	74
Figura 7. Sinais e sintomas característicos da exposição ao benzeno apresentados pelos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015 de acordo com a contagem de micronúcleos.....	75
Figura 8. Sinais e sintomas característicos da exposição ao benzeno dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) de acordo com a contagem de micronúcleos .....	76

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Variáveis do estudo dos efeitos genotóxicos em trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) que foram inserido no estudo entre os anos de 2014 e 2015 ..... 53
- Tabela 2. Análise descritiva das variáveis demográficas e socioeconômicas dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015, segundo a categoria de exposição da população de estudo..... 59
- Tabela 3. Análise dos hábitos de vida dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015, segundo a categoria de exposição..... 60
- Tabela 4. Análise do histórico de doenças pregressas relacionadas com a exposição ao benzeno dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015 ..... 61
- Tabela 5. Análise de sinais e sintomas relatados pelos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015, segundo a categoria de exposição ..... 62

Tabela 6. Análise do tempo de trabalho dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015, segundo a categoria de exposição.....	64
Tabela 7. Análise da exposição a substâncias químicas dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015, segundo a categoria de exposição .....	65
Tabela 8. Distribuição das atividades e hábitos ocupacionais que aumentam a exposição a benzeno realizados por trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015 .....	66
Tabela 9. Média de <i>AttM-U</i> dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015, de acordo com os idade e estilos de vida .....	67
Tabela 10. Níveis de <i>AttM-U</i> de acordo com as atividades/hábitos ocupacionais dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.....	68
Tabela 11. Frequência dos desfechos para os potenciais genotóxico e citotóxico avaliados em trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015 .....	70

Tabela 12. Outros marcadores de dano citogenético avaliados nos linfócitos binucleados dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015 .....	71
Tabela 13. Relação entre a contagem de micronúcleos e as características demográficas, socioeconômicas e estilo de vida dos trabalhadores não expostos ocupacionalmente ao benzeno e dos trabalhadores expostos ocupacionalmente ao benzeno inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.....	73
Tabela 14. Avaliação do tempo de trabalho e exposição a substâncias químicas, segundo a contagem de micronúcleos dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015 .....	77
Tabela 15. Tempo de trabalho segundo a contagem de micronúcleos dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015. ....	78
Tabela 16. Atividades ocupacionais que aumentam a exposição ao benzeno, segundo o número de micronúcleos, em trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015. ....	79
Tabela 17. Níveis de <i>AttM-U</i> de acordo com a contagem de micronúcleos dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015 .....	80

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACGIH	<i>American Conference of Governmental Industrial Hygienists</i> (Conferência Governamental Americana de Higienistas Industriais)
ANP	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
AttM	Ácido <i>trans,trans</i> -mucônico
AttM-U	Ácido <i>trans,trans</i> -mucônico Urinário
ATSDR	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i> (Agência para as substâncias tóxicas e registo de doenças)
BN	Broto Nuclear
BO	Óxido de Benzeno
BTEX	Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno
BTX	Benzeno, Tolueno e Xileno
CEMO	Centro de Transplante de Medula Óssea
CEPESC	Centro de Estudos e Pesquisa em Saúde Coletiva
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CtB	Citocalasina B
CYP	Citocromo
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
FAPERJ	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
<i>g</i>	Força gravitacional
GNV	Gás Natural Veicular
HCI	Hospital do Câncer I
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i> Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i> (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer)
IBE	Indicador Biológico de Exposição
IDN	Índice de Divisão Nuclear
INCA	Instituto Nacional do Câncer
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
IPVS	Índice Imediatamente Perigoso a Vida e a Saúde

m	Metro
mg	Miligrama
mL	Mililitro
M	Molar
MN	Micronúcleo
MNCtB	Teste do Micronúcleo com Citocalasina B
MTE	Ministério do Trabalho e Emprego
NIOSH	<i>National Institute for Occupational Safety and Health</i> Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional
nm	Nanômetro
OECD	<i>Organization for Economic Cooperation and Development</i> Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
PNP	Ponte Nucleoplasmática
ppm	Parte por milhão
PRC	Posto Revendedor de Combustível
RPM	Rotação por Minuto
SEBRAE	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SST-MTb	Secretaria de Segurança e Saúde no Trabalho do Ministério do Trabalho brasileiro
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TLV-TWA	Time weight average (Média Ponderada no Tempo)
US-EPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i> (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)
UNIRIO	Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
VRT	Valor de Referência Tecnológico
V/V	Volume por volume



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
1.1	ASPECTOS ECONÔMICOS E IMPACTOS À SAÚDE RELACIONADOS A POSTOS DE REVENDA DE COMBUSTÍVEIS .....	20
1.2	BENZENO .....	23
1.2.1	Exposição humana ao benzeno .....	24
1.2.2	Metabolismo do benzeno .....	25
1.2.3	Indicadores Biológicos de Exposição ao Benzeno .....	27
1.2.4	Efeitos Tóxicos do Benzeno .....	32
1.2.5	Mutagênese e Carcinogênese .....	34
1.3	TESTE DO MICRONÚCLEO EM LINFÓCITOS PERIFÉRICOS .....	36
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>40</b>
2.1	ANTECEDENTES DA PESQUISA .....	41
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>43</b>
3.1	OBJETIVO GERAL .....	43
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	43
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>44</b>
4.1	SELEÇÃO DOS POSTOS DE COMBUSTÍVEIS .....	44
4.2	POPULAÇÃO DO ESTUDO .....	44
4.3	COLETA DE DADOS .....	45
4.4	TESTE DO MICRONÚCLEO EM LINFÓCITOS PERIFÉRICOS .....	47
4.4.1	Cultura de linfócitos binucleados .....	47
4.4.2	AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO .....	49
4.4.3	AVALIAÇÃO DO EFEITO GENOTÓXICO .....	50
4.5	AVALIAÇÃO DO INDICADOR BIOLÓGICO DE EXPOSIÇÃO – <i>AttM-U</i> .....	52
4.6	VARIÁVEIS DO ESTUDO .....	53
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS .....	55
4.8	ASPECTOS ÉTICOS .....	56
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>58</b>
5.1	DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO SEGUNDO A CATEGORIA DE EXPOSIÇÃO .....	58
5.1.1	Características ocupacionais do grupo exposto .....	65

5.1.2	Características do grupo exposto segundo a análise do <i>AttM-U</i> .....	67
5.2	ASSOCIAÇÃO ENTRE EFEITOS GENOTÓXICOS E EXPOSIÇÃO AO BENZENO.....	69
5.2.1	Análise descritiva das características da população segundo a contagem de micronúcleos .....	71
5.2.2	Características ocupacionais do grupo exposto segundo a contagem de micronúcleos .....	78
5.2.3	Análise de regressão multivariada.....	80
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>82</b>
6.1	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO .....	82
6.2	EFEITOS GENOTÓXICOS .....	86
6.3	AVALIAÇÃO DO <i>AttM-U</i> .....	90
6.4	ALTERNATIVAS PARA A REDUÇÃO DA EXPOSIÇÃO DE TRABALHADORES DE POSTOS DE COMBUSTÍVEIS AO BENZENO.....	90
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>93</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>95</b>
	<b>ANEXO A – CARTA DE APRESENTAÇÃO AO RESPONSÁVEL DO POSTO DE COMBUSTÍVEL .....</b>	<b>108</b>
	<b>ANEXO B – TCLE TRABALHADORES DE POSTOS DE COMBUSTÍVEIS.....</b>	<b>111</b>
	<b>PROCEDIMENTOS DO ESTUDO.....</b>	<b>111</b>
	<b>ANEXO C – TCLE VOLUNTÁRIO NÃO EXPOSTO OCUPACIONALMENTE A GASOLINA.....</b>	<b>115</b>
	<b>ANEXO D – “QUESTIONÁRIO INDIVIDUAL” .....</b>	<b>119</b>
	<b>ANEXO E – “QUESTIONÁRIO CLÍNICO” .....</b>	<b>130</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define saúde não apenas como a ausência total de doenças, mas uma situação de perfeito bem-estar físico, mental e social (WHO, 1946). No entanto, o conceito de saúde e qualidade de vida engloba diversos determinantes, caracterizados por promover mecanismos que influenciam a ocorrência de agravos na saúde da população (BUSS; PELLEGRINI, 2007). Desse modo, deslocando-se do eixo puramente individual, ampliando sua atuação a diversos segmentos, o conceito ampliado de saúde demanda necessariamente a visão intersetorial e interdisciplinar (ALVES, 2003). Partindo desses pressupostos, fatores relacionados ao estilo de vida, disponibilidade de alimentos e acesso a ambientes e serviços essenciais, como de saúde e educação e condições ideais de trabalho exercem papel fundamental para garantia da saúde como direito fundamental.

Por isso, diferentes órgãos de Estado desempenham papel fundamental para a saúde. Na área da saúde, propriamente dita, as áreas componentes da Vigilância em Saúde (Vigilância Epidemiológica, Vigilância Sanitária e Vigilância Ambiental e do Trabalhador) devem atuar de forma integrada de modo a prevenir danos à saúde decorrentes da exposição a agentes químicos, físicos e biológicos de maneira mais efetiva. Suas ações têm por objetivo a observação e análise permanente da situação de saúde da população destinando-se, mais diretamente, a controlar os riscos, determinantes e danos à saúde visando proteger, prevenir e controlar doenças e promover a saúde (BRASIL, 2010; BRASIL, 2013).

A saúde do trabalhador constitui um campo da saúde pública e parte do princípio de que o trabalho é um determinante fundamental para o processo saúde-doença. Sendo assim, os principais constituintes que desencadeiam danos à saúde do trabalhador devem ser detectados e analisados para que medidas possam ser tomadas a fim de prevenir os riscos e garantir o nível mais elevado de bem-estar e qualidade de vida durante a jornada de trabalho (MENDES; DIAS, 1991; BUSS; PELLEGRINI, 2007). É importante ressaltar que o conceito saúde do trabalhador não significa somente a ausência de doenças ocupacionais e acidentes de trabalho, mas também a transformação dos processos de trabalho objetivando a eliminação de riscos pontuais que podem ocasionar agravos à saúde (BRITO; PORTO, 1991).

A necessidade de maior articulação das diferentes áreas da Vigilância em Saúde é incontestável. Nesse sentido, a Portaria que definiu o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária e sua abrangência definia no seu artigo 3º, Vigilância Sanitária como o conjunto de ações, dentre outras, capaz de “exercer fiscalização e controle sobre o meio ambiente e os

fatores que interferem na sua qualidade, abrangendo os processos e ambientes de trabalho, a habitação e o lazer” (BRASILa, 1994). A Portaria ressalta ainda que cabe, necessariamente, à Vigilância Sanitária “as ações destinadas à promoção e proteção da saúde do trabalhador submetido aos riscos e agravos advindos dos processos e ambiente de trabalho” (BRASILa, 1994). Por consequência, a Vigilância Sanitária tem um papel fundamental para diminuir e/ou prevenir os riscos de exposição a substâncias que podem prejudicar a saúde dos trabalhadores durante a sua jornada de trabalho. Porém, na prática observa-se o distanciamento das ações de Vigilância Sanitária sobre os riscos à saúde humana no ambiente de trabalho, resultando em lacunas regulatórias que terminam por contribuir para a complexidade da determinação social do processo saúde-doença em certas atividades laborais como as do campo petroquímico.

O exercício de atividades laborais em ambientes com riscos ocupacionais nem sempre está acompanhado do conhecimento do potencial danoso que esses agentes possuem. Muitas vezes essa percepção do risco por parte do trabalhador, dos profissionais de saúde e agências regulatórias é dificultada, pois não é uma tarefa simples identificar onexo causal, levando em conta as inúmeras substâncias, as quais são expostos no cotidiano e também devido ao tempo decorrente entre a exposição ocupacional e a manifestação da doença (D’ALASCIO et al, 2013; CAMPOS, 2013). Este fato reforça a importância do monitoramento dos efeitos a saúde dos trabalhadores após a exposição a esses agentes químicos e a adoção de medidas de proteção da saúde e de intervenções regulatórias mais efetivas por parte dos órgãos públicos competentes.

## 1.1 ASPECTOS ECONÔMICOS E IMPACTOS À SAÚDE RELACIONADOS A POSTOS DE REVENDA DE COMBUSTÍVEIS

As alterações na organização do trabalho e conseqüentemente na saúde dos trabalhadores, estão relacionadas com diversas mudanças ocorridas durante o desenvolvimento mundial. Na perspectiva da globalização é possível observar um aumento na produção industrial levando ao incremento de novas tecnologias, processos produtivos, entre outros, gerando grande impacto nas formas de trabalho, saúde e ambiente. Para a grande maioria dos trabalhadores pertencentes a países menos desenvolvidos, a liberação do comércio acompanhou a transferência de processos de trabalho e produtos potencialmente

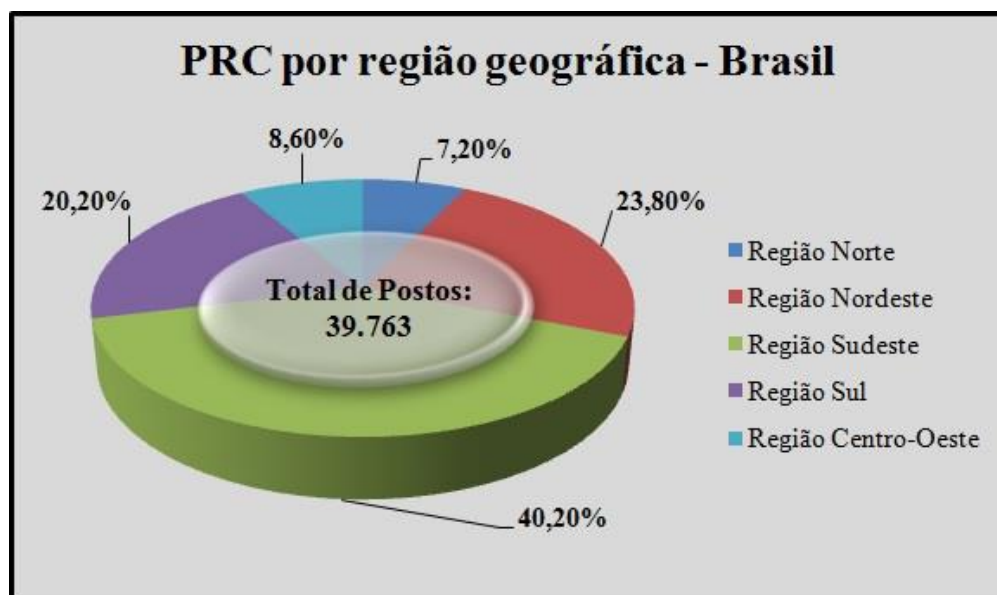
perigosos e danosos à saúde, muitas vezes não mais utilizados nos países de origem, mas com potencial para o desenvolvimento de diversas doenças difíceis de serem reconhecidas e correlacionadas com a atividade ocupacional (COSTA, 2009).

Neste cenário de globalização, a indústria química possui um papel de destaque estando presente em praticamente todos os bens de consumo e em todas as atividades econômicas contribuindo para a melhoria dos processos e a qualidade dos produtos. A indústria química brasileira ocupa em termos de faturamento líquido a nona posição no ranking mundial do setor (ABIQUIM, 2010). É responsável pela produção de grande quantidade e variedade de insumos para todos os outros setores da economia, entre eles encontra-se o setor do petróleo. O estado do Rio de Janeiro, no ano de 2012, foi o maior produtor de petróleo do Brasil, com 40% da produção nacional (BASTOS, et al, 2007; ANP, 2015). Em 2014, a produção nacional de petróleo atingiu 822,9 milhões de barris (média de 2,3 milhões de barris/dia) ficando na 13ª colocação do ranking mundial de produtores de petróleo. A produção do Estado do Rio de Janeiro passou de 1,46 milhão de barris/dia em 2013 para 1,54 milhão de barris/dia em 2014, sendo responsável por 68,4% da produção total de petróleo ressaltando a importância da indústria petroquímica aos níveis Estadual e Nacional (ANP, 2015).

Dentre as atividades de comercialização petroquímica, encontram-se os postos revendedores de derivados de petróleo. No final de 2014, 39.763 postos revendedores de derivados de petróleo operavam no país, com aproximadamente 40,2% localizados no Sudeste e 13% destes situados no estado do Rio de Janeiro (Figura 1). No mesmo ano, os postos revendedores que operavam com bandeira branca no território nacional corresponderam a 40,7%. Cabe ressaltar que postos de bandeira branca são aqueles que optam por não exibir nenhuma marca comercial de nenhuma distribuidora (ANP, 2015).

A atividade de revenda varejista de combustíveis automotivos somente pode ser exercida por pessoa jurídica constituída sob as leis brasileiras, que possuir em caráter permanente, registro de revendedor varejista expedido pela Agência Nacional do Petróleo (ANP) e dispuser de posto revendedor com tancagem para armazenamento, *i.e.*, armazenamento de líquidos em tanques e equipamento medidor de combustíveis automotivos (BRASIL, 2000). Os produtos que podem ser comercializados em um posto revendedor de combustíveis são gasolina, etanol, diesel e gás natural veicular (GNV).

Figura 1 - Distribuição de postos revendedores de combustíveis (PCR) por região geográfica.



Fonte: ANP, 2015. Adaptado.

A gasolina é um combustível de composição complexa, consistindo de uma mistura de hidrocarbonetos voláteis e inflamáveis derivados do petróleo. São hidrocarbonetos leves, pois são constituídos predominantemente por cadeias carbônicas menores com 4 a 12 átomos de carbono (SILVA, 2004). Os hidrocarbonetos aromáticos, em particular benzeno, tolueno, etilbenzeno e os isômeros do xileno (BTEX) constituem um grupo de substâncias presentes na gasolina, com sua concentração controlada, uma vez que podem causar efeitos prejudiciais à saúde (PERIAGO; ZAMBUDIO; PRADO, 1997). A Portaria nº 775 de 28 de abril de 2004 proíbe a comercialização de produtos que contenham em sua composição o benzeno, admitindo-se somente a sua presença como agente contaminante em um percentual não superior a 1% para os combustíveis derivados do petróleo (BRASIL, 2004). O benzeno é adicionado na gasolina para o aumento da octanagem. A capacidade de auto-ignição de uma gasolina está relacionada com o número de octanas. Uma alta octanagem significa que a gasolina suporta altas pressões e temperaturas, resultando em um desempenho melhor dos veículos. Hidrocarbonetos aromáticos, como o benzeno, possuem valores de octanagem muito elevados (CHANG, 2007).

A exposição de trabalhadores ao benzeno em suas atividades diárias é chamada exposição ocupacional incluindo atividades que vão desde o seu processo de síntese às atividades que possam liberar gases e vapores como emissões fugitivas. No setor de revenda de combustíveis são envolvidos trabalhadores como gerentes/encarregados de pista,

lubrificadores, lavadores de carros, trabalhadores de lojas de conveniência e frentistas. Esses trabalhadores estão expostos a fumaça de escapamentos automotivos e expostos também ao contato direto com o benzeno presente na gasolina (MARTINS, 2009).

A importância da avaliação da exposição ocupacional se deve ao fato dos trabalhadores se encontrarem muitas vezes expostos diariamente a concentrações elevadas de produtos tóxicos sem o uso de equipamentos de proteção adequados e não terem consciência dos seus agravos à saúde (COSTA, 2001). A principal fonte de exposição ao benzeno se dá através da sua evaporação, portanto, os ambientes gerais de trabalho das empresas que o produzem, que o distribuem e os postos de revenda de combustíveis podem sofrer contaminação por benzeno e gerar impactos a saúde humana e ao meio ambiente (LAUWERYS; HOET, 1993; CASTRO et al., 2003; BOND et al., 1986).

## 1.2 BENZENO

O benzeno é um hidrocarboneto policíclico aromático com fórmula molecular  $C_6H_6$ . Apresenta-se em temperatura ambiente como um líquido volátil, estável e incolor, encontrado principalmente no petróleo, como subproduto na transformação do carvão em coque em siderúrgicas e em processos de síntese química (CAMPOS, 2013). Possui o odor adocicado característico dos hidrocarbonetos aromáticos e um ponto de ebulição relativamente baixo ( $80,1^\circ C$ ). É altamente inflamável, pouco solúvel em água e miscível na maior parte dos solventes orgânicos (MARTINS, 2009). Além disso, devido ao seu elevado poder de volatilização, possui grande repercussão na contaminação atmosférica (FERNANDES et al., 2002).

A Norma Regulamentadora nº 15 do Ministério do Trabalho e Emprego (MTE), restringiu em seu anexo 13, a utilização do benzeno para indústrias e laboratórios que o produzem e o utilizem em processos de síntese química e também como constituinte de combustíveis derivados de petróleo e nas análises laboratoriais onde não haja outra substância que o substitua (BRASIL, 1995). Atualmente, o benzeno é uma matéria-prima de grande utilização em todos os setores produtivos, desde a agricultura até o setor aeroespacial, com valor de uso e de troca extremamente lucrativo para o sistema econômico e produtivo (CORREA, 2008). Está presente na indústria do petróleo e em seus derivados (naftas,

gasolinas, solventes e outros), sendo matéria-prima básica importante na indústria química para fabricação de vários produtos como plásticos, resinas, fibras, detergentes, corantes, pesticidas, entre outros. Também é utilizado como solvente e na composição de outros químicos, caracterizando-se como matéria-prima para a produção de produtos e subprodutos que fazem parte dos insumos e base para artigos como vestuário, habitação, transporte, limpeza, fertilizantes, entre outros (CORREA, 2008).

### 1.2.1 Exposição humana ao benzeno

A exposição humana ao benzeno pode ocorrer a partir de diferentes fontes, presentes em ambientes ocupacionais e não-ocupacionais. A liberação do benzeno para o ambiente ocorre devido a fontes naturais e/ou antropogênicas, através de emissões de gases de escapamento de veículos automotores, pela queima de combustíveis, pelas emissões como efluente industrial e pela fumaça de cigarros (MARTINS, 2009).

As principais vias de exposição ao benzeno são as vias respiratória e oral. A via cutânea possui alto índice de absorção, mas é menos frequente, sendo necessário contato dérmico com essa substância na forma líquida (JOHNSON; LANGARD; LIN, 2007). Em termos de saúde pública, a via de contaminação com maior relevância é a inalatória. Por esta via, a maior parte do benzeno inalado é eliminada pela expiração, a porção absorvida rapidamente chega a corrente sanguínea, distribuindo-se pelos tecidos principalmente aqueles com alto teor lipídico (COSTA, 2001, WHO, 1996). Após a absorção, a metabolização do benzeno ocorre preferencialmente no fígado. No processo de excreção dos metabólitos gerados, o rim é o principal responsável por tal função (DOUGHERTY, et al., 2008).

O desenvolvimento e crescimento dos grandes centros urbanos contribuem para um aumento da emissão de poluentes químicos para a atmosfera. A principal fonte de exposição ambiental ao benzeno ocorre através da evaporação da gasolina. Nos grandes centros urbanos, onde há maior concentração de veículos, a população em geral está exposta a concentrações altas de benzeno no ar (LARSEN; LARSEN, 1998). As fontes principais variam desde o ar exterior, oriundas de indústrias e fumaças de veículos, até os hábitos e costumes da população como o hábito de fumar, por exemplo. A fumaça de cigarro é uma das principais fontes não-ocupacionais de benzeno em ambientes fechados (LARSEN; LARSEN, 1998).



A exposição ocupacional ao benzeno ocorre em diversos setores incluindo indústrias químicas e petroquímicas, siderúrgicas e locais revendedores de derivados de petróleo, como os postos de combustíveis. Segundo a OMS, estima-se que no mundo, cerca de 1% dos trabalhadores estão expostos ocupacionalmente ao benzeno à concentrações acima de 10 ppm; 4% na faixa compreendida entre 1 e 5 ppm e 95% expostos a níveis não superiores a 1 ppm (PEZZAGNO, 1995). Diante deste cenário, diversos órgãos do campo da Saúde Pública estabeleceram valores limites de benzeno no ar, a fim de restringir o máximo possível o limite de exposição ao benzeno. Desta forma, a *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) estabeleceu IPVS (índice imediatamente perigoso a vida e a saúde) de 0,1 ppm ( $0,3 \text{ mg.m}^{-3}$ ), a *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH), em 1997, estabeleceu o valor de 0,5 ppm ( $1,6 \text{ mg.m}^{-3}$ ) para o TLV-TWA (*Time Weight Average*) - média ponderada por 8 horas de exposição (ACGIH, 1999). Na Alemanha e no Brasil são utilizados valores de referência tecnológicos (VRT) com níveis de 1,0 ppm ( $3,3 \text{ mg.m}^{-3}$ ) e 2,5 ppm ( $8,1 \text{ mg.m}^{-3}$ ), dependendo da tecnologia da fonte emissora (PEZZAGNO, 1995; BRASIL, 1995).

No Brasil, como dito acima, foi estabelecido através da Portaria nº 14 de 20 de dezembro de 1995, do Ministério do Trabalho e Emprego, o Valor de Referência Tecnológico com o intuito de diminuir a exposição ocupacional ao benzeno, considerando a inexistência de um limite seguro para a exposição à substância (BRASIL, 1995). Os valores a serem adotados pelas empresas são relativos a concentração de benzeno no ar e correspondem a 2,5 ppm para as indústrias siderúrgicas e 1,0 ppm para as indústrias químicas e petroquímicas. Este conceito contrapõe ao Limite de Tolerância e corresponde as concentrações ambientais máximas aceitas, não excluindo risco à saúde, devendo ser utilizado como base para programas de melhoria contínua (BRASIL, 1995).

### 1.2.2 Metabolismo do benzeno

Existem três principais vias de absorção do benzeno, a via inalatória, via oral e via dérmica. A inalação de vapores atmosféricos contendo benzeno é uma via importante de absorção, pois a área do sistema respiratório capaz de absorver o benzeno é muito extensa (FUNDACENTRO, 2012). Por ser um composto altamente lipossolúvel, tende a sofrer

acumulação no tecido adiposo, além de atravessar a barreira placentária (WHO, 1993; USEPA, 2002).

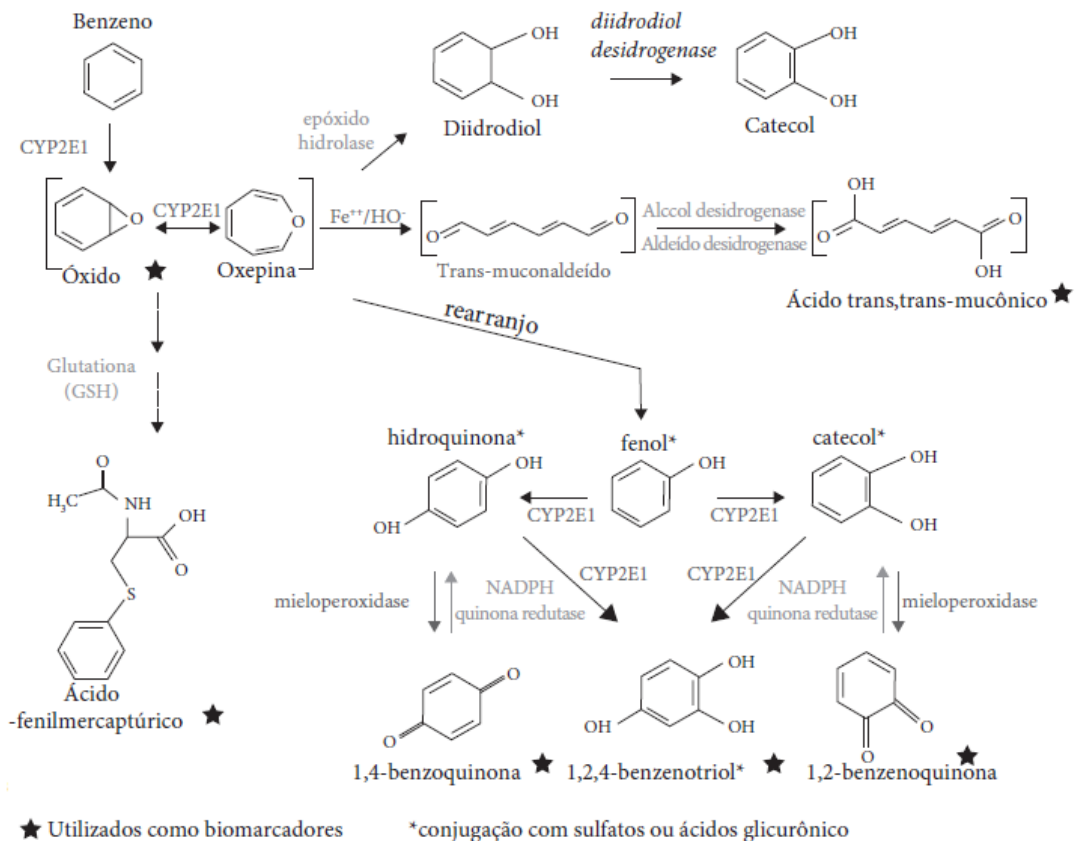
O benzeno presente na gasolina, quando em contato dérmico, é absorvido e passa para a corrente sanguínea podendo provocar os mesmos danos de quando é inalado. A absorção de vapor de benzeno pela pele, no entanto, é muito baixa e não excede 1% do que é absorvido pela respiração na mesma condição (HANKE; DUTKIEWICZ; PIOTROWSKI, 2000). A baixa absorção cutânea de benzeno ocorre, pois esta via é influenciada por diversos fatores como a temperatura corporal, integridade e hidratação da pele. Todavia, por se tratar de uma substância cancerígena, é significativa do ponto de vista do risco à saúde (CAMPOS, 2013). A absorção pode ser mais rápida no caso de pele com ferimentos e quando o benzeno está presente em uma mistura (gasolina, por exemplo) ou como contaminante em solventes (OSHA, 2014).

A exposição oral ocorre nos ambientes ocupacionais e, em geral, está relacionada à ingestão acidental, devido ao hábito de comer, beber no ambiente de trabalho e também devido a práticas inadequadas como “puxar” a gasolina do tanque com a boca, no caso dos frentistas de postos de combustíveis (FUNDACENTRO, 2012).

A excreção do benzeno não metabolizado acontece, principalmente, através do ar expirado, cerca de 10 a 50 %, dependendo da dose absorvida, da atividade metabólica e da quantidade de lipídeos presentes no organismo. Também pode ser encontrado na sua forma inalterada, em menores concentrações, no sangue e na urina. Já seus metabólitos são eliminados principalmente via trato urinário (WHO, 1993). A avaliação da exposição do indivíduo ao benzeno se dá através da identificação de seus metabólitos ou da sua forma inalterada nas diferentes matrizes biológicas aos quais são encontrados (FUNDACENTRO, 2012).

Devido a sua lipossolubilidade seu metabolismo ocorre primeiramente no fígado, e em menor extensão nos tecidos alvos, como a medula óssea (WHO, 1993). As principais vias metabólicas do benzeno estão expostas na Figura 2. O benzeno é oxidado via citocromo P-450 (CYP2E1) a óxido de benzeno (BO), um metabólito muito reativo que possui tempo de meia-vida *in vivo* estimado entre 7 e 9 minutos. Este intermediário é metabolizado por diferentes vias, gerando vários metabólitos como fenol, catecol, hidroquinona, benzoquinonas, ácidos mercaptúricos e o ácido *trans,trans*-mucônico, que são eliminados pela urina (SNYDER; HEDLI, 1996; USEPA, 2002; JOHNSON; LANGARD; LIN, 2007).

Figura 2 – Vias de metabolização do benzeno.



Fonte: Adaptação de ROSS, 2000 *apud* BARATA-SILVA, 2014.

### 1.2.3 Indicadores Biológicos de Exposição ao Benzeno

A monitorização biológica, realizada através de Indicadores Biológicos de Exposição (IBE) ou biomarcadores de exposição, tem como objetivo estimar a relação entre a exposição ambiental ou ocupacional e os subsequentes efeitos individuais e em grupo prevenindo a exposição excessiva a agentes tóxicos através da identificação precoce de uma exposição excessiva ou perigosa (FUNDACENTRO, 2012). Os biomarcadores podem ser substâncias tóxicas não reativas, os seus metabólitos ou os produtos de reação desses tóxicos com substâncias que ocorrem naturalmente no corpo (COUTRIM, 2000). Muitos parâmetros biológicos podem estar alterados em decorrência da interação entre o agente químico e o organismo, assim presença destas substâncias em fluidos biológicos como o sangue e a urina,

tecidos ou ar exalado indica se ocorreu ou não exposição a um determinado agente tóxico (FUNDACENTRO, 2012). O IBE deve ser específico e o seu nível no organismo deve se correlacionar com a extensão da exposição (MEDEIROS; BIRD; WITZ, 1997; FUNDACENTRO, 2012).

Matrizes biológicas como ar exalado, sangue e urina são utilizadas como indicadores de exposição ao benzeno, para a determinação da substância tóxica ou de seus metabólitos (COSTA, 2001). O benzeno na sua forma inalterada pode ser detectado através do ar exalado, urina e sangue. O benzeno excretado através do ar exalado é um indicador biológico específico e sensível a baixas concentrações ambientais e coletado através de processo não invasivo, porém a sua utilização como indicador biológico de exposição apresenta a desvantagem do ar expirado não ser uma amostra homogênea. A utilização do benzeno inalterado na urina como indicador biológico de exposição é prejudicada, pois a fração eliminada é muito pequena, cerca 0,1 a 0,3% do total absorvido. O benzeno no sangue é um indicador específico e sensível, mas não é muito utilizado por se tratar de um processo invasivo não muito aceito pelos trabalhadores (COSTA, 2001).

Dentre as possíveis matrizes biológicas utilizadas como indicadores biológicos de exposição ao benzeno, a urina é a mais utilizada e mais conveniente por ser coletada através de um processo não invasivo e permitir que grandes volumes sejam amostrados (COSTA, 2001). Além disso, a urina coletada no final da jornada de trabalho tem sido indicada por apresentar uma resposta mais eficaz da média da exposição ao longo do dia de trabalho quando comparada ao ar exalado e ao sangue (HOET, 1996).

Aproximadamente 40% do benzeno absorvido pelo organismo é transformado em compostos fenólicos. Sua excreção se dá principalmente pela urina, livre ou combinado com os ácidos glicurônico ou sulfúrico (PEZZAGNO, 1995). O fenol urinário era utilizado como biomarcador de exposição ao benzeno. Porém, a determinação do fenol urinário não apresenta sensibilidade para avaliar exposições inferiores a 10 ppm. Este fato levou a Secretaria de Segurança e Saúde no Trabalho do Ministério do Trabalho brasileiro (SSST-MTb) a suprimir, em 1994, o uso do fenol urinário como indicador de exposição ao benzeno (BRASILb, 1994). Nos últimos anos estão sendo feitos estudos para avaliar e adotar novos biomarcadores e novas metodologias analíticas, que apresentem sensibilidade para avaliar a exposição ocupacional a baixas concentrações de benzeno (BECHTOLD et al., 1992, BECHTOLD; HENDERSON, 1993; BECHTOLD; STRUNK, 1996; ONG et al., 1995; KIVISTO et al., 1997). Entre eles estão os ácidos *trans,trans*-mucônico (*AttM*) e o ácido S-fenilmercaptúrico

na urina. Na Legislação brasileira, o ácido *trans, trans*-mucônico urinário (*AttM-U*) foi adotado como IBE ao benzeno. Como se trata de uma substância cancerígena, não é estabelecido um limite biológico para este biomarcador, considerando que não existe um valor seguro para tais substâncias (BRASIL, 2001).

Quadro 1 - Possíveis Indicadores Biológicos de Exposição ao Benzeno.

IBE-Bz	Matriz Biológica	Sensibilidade	Especificidade
Benzeno	Ar exalado	Sim	Sim
	Sangue	Sim	Sim
	Urina	Sim	Sim
Fenol Ácido <i>trans, trans</i> -mucônico Ácido S-fenilmercaptúrico Catecol e Quinol Benzenotriol N-Acetilcisteína e Tiofenol Hidroquinona N-7 Fenilguanina	Urina	Não	Não
	Urina	Sim	Não
	Urina	Sim	Sim
	Urina	Não	Não
	Urina	Não	Sim
	Urina	Não	Não
	Urina	Não	Não
	Urina	Não	Sim
Adutos de hemoglobina, de albumina e adutos de N-Fenilvalina	Sangue	Não	Sim

Fonte: WHO, 1996; Costa, 2001. Adaptado.

O ácido S-fenilmercaptúrico é um metabólito específico do benzeno (COUTRIM, 2000). Van Sittert e colaboradores (1993) observaram que apenas 0,11% do benzeno que penetra no corpo humano é biotransformado em ácido S-fenilmercaptúrico com tempo de meia vida de eliminação próxima a 9 horas. Devido a isso, este metabólito apresenta potencialidade para ser usado como IBE, preferencialmente em turnos longos de trabalho. Porém, mesmo dispondo das vantagens anteriormente citadas, o ácido S-fenilmercaptúrico não foi regulamentado como IBE para o benzeno pois ainda são necessários estudos mais aprofundados para validar seu uso rotineiro em avaliações biológicas, já que depende de metodologia complexa que envolve procedimentos de extração e derivatização para posterior determinação por cromatografia a gás com detecção por espectrometria de massas (POPP et

al., 1994) ou por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectroscopia de fluorescência (EINING & DEHNEN, 1995; GHITORI et al., 1995).

O *AttM* é produto secundário de biotransformação, originado de um intermediário altamente reativo, o aldeído *trans,trans*-mucônico, ao qual tem sido atribuída, dentre outros produtos da biotransformação benzênica, a ação mielotóxica e leucemogênica do benzeno (COOPER; SNYDER, 1988; SCHERER; RENNER; MEGER, 1998). Durante o metabolismo do benzeno, o benzeno di-hidrodiol é biotransformado primeiramente a *cis,cis*-muconaldeído, em seguida a *cis,trans*-muconaldeído e, então a *trans,trans*-muconaldeído para finalmente ser oxidado ao ácido *trans,trans*-mucônico. Segundo Zhang et al., (1995) o *cis,cis*-muconaldeído e o *cis,trans*-muconaldeído são muito instáveis para serem oxidados a ácidos mucônico e somente o *trans,trans*-muconaldeído é convertido a ácido *trans,trans*-mucônico.

Existem diversas vantagens inerentes à sua utilização, dentre as quais se pode destacar a facilidade e a sensibilidade analítica de sua determinação urinária, além de apresentar boa correlação com os níveis de benzeno no ar (FUNDACENTRO, 2012). Estudos demonstram correlação linear entre o *AttM-U* e a concentração ambiental do benzeno, característica esta essencial para a validade de um bioindicador (SCHERER; RENNER; MEGER, 1998). O *AttM* deve ser utilizado como ferramenta de acompanhamento de higiene do trabalho e da vigilância da saúde do trabalhador. A correlação entre *AttM* e benzeno é detectada em níveis ambientais do solvente inferiores a 1,0 ppm, este fato permite o seu uso como biomarcador de exposição em trabalhadores de postos de combustíveis, pois a concentração máxima de benzeno permitida pela legislação nesses ambientes é 1,0 ppm (Quadro 2). Valores acima dos correspondentes ao VRT indicam que o ambiente de trabalho não está em conformidade com o preconizado no Anexo 13 A, da Norma Regulamentadora n° 15 da Portaria n° 3.214 de 08 de junho de 1978, da SSST/MTb (FUNDACENTRO, 2012).

O quadro 2 demonstra a correlação das concentrações de *AttM-U* com benzeno no ar, corrigidos para miligrama/grama de creatinina (admitida concentração média de 1,2 grama de creatinina por litro de urina).

Quadro 2 - Correlação das concentrações de *AttM-U* com benzeno no ar.

<b>Benzeno no ar (ppm)</b>	<b>Ac. t,t mucônico (urina) (mg/grama creatinina)</b>
0,6	1,3
1,0	1,6
2,0	2,5
4,0	4,2
6,0	5,8

Fonte: Portaria nº 34 (BRASIL, 2001).

O *AttM-U* apresenta como desvantagem a influência de alguns fatores que podem modificar os níveis de concentração urinária. O *AttM-U* pode ser excretado na urina de indivíduos não expostos ocupacionalmente ao benzeno quando há ingestão de alimentos que contém o conservante alimentar ácido sórbico, porém a fração eliminada na urina é desprezível na avaliação ocupacional ao benzeno (DUCOS, et.al., 1990).

Além disso, o consumo de bebidas alcoólicas também pode ser um fator que altera as avaliações biológicas desse indicador (FUNDACENTRO, 2012). Javelaud e colaboradores (1998) registraram um aumento, em torno de 5 vezes, nos níveis urinários do ácido trans,trans-mucônico, em trabalhadores do setor informal, após o consumo de bebidas alcoólicas.

A coexposição a tolueno pode inibir a biotransformação do benzeno por competição reduzindo em 25% a concentração de benzeno quando a exposição é concomitante a tolueno nas mesmas concentrações (INOUE et al., 1989; WHO, 1996, apud COSTA, 2001). Outro fator que pode influenciar nas concentrações de *AttM-U* é o tabagismo. O tabaco pode aumentar em até 8 vezes a concentração de *AttM-U* de tabagistas quando comparado com indivíduos não fumantes, porém existem estudos que avaliam que a eliminação de *AttM-U* devido ao fumo não é considerável se comparada a exposição ocupacional (DUCOS et al., 1992; LEE, et al., 1993).

Vários autores desenvolveram diferentes metodologias de detecção do *AttM-U*, sendo a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) a mais utilizada. Dentre os métodos por CLAE encontrados na literatura, o de Ducos et al. (1990), vem sendo modificado por vários autores, mas continua a ser o método mais empregado na determinação do *AttM* urinário. Na técnica modificada ocorre uma etapa de purificação e extração prévia da urina em colunas

preparatórias de troca iônica, condicionadas com água e metanol. Esta etapa analítica tornou as análises de *AttM* urinário mais específicas e sensíveis, uma vez que inúmeras substâncias interferentes presentes na urina passaram a ser eliminadas durante a etapa de extração em fase sólida (PAULA; SILVEIRA; ALVAREZ-LEITE, 2003).

Levando em conta as diversas vantagens e desvantagens dos possíveis biomarcadores de exposição ao benzeno, o *AttM-U* é o metabólito de escolha como IBE ao benzeno devido as características inerentes deste biomarcador e a existência de metodologias analíticas satisfatórias.

#### 1.2.4 Efeitos Tóxicos do Benzeno

Os primeiros relatos dos efeitos danosos a saúde ocasionados pelo benzeno surgiram no final do século XIX, com o aparecimento de anemia em mulheres envolvidas na produção de pneus de bicicletas na Suécia e um caso de hemorragia em um trabalhador de um processo de lavagem a seco na França (MACHADO, et al., 2003). Os primeiros estudos realizados em fábricas que utilizavam o benzeno como solvente detectaram o aparecimento de doenças como anemia, leucemia e trombocitopenia (SNYDER; KOCSIS, 1975, apud SNYDER; HEDLI, 1996).

O benzeno está na sexta posição em uma lista que classifica as substâncias potencialmente tóxicas aos seres humanos pela *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ATSDR) e a US-EPA, após arsênio, chumbo, mercúrio, cloreto de vinila e bifenila policlorada, respectivamente em ordem decrescente de toxicidade (ATSDR, 2007).

No Brasil, o conjunto de sinais, sintomas e complicações, decorrentes da exposição ao benzeno é chamado de benzenismo. As complicações podem ser agudas, quando ocorre exposição a altas concentrações, ou crônicas quando a exposição se dá por um longo período de tempo a concentrações baixas com manifestações clínicas diversas. O quadro clínico contempla sinais e sintomas de repercussão orgânica múltipla, onde o comprometimento da medula óssea é mais frequente e significativo (MS, 2006). Outros sintomas incluem fraqueza, dor muscular, sonolência, tontura e sinais infecciosos de repetição (RUIZ, 1985; RUIZ; SOUZA, 1991).



Em altas concentrações o benzeno leva a efeitos agudos como caráter de irritante moderado de mucosas respiratórias e oculares e edema pulmonar quando inspirado (FUNDACENTRO, 2012). Também pode levar a efeitos tóxicos para o sistema nervoso central, causando narcose e excitação seguida de sonolência, tonturas, cefaleia, náuseas, taquicardia, dificuldade respiratória, tremores, convulsões, perda da consciência e morte (ATSDR, 2007).

Efeitos crônicos são caracterizados por exposições contínuas a baixas concentrações de benzeno. Alterações da atenção, percepção, memória, habilidade motora, função executiva, raciocínio lógico, linguagem, aprendizagem e humor também são observadas durante os efeitos crônicos da exposição ao benzeno (MS, 2006). No sistema auditivo, podem ser observadas perdas auditivas neurossensoriais, zumbidos, vertigens e dificuldades no processamento auditivo (MS, 2006). Exposições prolongadas ao benzeno podem também levar a alterações dermatológicas como eritema e dermatite irritativa (FUNDACENTRO, 2012).

As manifestações de imunotoxicidade após a exposição crônica ao benzeno estão relacionadas diretamente às alterações na produção de leucócitos e indiretamente aos efeitos que provocam na imunidade que as pessoas podem adquirir através da produção de anticorpos. Ramadan, e colaboradores (2000), trataram das consequências imunotóxicas da exposição ocupacional de 60 trabalhadores frentistas, não fumantes, de postos de combustíveis. Foram dois grupos de estudo sendo 30 expostos à gasolina por um período entre 3 e 5 anos e 30 trabalhadores expostos por mais de 5 anos. O estudo permitiu concluir que houve um aumento no risco de imunotoxicidade e genotoxicidade nos trabalhadores expostos a este combustível, risco esse proporcional ao tempo de exposição à gasolina.

O efeito tóxico do benzeno independe da via de exposição, sendo que a principal via de intoxicação ocorre pela inalação dos seus vapores, que causam irritações das mucosas oculares e respiratórias, podendo estar relacionado com sua ação direta ou pela ação de seus metabólitos (COSTA, 2001). Mesmo contando com avanços tecnológicos e científicos, o mecanismo de ação tóxica do benzeno como a relação dose-resposta entre a exposição ocupacional a esta substância e o desenvolvimento de câncer no homem ainda não estão completamente entendidos (BECHTOLD; HENDERSON, 1993; LARSEN; LARSEN, 1998). Porém, acredita-se que sua toxicidade medular deve-se a capacidade de ligação de um ou mais de seus metabólitos a macromoléculas, como DNA e proteínas (RUIZ, et al., 1993). Espécies reativas de oxigênio (peróxido de hidrogênio, radical hidroxila, ânion superóxido) resultantes

do metabolismo do benzeno podem danificar biomoléculas e levar a quebras nas fitas de DNA, formação de micronúcleos e de aberrações cromossômicas (MORO et al, 2013).

A exposição ao benzeno danifica principalmente a medula óssea, podendo levar a diversos tipos de alterações hematológicas como a hipoplasia, displasia e aplasia (MS, 2006). A aplasia da medula óssea corresponde à depressão de todas as linhagens hematológicas, expressando-se no sangue periférico por leucopenia, plaquetopenia e anemia (WAKAMATSU, 1976). Outras alterações como macrocitose, pontilhado basófilo, hipossegmentação dos neutrófilos, eosinifilia, linfocitopenia e macroplaquetas estão associadas com a toxicidade benzênica (RUIZ, 1988; RUIZ; SOUZA, 1993). A toxicidade do benzeno também está relacionada ao aparecimento de doenças onco-hematológicas como a leucemia mielóide aguda, linfoma não-Hodgkin, mieloma múltiplo e mielofibrose (MS, 2006).

Quando está associado a outros poluentes atmosféricos, o benzeno pode causar danos oxidativos ao DNA (MARTINS, 2009). Estudos realizados comparando a presença de tais danos entre crianças que residem em zonas urbanas com crianças residentes em zonas rurais mostram que as residentes em zonas urbanas, que sofrem maior exposição ao benzeno, principalmente de origem automotiva, e a outros poluentes ambientais, apresentaram mais casos de danos oxidativos ao DNA que as residentes em zonas rurais (BUTHBUMRUNG et al., 2008).

Chanvaivit e colaboradores (2007) mostraram em sua pesquisa realizada com trabalhadores expostos ocupacionalmente que este grupo apresenta uma diminuição na capacidade de reparo das fitas de DNA, o que pode elevar o risco de efeitos genotóxicos como crescimento celular irregular e a casos de câncer. De acordo com a International Agency for Research on Cancer (IARC), o benzeno é classificado como Grupo 1, o que significa que é considerado uma substância cancerígena ao homem (IARC, 1987).

### 1.2.5 Mutagênese e Carcinogênese

O aparecimento de mutações ocorre em todos os seres vivos e faz parte de um dos processos fundamentais para a evolução e diversidade das espécies. Agentes mutagênicos são aqueles capazes de alterar a sequência das bases do DNA, podendo acelerar ou aumentar o aparecimento de mutações. Após passar por várias divisões, uma célula poderá acumular

mutações que, se em número elevado, poderão determinar a perda do controle de sua divisão, determinando, assim, o aparecimento de neoplasias (RIBEIRO; MARQUES, 2003).

Os mecanismos de mutagênese e carcinogênese parecem estar intrinsecamente ligados. A mutação é uma consequência do dano ao DNA e pode ser o primeiro estágio do processo pelo qual a maioria dos carcinógenos químicos inicia a formação do tumor (RIBEIRO; SALVADORI; FENECH, 2003). Os agentes mutagênicos, que causam mutação, são tóxicos para o gene sendo, portanto, denominados agentes genotóxicos (RIBEIRO; SALVADORI; FENECH, 2003). Agentes mutagênicos interagem com o DNA celular e causam mutações, podendo ocorrer tanto em células somáticas quanto em células germinativas, sendo estas alterações chamadas de mutações somáticas e germinativas, respectivamente. As mutações somáticas não podem ser transmitidas para a prole, enquanto as germinativas podem. Estas alterações podem ser classificadas como gênicas ou cromossômicas (GRIFFITHS, et al., 1998).

Um agente cancerígeno é aquele responsável por induzir o aparecimento de neoplasias malignas ou aumentar a sua incidência. O carcinógeno produz um novo crescimento (neoplásico), aumenta a taxa de formação de tumores ou aumenta o número de combinações de tumores malignos ou benignos em uma população (MS, 2013). Os agentes cancerígenos podem ser divididos em genotóxicos quando interagem com o DNA produzindo alterações em sua estrutura ou função causando mutações, e não genotóxicos quando influenciam a progressão de células iniciadas, aquelas células com potencial para se tornarem células tumorais, por mecanismos não genéticos, geralmente promovendo o estímulo da proliferação através da continuidade da fase de promoção celular (KAUNING; KAMENDULIS, 2008).

Acredita-se que o mecanismo genotóxico do benzeno, que produz leucemia, esteja relacionado com seus metabólitos reativos através de promoção de mutações nos genes críticos relacionados com a proliferação celular e diferenciação das células progenitoras da medula óssea, levando a aberrações cromossômicas, recombinações mitóticas aberrantes, mutações de genes e/ou alterações epigenéticas (SMITH, et al., 2011).

Os testes que avaliam a genotoxicidade de determinadas substâncias podem ser classificados como *in vitro* e *in vivo* e têm como objetivo identificar e estudar os efeitos de agentes físicos, químicos e biológicos capazes de produzir danos genéticos direta ou indiretamente. A positividade nestes testes pode indicar que os agentes testados sejam potenciais mutágenos e carcinógenos para a espécie humana.

Os principais biomarcadores de genotoxicidade aos efeitos de agentes genotóxicos vem sendo aplicados a muitos anos. Dentre estes encontramos o teste de aberrações cromossômicas, troca de cromátides irmãs e o ensaio do micronúcleo que detectam alterações citogenéticas em linfócitos do sangue periférico cultivados *in vitro* (NORPPA, 2004).

O teste do micronúcleo é um parâmetro de grande validade para a detecção de alterações genéticas devido ao potencial para identificação precoce dos efeitos de agentes genotóxicos, capacidade de identificar alterações hereditárias e predição para um possível surgimento de câncer (MATEUCA et al., 2006).

### 1.3 TESTE DO MICRONÚCLEO EM LINFÓCITOS PERIFÉRICOS

A avaliação da frequência de micronúcleos (MN) (Figura 3) foi proposta primeiramente por Schimid (1975) e Heddle (1973) para avaliação genotóxica de substâncias de maneira mais simplificada. É uma técnica utilizada no campo da toxicologia genética para a determinação da presença e extensão de dano cromossômico em populações humanas expostas a agentes genotóxicos (FENECH, 2000). A avaliação do potencial genotóxico através do teste do micronúcleo é recomendado pelas diretrizes da Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) (OECD, 2014).

O teste do micronúcleo é utilizado para detectar algumas formas de alterações cromossômicas. O micronúcleo se constitui em uma pequena massa nuclear delimitada por membrana, separada do núcleo principal e formado durante o processo de divisão celular (meiose ou mitose). Sua formação se deve a alterações estruturais cromossômicas espontâneas ou decorrentes de fatores ambientais (RIEGER, 1968) ou, ainda, a falhas no fuso mitótico, sendo, portanto, excluído do novo núcleo formado na telófase. Como os MNs são formados durante a meiose/mitose, os danos causados no DNA somente serão expressos em MN após um ciclo de divisão celular (FENECH, 1997). São resultados de fragmentos cromossômicos acêntricos ou de cromossomos inteiros que não foram incluídos ao núcleo principal, representando a perda de cromatina devido ao dano cromossômico estrutural (fragmento) ou dano no aparelho mitótico (RIBEIRO; SALVADORI; FENECH, 2003).

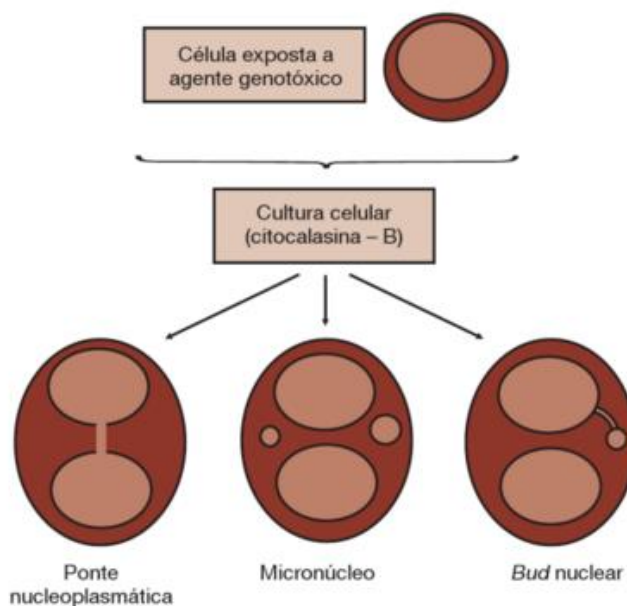
O teste do MN é o ensaio *in vitro* mais utilizado para a detecção de agentes clastogênicos e de agentes aneugênicos. Por ser um método considerado como “cytome”, a

sua utilização fornece a possibilidade de avaliar de maneira precisa cada célula, ou seja, é possível avaliar o seu estado mitótico (mononucleada, binucleada, multinucleada) e danos cromossômicos ou instabilidade (presença de micronúcleo, ponte nucleoplasmática e broto nuclear) (MATEUCA et al., 2006; FENECH et al., 2011).

As pontes nucleoplasmáticas (PNP) são biomarcadores de instabilidade genômica. Ocorrem quando os centrômeros de cromossomos, cromátides ou anéis dicêntricos são tracionados para polos opostos da célula durante a anáfase (Figura 3) e se expressam como ligações contínuas entre os núcleos das células binucleadas (PALAZZO; MALUF, 2011). A ligação deve ser contínua entre os núcleos, com uma largura que não ultrapassa um quarto do diâmetro dos núcleos e deve ter a mesma coloração dos núcleos principais (RIBEIRO; SALVADORI; FENECH, 2003).

O broto nuclear (BN) é uma estrutura morfológicamente semelhante ao micronúcleo, mas que permanece ligado ao núcleo principal (Figura 3). Também é considerado um marcador de instabilidade genômica e de acordo com Shimizu et al. (1998), os brotos nucleares correspondem a DNA amplificado que estaria sendo eliminado do núcleo por um processo ativo, durante a fase S do ciclo celular, formado por fragmentos cromossômicos acêntricos, intersticiais ou terminais e em menor proporção por cromossomos inteiros (SHIMIZU, N. et al., 1998). Lindberg e colaboradores. (2007) propuseram que cromossomos, fragmentos cromossômicos decorrentes de pontes anafásicas e material genético amplificado na fase S do ciclo celular seriam separados no citoplasma durante a mitose e encapsulados pelo envoltório nuclear ao final da telófase formando micronúcleos ou seriam encapsulados posteriormente durante a reconstituição do envelope nuclear, formando um broto nuclear, entretanto estes processos não estão esclarecidos (FENECH; CROTT, 2002; LINDBERG et al., 2007).

Figura 3 – Formação de MN a partir de quebra ou perda cromossômica; formação de PNP a partir de cromossomos dicêntricos; e BN a partir da amplificação gênica.



Fonte: Adaptação de FENECH, 2006.

Os fragmentos cromossômicos, que caracterizam o MN, são resultantes de quebra do DNA, replicação sobre o molde de DNA danificado ou inibição da síntese de DNA. Assim, o aumento na frequência de células micronucleadas é um biomarcador de efeitos genotóxicos, que podem refletir a exposição a agentes clastogênicos ou aneugênicos (ALBERTINI, et.al., 2000). Em virtude disso, o teste do micronúcleo é de extrema importância para a toxicologia genética e ambiental, uma vez que, possibilita a detecção precoce de alterações cromossômicas.

O teste do MN foi desenvolvido para avaliar a capacidade de substâncias induzir dano cromossômico estrutural e/ou numérico em células, durante o estágio de divisão celular. Ao realizar o teste é possível utilizar a citocalasina B (CtB), um agente inibidor da polimerização da proteína actina, necessária durante a citocinese para a separação da célula em duas células filhas (CARTER, 1967). Essa substância bloqueia a citocinese, mas não impede o processo de divisão nuclear e como resultado, observam-se células binucleadas a partir de células que passaram por um ciclo de divisão nuclear (FENECH, 2000; RIBEIRO, SALVADORI; FENECH, 2003).

O teste do MN com citocalasina B (MNCtB) é um teste simples que avalia vários tipos de danos citogenéticos, com aplicação nas áreas da ecotoxicologia, nutrição, avaliação do risco para o câncer, epidemiologia molecular, assim como em teste para a identificação do potencial genotóxico de novos produtos farmacêuticos, agroquímicos ou agentes químicos e físicos em geral e no biomonitoramento de populações humanas expostas a esses agentes (GAUTHIER et al., 1999; FENECH; FERGUSON, 2001). Em qualquer malignidade a presença de MN é sempre aumentada em relação à lesão benigna ou em relação a pessoas saudáveis, portanto, este ensaio pode ser utilizado como um biomarcador para identificar precocemente condições pré-neoplásicas muito antes das manifestações clínicas características do câncer (SWAPAN; PRANAB, 2010).

## 2 JUSTIFICATIVA

Doenças ocupacionais, resultantes de processos de trabalho obsoletos e não controlados são em muitos casos, pouco visíveis e não são devidamente reconhecidos em países em desenvolvimento, como o Brasil. Além disso, algumas doenças são difíceis de serem correlacionadas com as atividades ocupacionais, o que dificulta as notificações necessárias para o estabelecimento de medidas de promoção e proteção a saúde do trabalhador.

No Brasil, a exposição ocupacional de trabalhadores de postos de revenda de combustíveis é uma questão que está gerando preocupação por diversos órgãos de saúde. Isso porque, diariamente, trabalhadores de postos de combustíveis estão expostos a diversos compostos com potencial para causar efeitos prejudiciais a saúde dos trabalhadores. Existem mais de 39.000 postos de combustíveis no Brasil, muitos operando em condições de risco, o que expõe ainda mais os trabalhadores desses serviços. O benzeno é uma substância que está presente na gasolina com concentração controlada, porém como se trata de uma substância mutagênica e carcinogênica para seres humanos não existe limite seguro de exposição. Infelizmente, devido a condições econômicas, sabe-se que a eliminação de determinados compostos dos ambientes de trabalho possui diversas limitações e nem sempre é possível. Portanto, as ações de monitoramento e vigilância de trabalhadores ocupacionalmente expostos a tais substâncias geram informações importantes para adoção de medidas que reduzam a exposição desses trabalhadores.

O monitoramento biológico é uma ferramenta importante para a avaliação da exposição ao benzeno nesses trabalhadores e os efeitos associados, pois através dele é possível verificar os indicadores que avaliam os possíveis efeitos das substâncias tóxicas na saúde do trabalhador. O teste do micronúcleo é um exemplo e pode ser utilizado para avaliação de risco genotóxico de populações expostas ocupacionalmente a substâncias químicas, como o benzeno.



## 2.1 ANTECEDENTES DA PESQUISA

Este estudo é parte de um projeto maior intitulado “*Desenvolvimento de metodologia para avaliar os efeitos da exposição a BTXs (benzeno, tolueno e xileno) na saúde dos trabalhadores de postos de combustíveis*” iniciado em 2010, na Unidade Técnica de Exposição Ocupacional, Ambiental e Câncer, com trabalhadores de postos de revenda de combustíveis da Zona Norte do Rio de Janeiro. Em 2014, foi iniciada outra etapa do projeto intitulada “*Avaliação dos efeitos mutagênicos e imunotóxicos do benzeno na saúde dos trabalhadores dos postos de combustíveis do Rio de Janeiro*” (Projeto de Pesquisa contemplado pelo Edital E.35/2013 PPSUS/Faperj), com participação de trabalhadores de postos de combustíveis do Centro e da Zona Sul do Rio de Janeiro. Nesta segunda etapa as análises de toxicidade genética (Teste do Micronúcleo e Ensaio Cometa) e imunotoxicidade estão sendo realizadas no Departamento de Farmacologia e Toxicologia do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS/FIOCRUZ. O Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO, realiza o monitoramento da exposição através da pesquisa de metabólitos do benzeno, tolueno e xileno na urina dos trabalhadores através do metodologia desenvolvida por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). As análises hematológicas, bioquímicas e de polimorfismos genéticos estão sendo realizadas, respectivamente, nos laboratórios de Patologia Clínica e de Oncovirologia/CEMO ambos do Hospital do Câncer I (HCI/INCA). O projeto incluindo as análises referentes ao monitoramento de efeito e de exposição foi enviado como Adendo e aprovado pelo CEP/INCA e conta com recurso financeiro da Organização Panamericana de Saúde/Centro de Estudos e Pesquisa em Saúde Coletiva - OPAS/CEPESC (SISPLAN), disponibilizado em maio de 2014 e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ (Edital E.35/2013 PPSUS/Faperj) para o desenvolvimento das análises laboratoriais.

Os trabalhadores foram entrevistados por profissionais previamente treinados e a coleta de material biológico (sangue e urina) e a ectoscopia (avaliação clínica) são realizadas por enfermeiro e médico, respectivamente, no local de trabalho tanto dos voluntários expostos quanto dos não expostos. Além disso, o projeto maior contempla as seguintes análises laboratoriais: hematológicas e bioquímicas, genotoxicidade e imunotoxicidade, investigação dos polimorfismos genéticos (susceptibilidade e reparo do DNA) e as análises de indicadores biológicos de exposição (IBE) ao benzeno, tolueno e xileno.

Com todo o conjunto de informações adquiridas através desta pesquisa pretende-se definir um cenário de exposição e mostrar os fatores que podem aumentar o risco de aparecimento de efeitos genotóxicos relacionados à exposição ao benzeno, o que consequentemente está associado ao desenvolvimento de câncer futuro. Assim, esse estudo pretende subsidiar medidas para maior articulação das áreas da vigilância em saúde, incluindo a Vigilância Sanitária, para propiciar ações efetivas que diminuam os riscos a saúde do trabalhador e promovam a saúde, incluindo o aprimoramento das ações de fiscalização em postos de combustíveis no município do Rio de Janeiro.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as condições de saúde e a sua correlação com os efeitos genotóxicos relacionados à exposição ocupacional ao benzeno dos trabalhadores de postos de combustíveis localizados na Zona Sul e no Centro do município do Rio de Janeiro.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Descrever a distribuição das doenças características da intoxicação por benzeno na população de estudo;
- ii. Caracterizar os procedimentos ocupacionais e as atividades exercidas por trabalhadores de postos de combustíveis que aumentam a exposição ao benzeno e aumentam os efeitos genotóxicos;
- iii. Investigar associação entre a exposição ao benzeno e surgimento de efeitos genotóxicos na população de estudo através do teste do MN;
- iv. Analisar a correlação entre a contagem de micronúcleos e os níveis de ácido *trans-trans* mucônico (*AttM-U*) nos trabalhadores de postos de combustíveis.

## 4 METODOLOGIA

Trata-se de um estudo epidemiológico transversal para avaliar as condições de saúde e os possíveis efeitos genotóxicos dos trabalhadores de postos de combustíveis do município do Rio de Janeiro expostos ao benzeno presente na gasolina.

### 4.1 SELEÇÃO DOS POSTOS DE COMBUSTÍVEIS

De junho de 2014 a dezembro de 2015, foram realizadas visitas em postos de combustíveis localizados no Centro e na Zona Sul do município do Rio de Janeiro. Foram convidados apenas os postos que não são de bandeira branca (ex: BR, Esso, Ipiranga, Shell) e que os proprietários-gerentes permitiam a liberação dos funcionários para as entrevistas e para a coleta de amostra biológica (sangue e urina) durante a jornada de trabalho. A seleção dos postos de combustíveis ocorreu por conveniência e a permissão dos gerentes foi dada através da assinatura de uma carta de apresentação, na qual consta os detalhes do projeto (ANEXO A). No total, sete postos de combustíveis aceitaram participar da pesquisa.

### 4.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Para a presente dissertação foram estabelecidos dois grupos de estudo, cada um com a presença de 60 trabalhadores. O primeiro grupo foi formado por trabalhadores ocupacionalmente expostos ao benzeno presente na gasolina nos postos de revenda de combustíveis do município do Rio de Janeiro, nomeado como “grupo exposto”, na qual fazem parte todos os trabalhadores que declararam em suas atividades ocupacionais algum contato direto com a gasolina, seja durante o abastecimento automotivo, recebimento ou coleta amostras de combustível do caminhão tanque. Foram selecionados, portanto, frentistas, gerentes/encarregados de pista, lubrificadores e lavadores de carros. Não foram considerados trabalhadores de loja de conveniência, limpeza, escritório, entre outros, pois esses

trabalhadores são considerados ambientalmente expostos. O segundo grupo, denominado “grupo não exposto” foi formado por trabalhadores de escritório do INCA e da UNIRIO, isto é, indivíduos que não trabalham em postos de combustíveis e não são ocupacionalmente expostos ao benzeno.

Os critérios de inclusão dos voluntários do estudo para a análise dos efeitos genotóxicos através do teste do micronúcleo foram:

- “grupo exposto”: tempo de trabalho mínimo de 6 meses em postos de revenda de combustíveis, concordância em responder ao questionário estruturado para a coleta de informações, além da realização dos exames clínicos e laboratoriais, incluindo coleta de sangue e de urina.

- “grupo não exposto”: trabalhadores de escritório, isto é, não expostos ocupacionalmente ao benzeno presente na gasolina, concordância em responder as perguntas e realizar exames clínicos e laboratoriais, incluindo coleta de sangue e de urina.

Foram adotados os mesmos critérios de exclusão para o “grupo exposto” e para o “grupo não exposto”: indivíduos com problemas comportamentais como alcoolismo, agressividade, problemas mentais que impossibilitem a entrevista, trabalhadores com dificuldade de locomoção e indivíduos que tenham sido expostos a radiação ionizante ou tratamento quimioterápico nos últimos 3 meses.

Todos os trabalhadores foram apresentados ao termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE - ANEXOS B e C) antes da realização do estudo. Após leitura e compreensão do TCLE, os voluntários decidiam se desejavam ou não fazer parte do estudo. Apenas os participantes que assinaram o TCLE foram incluídos no estudo.

#### 4.3 COLETA DE DADOS

##### **a) Características sociodemográficas, de exposição ocupacional e clínicas.**

Durante os anos de 2014 e 2015, os trabalhadores responderam a um questionário individual com perguntas relacionadas ao perfil sociodemográfico e de exposição a agentes químicos durante a jornada de trabalho, e também dados ocupacionais a fim de avaliar todos

os fatores do histórico de vida do trabalhador que pudessem interferir nos resultados dos ensaios.

O questionário individual contempla os seguintes módulos: MÓDULO 1: características sociodemográficas; MÓDULO 2: informações sobre exposição ocupacional (ocupação atual, tempo de trabalho, atividades ocupacionais e procedimentos ocupacionais); MÓDULO 3: informações sobre exposição a substâncias químicas (ANEXO D).

Os dados clínicos, principais queixas, sinais e sintomas dos trabalhadores foram obtidos através de relatos provenientes da aplicação do questionário clínico. O questionário clínico aborda os seguintes módulos: MÓDULO 1: Anamnese clínica (história patológica pregressa, história patológica atual e história reprodutiva); MÓDULO 2: Estilos de vida (tabagismo, consumo de bebidas alcoólicas e consumo de substâncias psicoativas); MÓDULO 3: História familiar; MÓDULO 4: Sinais e sintomas característicos para a exposição ao benzeno (ANEXO E). A aplicação dos questionários e a avaliação clínica ocorreu no próprio local de trabalho dos voluntários. Ambos os questionários foram aplicados para o grupo exposto e não exposto, porém, as perguntas pertinentes as atividades e procedimentos ocupacionais realizados somente por trabalhadores de postos de combustíveis não foram aplicadas para os trabalhadores do grupo não exposto.

### **b) Avaliação clínica**

Após a aplicação dos questionários, os participantes passaram por uma avaliação clínica por médicos treinados. No momento da entrevista, eram agendadas as datas referentes a realização da avaliação clínica e da coleta do material biológico. O exame clínico inclui a avaliação de problemas neuropsicológicos e neurocomportamentais, com investigação da presença de alterações cognitivas e distúrbios afetivos e identificação de alterações sutis, a fim de detectar as alterações ainda em estágios iniciais.

### **c) Amostras de sangue periférico e urina**

Durante todo o ano de 2015, as amostras de sangue periférico dos voluntários foram coletadas em tubos contendo heparina sódica, por profissional qualificado e armazenadas em isopor com gelo em temperatura de 2 a 8 °C e encaminhadas e processadas no INCQS/Fiocruz, para análise de genotoxicidade. Além disso, 50 mL de urina foram coletadas

para o biomonitoramento da exposição ao benzeno, através das análises do ácido *trans-trans*-mucônico.

Nesta etapa, objetivou-se manter intervalos parecidos entre o momento da coleta e o momento em que as amostras eram tratadas para manutenção da sua viabilidade. Para a pesquisa de metabólitos de benzeno na urina, os trabalhadores expostos foram orientados a após quatro horas de exposição/trabalho a esvaziar a bexiga, beber aproximadamente 3 copos de água e reter a próxima urina por duas horas. Logo após isso, o trabalhador deveria coletar aproximadamente 50 ml de urina. Ao fim da jornada de trabalho as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Análises Toxicológicas da UNIRIO pra análise do *AttM-U* – indicador biológico de exposição ao benzeno. As análises foram realizadas sob supervisão da Dra. Barbara Geraldino através metodologia de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) modificada por Ducos et al., 1990. Os resultados das análises foram fornecidos para este trabalho com a finalidade de estabelecer uma correlação entre o indicador biológico de exposição ao benzeno e os marcadores de efeitos genotóxicos de trabalhadores de postos de combustíveis. A atividade laboratorial de análise do ácido *trans-trans* mucônico não fez parte dos ensaios executados nesta dissertação, porém os resultados obtidos foram cedidos para as interpretações dos achados do potencial genotóxico.

#### 4.4 TESTE DO MICRONÚCLEO EM LINFÓCITOS PERIFÉRICOS

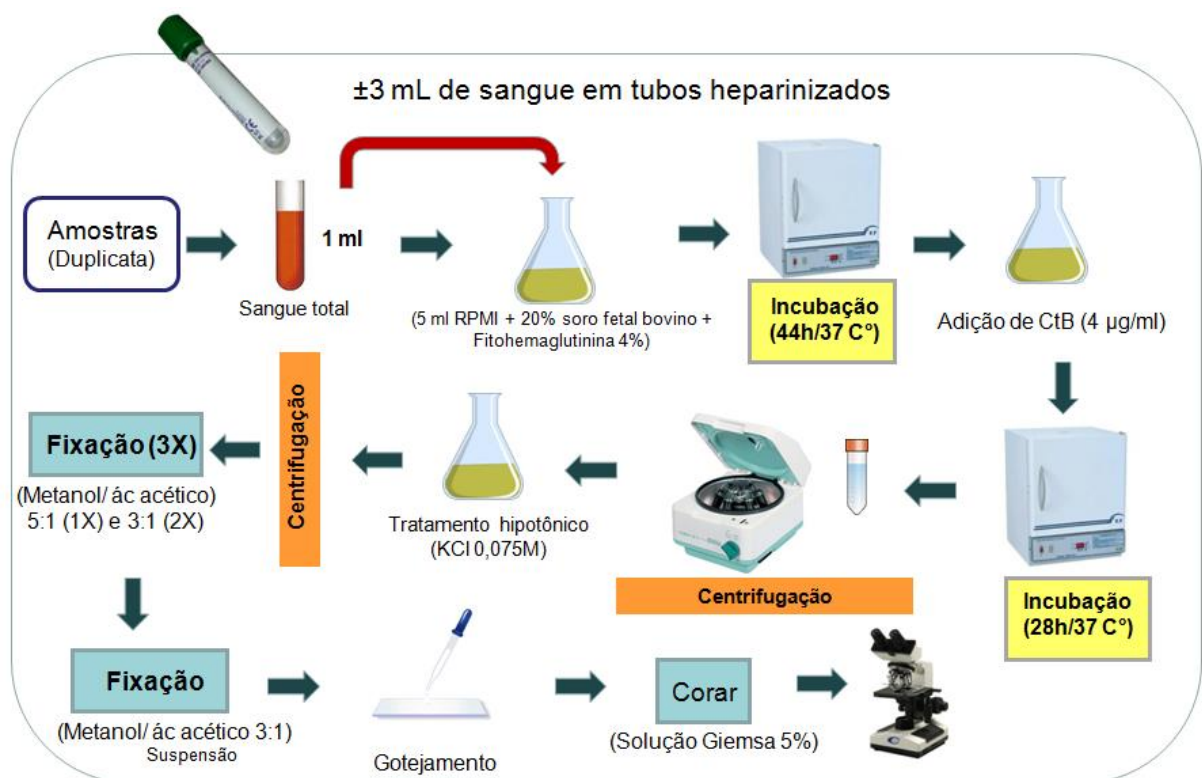
##### 4.4.1 Cultura de linfócitos binucleados

As amostras dos voluntários foram preparadas em duplicata, sendo o volume de 1 ml do sangue total do voluntário adicionado ao meio de cultura contendo 5 ml de meio RPMI 1640, 20% de soro fetal bovino e um agente estimulador de divisão celular (fitohemaglutinina – 4%), para que os possíveis MNs decorrentes da exposição ocupacional sejam produzidos. Após as amostras serem incubadas por 44 h a 37 °C, foi adicionada a citocalasina B (CtB - 4 µg/ml) para bloquear a citocinese e incubação por mais 28 h a 37 °C.

Finalizado o tempo de cultura (72 h) as amostras foram homogeneizadas e as amostras foram centrifugadas a 800 rpm (16,1 g) durante 5 minutos e o sobrenadante (meio de cultura) desprezado com auxílio de pipeta Pasteur. Em seguida, adicionou-se vagarosamente pela

parede do tubo 5 ml de solução hipotônica de KCl gelada (0,075 M), preparada no mesmo dia. Centrifugou-se novamente a 800 rpm (16,1 g) por 5 minutos e o sobrenadante foi descartado. A seguir foram adicionados 5 ml do fixador 5:1 (metanol e ácido acético), preparado no momento do uso, e três gotas de formaldeído para auxiliar na preservação do citoplasma. As amostras foram novamente centrifugadas a 800 rpm (16,1 g) por 5 minutos. Após desprezar o sobrenadante foram realizadas mais duas etapas de fixação, através da adição de 5 mL de fixado metanol / ácido acético (3:1), com centrifugação e descarte de sobrenadante entre as etapas. Após as três etapas de fixação, o sobrenadante foi descartado e acrescentou-se de 0,5 a 1 ml de fixador (3:1) no tubo, de acordo com volume do depósito celular com o objetivo de manter as células até o momento da análise. As células fixadas foram gotejadas sobre lâminas limpas, secas e coradas com Giemsa 5% por 5 minutos. A seguir, as lâminas foram analisadas em microscópio óptico (Figura 4).

Figura 4 - Esquema Teste do Micronúcleo.



Fonte: Elaboração própria.



A análise de cada réplica (amostras em duplicata) foi realizada através de dois tipos de leitura (genotoxicidade e citotoxicidade), após as lâminas serem preparadas e coradas com solução de Giemsa 5%. Para avaliar o potencial genotóxico foi avaliada a frequência de MN em 1000 linfócitos binucleados por réplica (total de 2000 células avaliadas por voluntário). Foram considerados MN as formações que apresentem tamanho entre 1/16 a 1/3 dos núcleos principais e os mesmos padrões de coloração. Para o potencial citotóxico foi avaliada a frequência de células com 1, 2 ou 3 divisões celulares em um total de 500 linfócitos por réplica, com o total de 1000 células avaliadas por voluntário (FENECH, 2007). As lâminas foram analisadas em objetiva de 40X para a avaliação da citotoxicidade (aumento final de 400X) e em objetiva de 100X, utilizando óleo de imersão, para a avaliação da genotoxicidade (aumento final de 1000X).

#### 4.4.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO

A avaliação do efeito citotóxico foi dada através do cálculo do índice de divisão nuclear (IDN), através do método de Eastmond & Tucker, 1989. Este índice mostra o número de divisões celulares de uma célula, durante sua exposição à CítB. O cálculo consiste na contagem de 500 células viáveis com um, dois e três ou mais núcleos. Os resultados são introduzidos na fórmula:

$$\text{IDN} = \frac{\text{M1} + 2(\text{M2}) + 3(\text{M3})}{\text{N}}$$

Onde M1, M2 e M3 representam o número de células viáveis com respectivamente um, dois e três ou mais núcleos e N o total de células viáveis contadas (total de 1000 células/voluntário).

Após a obtenção o IDN, para cada voluntário exposto e não exposto, foi calculada a média e desvio padrão para a comparação dos resultados obtidos em cada um dos grupos e então determinar se houve ou não diferença na proliferação celular entre eles.

#### 4.4.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO GENOTÓXICO

A genotoxicidade foi determinada pela frequência de micronúcleos (MN) em 2000 linfócitos binucleados para cada amostra, sendo 1000 linfócitos binucleados por cada réplica da duplicata. Os resultados foram interpretados de maneira contínua e categórica, ou seja, foi feita a frequência de células binucleadas com micronúcleo em 1000 células binucleadas juntamente com a média e desvio padrão, para ambos os grupos (exposto e não exposto). Como não há um valor basal para ser usado em indivíduos não expostos, a média de células binucleadas com micronúcleo do grupo não exposto foi utilizada para avaliação dos efeitos genotóxicos. Sendo assim, o valor de 4 MN ou menos foi considerado como valor aceitável de micronúcleos nos trabalhadores selecionados. Também foi realizada a frequência seguida da média e desvio padrão dos resultados relacionados com a presença de broto nuclear e ponte nucleoplasmática para ambos os grupos (exposto e não exposto). Neste estudo foram considerados os seguintes critérios para a classificação de um linfócito binucleado, segundo Fenech (2007).

- a) Núcleos com membranas nucleares intactas e com mesma delimitação citoplasmática;
- b) Tamanho e padrão de coloração semelhantes para os dois núcleos;
- c) Os dois núcleos da célula binucleada podem estar ligados por resíduos nucleares mas esta ligação não pode ser mais espessa do que um quarto do diâmetro nuclear;
- d) Os núcleos podem estar “colados”, mas nunca sobrepostos. As células com núcleos sobrepostos somente serão contadas se as membranas nucleares de cada núcleo estiverem bem delimitadas;
- e) A membrana celular intacta e separada da membrana celular da célula vizinha;
- f) Células mono, tri ou multinucleadas não são contadas ao se avaliar a presença de MN. Da mesma maneira, células em apoptose ou necrose não são consideradas.

Segundo Fenech (2007) os critérios para se considerar um MN são:

- a) O MN é morfológicamente idêntico, mas menor que o núcleo, com seu diâmetro variando entre 1/16 a 1/3 do tamanho do núcleo;
- b) O MN não pode ser refringente, diferenciando-se assim dos artefatos;

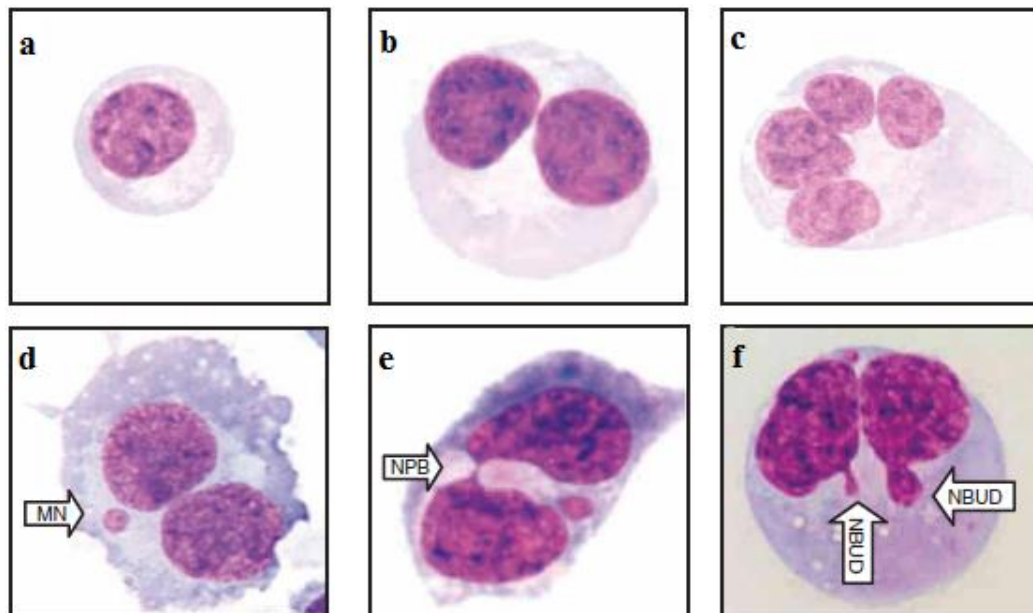
- c) O MN pode tocar, mas não sobrepor o núcleo principal. A membrana nuclear do MN deve ser perfeitamente identificada;
- d) O MN possui o mesmo padrão de coloração que o núcleo principal, mas pode apresentar coloração mais intensa.

Para considerar uma PNP, utilizam-se os seguintes critérios:

- a) Ligação contínua entre os núcleos, cuja largura, não ultrapasse  $\frac{1}{4}$  do diâmetro dos núcleos;
- b) Mesma coloração dos núcleos;
- c) Raramente é observada mais de uma ponte por célula binucleada;
- d) Células binucleadas com PNP frequentemente apresentam um ou mais MN.

Para análise de BN, são considerados os mesmos critérios de análise de MN, porém as estruturas estão conectadas a um dos núcleos principais do linfócito binucleado (FENECH, 2007). Abaixo estão ilustrados alguns dos tipos celulares encontrados durante o teste do micronúcleo (Figura 5).

Figura 5 - Tipos de células encontradas no teste do micronúcleo.



Legenda: (a) célula mononucleada; (b) célula binucleada; (c) célula multinucleada; (d) célula binucleada com micronúcleo; (e) célula binucleada com micronúcleo e ponte nucleoplasmática; (f) célula binucleada com dois brotos nucleares. Fonte: Fenech, 2007.

#### 4.5 AVALIAÇÃO DO INDICADOR BIOLÓGICO DE EXPOSIÇÃO – *AttM-U*

Foram analisadas somente as urinas dos voluntários ocupacionalmente expostos. A metodologia adotada para análise de *AttM-U* foi adaptada de Ducos et al., (1990), através do método de HPLC. A partir de uma solução padrão estoque de *AttM* em metanol (100 µg/mL) foram preparadas soluções intermediárias em fase móvel (ácido acético 1% - metanol (90-10 v/v) em pH de 2,7) nas concentrações 100,00; 50,00; 25,00; 12,50; e 3,12 µg/mL, que foram utilizadas no preparo das soluções de trabalho. Também foram preparadas em fase móvel nas concentrações 4,00; 2,00; 1,00; 0,50; 0,06; 0,03 e 0,01 µg/mL.

Algumas modificações foram realizadas no método original durante a etapa de validação analítica. A primeira delas foi a substituição da coluna cromatográfica por uma semelhante disponível no laboratório, a LiChrosorb RP18 (250 x 4,2 mm), 5 µm da Merck®, avaliadas no comprimento de onda de 264 nm e o forno foi mantido à temperatura de 40 °C. A etapa de extração em fase sólida necessita de um condicionamento prévio do cartucho para ativação dos sítios disponíveis que são os responsáveis por reterem o composto de interesse. O condicionamento utiliza solventes adequados que variam de composto para composto. Em particular, para o *AttM* utilizou-se como fase móvel metanol: ácido acético 1:10. Os cartuchos (Applied Separations, N+ Quaternary Amino (SAX), 500 mg/3mL) foram acondicionados da seguinte forma: 3 mL de metanol, 3 mL de água ultrapura. Foi adicionado 1 mL de urina, seguida de pré-lavagem de 3 ml de ácido acético 1%. Por fim a eluição foi em ácido acético 10% (pH 2,7), injetou-se uma alíquota de 20 µL no HPLC, por meio de injeção manual.

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência da Shimadzu, equipado com bomba isocrática, termostato, coluna cromatográfica (250 x 4,2 mm) Lichrosorb RP 18, 5 µm, detector de ultravioleta e ChemStation software. A fase móvel utilizada foi uma solução aquosa de ácido acético 1% - metanol (90-10 v/v), pH 2,72 em fluxo de 1,0 mL/min (pressão de 80 bar). A temperatura do termostato da coluna foi mantida a 40 °C, o comprimento de onda 264 nm e o tempo total da corrida cromatográfica foi 12 minutos. Foram estudados e estabelecidos os seguintes parâmetros analíticos: linearidade, limite de detecção do equipamento e limite de quantificação, interferência da matriz biológica, precisão e recuperação. Após a validação analítica, o método otimizado foi aplicado em amostras de urina de trabalhadores expostos ao benzeno, objetivando confirmar a validade de seu uso na monitorização da exposição ocupacional ao solvente.

#### 4.6 VARIÁVEIS DO ESTUDO

Para avaliação da exposição principal ao benzeno utilizou-se como variável independente o tipo de trabalhador (exposto/não exposto). Exclusivamente para os trabalhadores de postos de combustíveis foram analisadas como variáveis independentes as atividades e procedimentos ocupacionais, que aumentavam a exposição ao benzeno, além da avaliação dos níveis de *AttM-U* como indicador biológico de exposição.

Como variável dependente do estudo foram considerados os efeitos genotóxicos, caracterizados neste estudo pela contagem de micronúcleos em 2000 linfócitos binucleados para cada voluntário, pelo número de brotos nucleares e pontes nucleoplasmáticas.

Para as possíveis variáveis de confusão foram exploradas as variáveis demográficas, socioeconômicas, tempo de trabalho, variáveis relacionadas ao estilo de vida, histórico patológico progresso e a exposição a substâncias químicas. As variáveis dependentes e independentes do estudo estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Variáveis do estudo dos efeitos genotóxicos em trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) que foram inserido no estudo entre os anos de 2014 e 2015.

<b>Variável</b>	<b>Contínua</b>	<b>Catégorica</b>
<i>Variáveis de exposição</i>		
Tipo de trabalhador	-	Não Exposto/Exposto
Exposição a <i>AttM-U</i>	mg/g creatinina	Não/Sim
Abastece	-	Não/Sim
Realiza leitura dos tanques do subsolo	-	Não/Sim
Recebe combustível	-	Não/Sim
Coleta ou análise de amostras de combustível do caminhão tanque	-	Não/Sim
Uso de pano/flanela	-	Não/Sim
Aproxima o rosto ao abastecer até a borda	-	Não/Sim
Cheira tampa do veículo antes de abastecer	-	Não/Sim
Confia no bico automático	-	Não/Sim
Aspira combustível com mangueira	-	Não/Sim
Trabalhou com a roupa molhada de combustível	-	Não/Sim

Continua

Tabela 1 – (Continuação).

<b>Variável</b>	<b>Contínua</b>	<b>Categórica</b>
<i>Variáveis de desfecho</i>		
Células binucleadas com micronúcleo	nº MN	≤4 MN/>4 MN
Células binucleadas com broto nuclear	nº BN	Sim/Não
Células binucleadas com ponte nucleoplasmática	nº PNP	Sim/Não
<i>Covariáveis</i>		
Sexo	-	Masculino/Feminino
Idade	-	24 anos ou menos
		De 25 a 34 anos
		Mais de 35 anos
Cor da pele	-	Não brancos
		Branco
Estado marital	-	Casado
		Separado, viúvo ou solteiro
Escolaridade	-	Fundamental
		Médio
		Superior
Renda média familiar	R\$	-
Tabagismo	-	Nunca fumou
		Ex-fumante
		Fumante
Ingestão de bebida alcoólica	-	Não/Sim
		Não consome
Consumo de alimentos industrializados	-	1-2 vezes por semana
		3-6 vezes por semana
		Diariamente
Doenças respiratórias	-	Não/Sim
Doenças neurológicas	-	Não/Sim
Doenças hematológicas	-	Não/Sim
Doenças gastrointestinais	-	Não/Sim
Doenças otorrinolaringológicas	-	Não/Sim
Doenças oftalmológicas	-	Não/Sim
Doenças dermatológicas	-	Não/Sim
Emagrecimento	-	Não/Sim
Fraqueza	-	Não/Sim
Tontura	-	Não/Sim
Sonolência	-	Não/Sim

Continua

Tabela 1- (Continuação).

<b>Variáveis</b>	<b>Contínua</b>	<b>Categórica</b>
<b>Covariáveis</b>		
Dificuldade para enxergar	-	Não/Sim
Cefaleia	-	Não/Sim
Irritabilidade	-	Não/Sim
Ansiedade	-	Não/Sim
Insônia	-	Não/Sim
Alteração do humor	-	Não/Sim
Alteração da atenção	-	Não/Sim
Alteração da memória	-	Não/Sim
Sudorese noturna	-	Não/Sim
Formigamentos	-	Não/Sim
Movimentos involuntários	-	Não/Sim
Tremores	-	Não/Sim
Cãibras	-	Não/Sim
Diminuição da força muscular	-	Não/Sim
Petéquias	-	Não/Sim
Hematomas	-	Não/Sim
Epistaxe	-	Não/Sim
		Menos de 1 ano
		De 1 a 5 anos
Tempo de trabalho (anos)	-	De 6 a 10 anos
		De 11 a 20 anos
		Mais de 20 anos

Legenda: MN: micronúcleo; PNP: ponte nucleoplasmática; BN: broto nuclear.

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os dados obtidos através da coleta de informações foram armazenados em um banco construído para essa finalidade. Para a realização das análises estatísticas foi utilizado o programa *Statistical Package for the Social Sciences for Windows* (SPSS), versão 20.0.

Foi feita a análise descritiva das características da população de estudo a partir das variáveis demográficas, socioeconômicas, hábitos de vida, histórico patológico, sinais e sintomas e variáveis ocupacionais considerando grupo exposto e grupo não exposto, através da sua distribuição de frequências e análise univariada, para variáveis categóricas, utilizando o teste Qui-quadrado e teste exato de Fisher. Do mesmo modo, foram determinadas as frequências das variáveis relacionadas a atividades e procedimentos ocupacionais somente para o grupo exposto. A medida das frequências de células binucleadas com micronúcleo,

células com broto nuclear e com ponte nucleoplasmática foi feita pelo cálculo de frequência, média e desvio padrão.

A distribuição das variáveis contínuas média de idade, renda, número de células binucleadas com micronúcleo, com broto nuclear e com ponte nucleoplasmática foi analisada quanto a sua distribuição normal através do teste Kolmogorov- Smirnov e como desviaram da normalidade foi aplicado o testes não paramétrico Mann-Whitney.

Para determinar a associação entre as variáveis de exposição e cada um dos valores obtidos para as variáveis que avaliam os efeitos genotóxicos através de células binucleadas com micronúcleo foi realizado um teste bivariado para a obtenção de variáveis com um p-valor menor ou igual a 0,20, para a sua posterior inserção no modelo multivariado. Para a análise de regressão multivariada logística não condicional foi considerado o número de células binucleadas com micronúcleo de forma categórica. As variáveis idade e sexo foram mantidas no modelo multivariado, independente da sua significância estatística, uma vez que existem dados na literatura que reforçam a relação entre o número de micronúcleos encontrados e as duas variáveis (FENECH, 1993; FENECH, 2007). Quanto às demais variáveis, foram mantidas no modelo multivariado final aquelas com um p-valor menor ou igual a 0,05 ou que modificaram o efeito (coeficiente beta da regressão) da variável de exposição sobre o desfecho em 10% ou mais.

#### 4.8 ASPECTOS ÉTICOS

Durante o convite para a participação na pesquisa, todos os voluntários foram informados sobre o objetivo do estudo em caracterizar os riscos relacionados à exposição ocupacional ao benzeno entre trabalhadores de postos de combustíveis do município do Rio de Janeiro, não possuindo nenhum caráter de fiscalização. Além disso, os trabalhadores foram instruídos sobre o sigilo de todas as informações coletadas e dos resultados dos exames, na qual somente o voluntário do estudo teria acesso. Foi explicado também que a participação na pesquisa seria voluntária, sem riscos a saúde dos trabalhadores e a recusa para a participação do estudo não levaria a nenhuma penalidade para o trabalhador. Também foi informado que no caso de detecção de qualquer problema de saúde, haveria o encaminhamento para



atendimento no Sistema Único de Saúde no município do Rio de Janeiro e acompanhamento do voluntário.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Instituto Nacional de Câncer (INCA), sob o número de registro 121/09. Todos os trabalhadores convidados a participar do estudo foram apresentados ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes da coleta de dados e de material biológico (ANEXOS B e C). Apenas os participantes que assinaram o Termo de Consentimento foram incluídos.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO SEGUNDO A CATEGORIA DE EXPOSIÇÃO

No presente estudo foram incluídos e analisados 60 trabalhadores de postos de revenda de combustíveis ocupacionalmente expostos ao benzeno presente na gasolina (“grupo exposto”) e 60 trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (“grupo não exposto”). O grupo exposto foi composto por 56 homens (93,3%) e 4 mulheres e o grupo não exposto por 44 (73,3%) homens e 16 mulheres (Tabela 2).

As análises das variáveis demográficas, cor da pele e estado marital, demonstraram que a maioria dos indivíduos expostos (73,3%) se declararam não brancos e 61,7% pertencia ao grupo de casados ou em união estável. No grupo não exposto 63,3% dos trabalhadores se autodeclararam não brancos e, para o estado marital, 56,7% declararam ser casados ou em união estável. Os indivíduos não expostos apresentaram maior média de idade quando comparados aos indivíduos expostos (Tabela 2).

As variáveis socioeconômicas foram caracterizadas pela avaliação do nível de escolaridade e renda média familiar. Houve diferença significativa em relação às duas variáveis, ambas com  $p$ -valor  $< 0,01$ . Os trabalhadores expostos declararam em sua maioria (61,7%) ter ensino médio completo ou incompleto, já entre os trabalhadores não expostos, 60% apresentavam ensino superior completo ou incompleto. A renda média familiar foi maior no “grupo não exposto” quando comparado ao “grupo exposto” (Tabela 2).

Tabela 2 - Análise descritiva das variáveis demográficas e socioeconômicas dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015, segundo a categoria de exposição da população de estudo.

<i>Variáveis demográficas</i>		NÃO EXPOSTOS			EXPOSTOS			p-valor
		N	%	Média (DP)	N	%	Média (DP)	
Sexo	Masculino	44	73,3		56	93,3		< 0,01 <sup>1</sup>
	Feminino	16	26,7		04	6,7		
Idade	Média em anos			42,5 (10,1)			36,9 (9,99)	<0,01 <sup>2</sup>
	Até 24 anos	00	0,0		07	11,7		0,02 <sup>1</sup>
	De 25 a 34 anos	16	26,7		16	26,7		
	35 anos ou mais	44	73,3		36	60,0		
	NS/NR	00	0,0		01	1,7		
Cor da pele	Não brancos	38	63,3		44	73,3		0,24 <sup>1</sup>
	Branco	22	36,7		16	26,7		
Estado marital	Casado	34	56,7		37	61,7		0,55 <sup>1</sup>
	Solteiro, viúvo ou solteiro	25	41,7		23	38,3		
	NS/NR	01	1,7		00	0,0		
<i>Variáveis socioeconômicas</i>								
Escolaridade	Ensino fundamental	11	18,3		18	30,0		< 0,01 <sup>1</sup>
	Ensino médio	13	21,7		37	61,7		
	Ensino superior	36	60,0		05	8,3		
Renda familiar		6461,8 (5743,4)			2605,2 (1523,2)			< 0,01 <sup>2</sup>

<sup>1</sup>teste Qui-quadrado. <sup>2</sup> teste Mann-Whitney. <sup>3</sup>Não sabe/ Não respondeu

Quando questionados sobre estilo de vida, 70% do “grupo exposto” e 61,7% do “grupo não exposto” declararam nunca ter fumado. Os fumantes representaram 16,7% do total de trabalhadores do “grupo exposto” e 10% dos trabalhadores do “grupo não exposto”. Com relação ao hábito de ingerir bebidas alcoólicas 65% do grupo exposto e 66,7% dos entrevistados do grupo não exposto responderam que ingeriam bebidas alcoólicas.

A variável relacionada ao consumo de alimentos industrializados e processados, mostrou-se diferente para as duas categorias do estudo. No grupo ocupacionalmente exposto, 25,0% relataram não consumir nenhum tipo desses alimentos e a maioria dos trabalhadores (43,3%) relatou o consumo em torno de 3 a 6 vezes por semana, entretanto, 26,7% diz não consumir tais produtos e 25,0% relata consumir de 3 a 6 vezes por semana no grupo não exposto (Tabela 3).

As variáveis tabagismo (p-valor = 0,10), consumo de bebidas alcoólicas (p-valor = 0,85) e consumo de alimentos industrializados (p-valor = 0,28) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

Tabela 3 - Análise dos hábitos de vida dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015, segundo a categoria de exposição.

<i>Hábitos</i>		NÃO EXPOSTOS		EXPOSTOS		p-valor*
		N	%	N	%	
Tabagismo	Nunca fumou	37	61,7	42	70,0	0,10
	Ex-fumante	17	28,3	08	13,3	
	Fumante	06	10,0	10	16,7	
Ingestão de bebidas alcoólicas	Não	20	33,3	21	35,0	0,85
	Sim	40	66,7	39	65,0	
Consumo de alimentos industrializados	Não consome	16	26,7	15	25,0	0,28
	1-2 vezes/semana	13	21,7	09	15,0	
	3-6 vezes/semana	15	25,0	26	43,3	
	Diariamente	11	18,3	07	11,7	
	NS/NR <sup>#</sup>	05	8,3	03	5,0	

\*teste Qui-quadrado. <sup>#</sup>Não sabe/ Não respondeu.

No que diz respeito a história patológica progressiva, somente para doenças respiratórias encontrou-se diferenças significativas entre os grupos exposto e não exposto. Para todas as doenças analisadas, o grupo não exposto declarou em seu histórico patológico progresso maior percentual quando comparado ao grupo exposto (Tabela 4).

Tabela 4 – Análise do histórico de doenças progressivas relacionadas com a exposição ao benzeno dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.

<i>Histórico de doenças</i>	NÃO EXPOSTOS		EXPOSTOS		p-valor
	N	%	N	%	
<b>Doença respiratória</b>					
Não	35	58,3	50	83,3	<0,01*
Sim	25	41,7	10	16,7	
<b>Doença neurológica</b>					
Não	58	96,7	58	96,7	1,00 <sup>#</sup>
Sim	02	3,3	02	3,3	
<b>Doença hematológica</b>					
Não	55	91,7	57	95,0	0,72 <sup>#</sup>
Sim	05	8,3	03	5,0	
<b>Doença gastrointestinal</b>					
Não	46	76,7	51	85,0	0,32*
Sim	14	23,3	09	15,0	
<b>Doença otorrinolaringológica</b>					
Não	45	75,0	53	88,3	0,06*
Sim	15	25,0	07	11,7	
<b>Doença oftalmológica</b>					
Não	29	48,3	39	65,0	0,07*
Sim	31	51,7	21	35,0	
<b>Doença dermatológica</b>					
Não	53	88,3	54	90,0	0,77 <sup>#</sup>
Sim	07	11,7	06	10,0	

\* teste Qui-quadrado. <sup>#</sup> teste exato de Fisher.

A análise estatística dos sinais e sintomas dos trabalhadores de ambos os grupos indicou que, diferente dos resultados encontrados para doenças progressivas, os trabalhadores do “grupo exposto” apresentaram maior percentual de relato dos seguintes sintomas quando comparados com os trabalhadores do grupo “não exposto”: emagrecimento, fraqueza, tontura, sonolência, irritabilidade, alteração da memória, sudorese noturna, formigamentos, tremores, hematomas e epistaxe. É importante ressaltar que vários desses sintomas são especificamente relacionados a exposição ao benzeno. Já outros sintomas menos específicos relatados pelos trabalhadores, tais como dificuldade de enxergar, cefaléia, ansiedade, insônia, alteração do humor, alteração da atenção entre outros, apresentaram frequência muito parecida para ambos os grupos estudados, “grupo exposto” e “grupo não exposto”. Sudorese noturna e tremores foram os sintomas que apresentaram diferenças significativas entre os grupos (Tabela 5).

Tabela 5 - Análise de sinais e sintomas relatados pelos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015, segundo a categoria de exposição.

<i>Sinais e sintomas</i>	NÃO EXPOSTO		EXPOSTO		p-valor
	N	%	N	%	
Emagrecimento					
Não	58	96,7	53	88,3	0,16 <sup>#</sup>
Sim	02	3,3	07	11,7	
Fraqueza					
Não	56	93,3	52	86,7	0,22 <sup>*</sup>
Sim	04	6,7	08	13,3	
Tontura					
Não	57	95,0	52	86,7	0,11 <sup>*</sup>
Sim	03	5,0	08	13,3	
Sonolência					
Não	40	66,7	36	60,0	0,45 <sup>*</sup>
Sim	20	33,3	24	40,0	
Dificuldade para enxergar					
Não	36	60,0	40	66,7	0,45 <sup>*</sup>
Sim	24	40,0	20	33,3	
Cefaleia					
Não	40	66,7	42	70,0	0,70 <sup>*</sup>
Sim	20	33,3	18	30,0	
Irritabilidade					
Não	40	66,7	34	56,7	0,26 <sup>*</sup>
Sim	20	33,3	26	43,3	

Continua

Tabela 5 – (Continuação)

<i>Sinais e sintomas</i>	NÃO EXPOSTO		EXPOSTO		p-valor
	N	%	N	%	
<b>Ansiedade</b>					
Não	24	40,0	32	53,3	0,14*
Sim	36	60,0	28	46,7	
<b>Insônia</b>					
Não	47	78,3	48	80,0	0,82*
Sim	13	21,7	12	20,0	
<b>Alteração de humor</b>					
Não	43	71,7	49	81,7	0,20*
Sim	17	28,3	11	18,3	
<b>Alteração da atenção</b>					
Não	45	75,0	48	80,0	0,51*
Sim	15	25,0	12	20,0	
<b>Alteração da memória</b>					
Não	40	66,7	43	71,7	0,55*
Sim	20	33,3	17	28,3	
<b>Sudorese noturna</b>					
Não	56	93,3	49	81,7	0,05*
Sim	04	6,7	11	18,3	
<b>Formigamentos</b>					
Não	53	88,3	48	80,0	0,21*
Sim	07	11,7	12	20,0	
<b>Movimentos involuntários</b>					
Não	45	75,0	49	81,7	0,38*
Sim	15	25,0	11	18,3	
<b>Tremores</b>					
Não	58	96,7	49	81,7	0,01*
Sim	02	3,3	11	18,3	
<b>Cãibras</b>					
Não	40	66,7	43	71,7	0,55*
Sim	20	33,3	17	28,3	
<b>Diminuição da força muscular</b>					
Não	53	88,3	53	88,3	1,00*
Sim	07	11,7	07	11,7	
<b>Petéquias</b>					
Não	57	95,0	58	96,7	1,00#
Sim	03	5,0	02	3,3	
<b>Hematomas</b>					
Não	59	98,3	57	95,0	0,62#
Sim	01	1,7	03	5,0	
<b>Epistaxe</b>					
Não	58	96,7	57	95,0	1,00#
Sim	02	3,3	03	5,0	

\* teste Qui-quadrado; #teste exato de Fisher

Quanto as características ocupacionais do grupo exposto e do grupo não exposto, foi analisado o tempo de trabalho indicando que a maioria dos trabalhadores dos dois grupos trabalha de 1 a 5 anos na mesma ocupação, representando 46,7% do “grupo não exposto” e 38,4% do “grupo exposto” (Tabela 6).

Tabela 6 - Análise do tempo de trabalho dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015, segundo a categoria de exposição.

<i>Variáveis Ocupacionais</i>	NÃO EXPOSTOS		EXPOSTOS		p-valor	
	N	%	N	%		
Tempo de trabalho	< 1 ano	02	3,3	14	23,3	<0,01*
	1 a 5 anos	28	46,7	23	38,4	
	6 a 10 anos	07	11,7	16	26,7	
	11 a 20 anos	13	21,6	05	8,3	
	> 20 anos	10	16,7	02	3,3	

\*teste Qui-quadrado

É importante avaliar todas as substâncias as quais os trabalhadores de ambos os grupos são expostos durante as suas jornadas de trabalho. A análise demonstrou que o grupo exposto declarou, em maior frequência, contato com os combustíveis gasolina, etanol, óleo diesel e GNV. Quanto a fumaça de veículos, 75% dos trabalhadores expostos e 28,3% dos trabalhadores não expostos, afirmaram contato. Para óleo lubrificante, produtos de limpeza e solventes também houve maior percentual de contato para o grupo exposto (Tabela7).



Tabela 7 - Análise da exposição a substâncias químicas dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015, segundo a categoria de exposição.

<i>Exposição a substâncias químicas</i>		NÃO EXPOSTOS		EXPOSTOS		p-valor
		N	%	N	%	
Gasolina	Não	54	90,0	07	11,7	<0,01*
	Sim	06	10,0	53	88,3	
Etanol	Não	56	93,3	10	16,7	<0,01*
	Sim	04	6,7	50	83,3	
Diesel	Não	59	98,3	14	23,3	<0,01*
	Sim	01	1,7	46	76,7	
Gás natural veicular	Não	58	96,7	45	75,0	<0,01*
	Sim	02	3,3	15	25,0	
Fumaça de veículos	Não	43	71,7	15	25,0	<0,01*
	Sim	17	28,3	45	75,0	
Querosene	Não	57	95,0	60	100,0	2,44#
	Sim	03	5,0	00	0,0	
Óleo lubrificante	Não	56	93,3	21	35,0	<0,01*
	Sim	04	6,7	39	65,0	
Produtos de limpeza	Não	36	60,0	28	46,7	0,14#
	Sim	24	40,0	32	53,3	
Graxas e ceras	Não	53	88,3	57	95,0	0,19#
	Sim	07	11,7	03	5,0	
Solventes	Não	57	95,0	54	90,0	0,49#
	Sim	03	5,0	06	10,0	

\*teste Qui-quadrado. #teste exato de Fisher.

### 5.1.1 Características ocupacionais do grupo exposto

Existem atividades e hábitos ocupacionais de trabalhadores de postos de combustíveis que aumentam a exposição ao benzeno. As atividades que apresentaram maior frequência de

trabalhadores realizando foram: o abastecimento de veículos (93,3%), o uso de pano/flanela durante o abastecimento (73,3%) e não utilizar o bico automático (60%) (Tabela 8).

Tabela 8 – Distribuição das atividades e hábitos ocupacionais que aumentam a exposição a benzeno realizados por trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.

<i>Atividades ocupacionais - EXPOSTOS</i>		N	%	p-valor*
Abastece	Não	04	6,7	<0,01
	Sim	56	93,3	
Leitura dos tanques do subsolo	Não	43	71,7	<0,01
	Sim	17	28,3	
Recebe combustível	Não	43	71,7	<0,01
	Sim	17	28,3	
Coleta de amostras de combustível	Não	47	78,3	<0,01
	Sim	13	21,7	
Uso de pano/flanela durante abastecimento	Não	16	26,7	<0,01
	Sim	44	73,3	
Aproxima o rosto quando abastece o tanque até a borda	Não	40	66,7	<0,01
	Sim	19	31,7	
	NS/NR <sup>#</sup>	01	1,6	
Cheira a tampa do veículo antes de abastecer	Não	47	78,3	<0,01
	Sim	12	20,0	
	NS/NR <sup>#</sup>	01	1,7	
Não confia no bico automático	Sim	36	60,0	0,09
	Não	23	38,3	
	NS/NR <sup>#</sup>	01	1,7	
Aspira combustível com mangueira	Não	52	86,7	<0,01
	Sim	07	11,7	
	NS/NR <sup>#</sup>	01	1,6	
Trabalha com a roupa molhada de combustível	Não	42	70,0	<0,01
	Sim	17	28,3	
	NS/NR <sup>#</sup>	01	1,7	

\*teste Qui-quadrado. <sup>#</sup>Não sabe/ Não respondeu.

### 5.1.2 Características do grupo exposto segundo a análise do *AttM-U*

A análise do indicador biológico de exposição ao benzeno, o ácido trans-trans-mucônico (*AttM-U*), foi realizada somente nos trabalhadores expostos ocupacionalmente ao benzeno. O valor de referência adotado foi 0,5 mg/g de creatinina, como recomendado pela Portaria nº 34 de 2001 (BRASIL, 2001).

Os resultados demonstraram um valor médio de *AttM-U* de 0,29 mg/g de creatinina (desvio padrão = 0,49) para os trabalhadores de postos de combustíveis analisados. A faixa de idade que apresentou maior valor de *AttM-U* foi até 24 anos, com 0,57 mg/g de creatinina. Os trabalhadores que têm o hábito de fumar e de ingerir bebidas alcoólicas apresentaram valores de 0,29 mg/g de creatinina e 0,26 mg/g de creatinina, respectivamente (Tabela 9).

Tabela 9 - Média de *AttM-U* dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015, de acordo com os idade e estilos de vida.

Variáveis - EXPOSTOS	Média (DP) <i>AttM-U</i> (mg/g de creatinina)
<b>Idade</b>	
Até 24 anos	0,57 (1,09)
De 25 a 34 anos	0,33 (0,39)
35 anos ou mais	0,23 (0,33)
<b>Tabagismo</b>	
Nunca fumou	0,32 (0,56)
Ex-fumante	0,14 (0,20)
Fumante	0,29 (0,36)
<b>Consumo de bebida alcoólica</b>	
Não	0,36 (0,46)
Sim	0,26 (0,51)
<b>Consumo de alimentos industrializados</b>	
Não consome	0,32 (0,77)
1-2 vezes por semana	0,39 (0,49)
3-6 vezes por semana	0,27 (0,33)
Diariamente	0,27 (0,39)

Os valores de *AttM-U* encontrados nos trabalhadores expostos foram agrupados em duas categorias. A primeira correspondeu aos trabalhadores que apresentaram um valor de *AttM-U* abaixo de 0,5 mg/g de creatinina e a segunda categoria foi formada pelos trabalhadores que apresentaram um valor acima de 0,5 mg/g de creatinina. Dos 60 trabalhadores do grupo exposto, 47 apresentaram o valor de *AttM-U* acima de 0,5 mg/g de creatinina. Também foi realizada a análise entre o valor de *AttM-U* e a realização de determinadas atividades/hábitos ocupacionais que aumentam a exposição ao benzeno. Dos 60 trabalhadores recrutados, 59 responderam as perguntas relacionadas as atividades ocupacionais. Observou-se que os trabalhadores que afirmaram executar tais atividades, apresentaram uma quantificação de *AttM-U* superior a 0,5 mg/g de creatinina, com exceção de aproximar o rosto ao abastecer até a boca e confiar no bico automático, porém com resultados muito semelhantes (Tabela 10).

Tabela 10 - Níveis de *AttM-U* de acordo com as atividades/hábitos ocupacionais dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.

Variáveis	<i>AttM-U</i> ≤0,5		<i>AttM-U</i> >0,5		p-valor <sup>#</sup>
	N	%	N	%	
Abastece					
Não	00	0,0	04	8,5	0,57
Sim	12	100,0	43	91,5	
Leitura dos tanques do subsolo					
Não	10	83,3	32	68,1	0,48
Sim	02	16,7	15	31,9	
Recebe combustível					
Não	09	75,0	33	70,2	1,00
Sim	03	25,0	14	29,8	
Coleta de amostras de combustível					
Não	11	91,7	35	74,5	0,27
Sim	01	8,3	12	25,5	
Uso de pano/flanela durante o abastecimento					
Não	05	41,7	11	23,4	0,28
Sim	07	58,3	36	76,6	
Aproxima o rosto quando abastece o tanque até a borda					
Não	07	58,3	33	71,7	0,49
Sim	05	41,7	13	28,3	

Continua.

Tabela 10 – (Continuação)

Variáveis	AttM-U ≤0,5		AttM-U >0,5		p-valor <sup>#</sup>
	N	%	N	%	
Cheira a tampa do veículo antes de abastecer					
Não	10	83,3	38	80,9	1,00
Sim	02	16,7	09	19,1	
Confia no bico automático					
Sim	05	58,3	30	63,8	0,75
Não	07	41,7	17	36,2	
Aspira combustível com mangueira					
Não	11	91,7	41	87,2	1,00
Sim	01	8,3	06	12,8	
Trabalha com a roupa molhada de combustível					
Não	09	75,0	33	70,2	1,00
Sim	03	25,0	14	29,8	

<sup>#</sup>teste exato de Fisher.

## 5.2 ASSOCIAÇÃO ENTRE EFEITOS GENOTÓXICOS E EXPOSIÇÃO AO BENZENO

A análise citogenética para avaliação a frequência de células com MN foi realizada nos 120 trabalhadores recrutados para a pesquisa, sendo 60 no grupo exposto ocupacionalmente a benzeno e 60 para o grupo não exposto ocupacionalmente ao benzeno. Foram analisadas 2000 células por indivíduo, porém o resultado foi descrito considerando 1000 células por indivíduo, conforme Fenech (2007). Durante as análises, foram identificadas células binucleadas com 1 ou mais micronúcleos, células binucleadas com ponte nucleoplasmática e com broto nuclear.

A frequência de células binucleadas com MN foi duas vezes maior no grupo exposto ocupacionalmente ao benzeno quando comparado ao grupo não exposto a benzeno (Tabela 11). O mesmo foi observado para o total de micronúcleos encontrados em 1000 células analisadas, onde o grupo exposto apresentou uma frequência duas vezes maior do que o grupo não exposto.

A cinética da divisão celular foi calculada por meio do índice de divisão nuclear (IDN). Foi observada diferença estatisticamente significativa (p-valor <0,01) na comparação do IDN entre os trabalhadores expostos ocupacionalmente ao benzeno e os trabalhadores do

grupo não exposto ao benzeno após as análises de 1000 células viáveis para cada voluntário dos dois grupos estudados revelou (Tabela 11).

Tabela 11 - Frequência dos desfechos para os potenciais genotóxico e citotóxico avaliados em trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.

Potencial Genotóxico	Não Exposto (N = 60)	Exposto (N = 60)	p-valor*
<b>Frequência (N)</b>			
Células binucleadas	120.000	120.000	
Binucleadas com MN	484	1.050	<0,01
Total micronúcleos nas células binucleadas	510	1.153	<0,01
<b>Frequência (Média±DP)</b>			
MN-BN / 1000BN <sup>1</sup>	4,08 ± 2,12	8,68 ± 4,85	<0,01
<b>Potencial Citotóxico</b>			
<b>Frequência (Média±DP)</b>			
MN-BN / 1000BN <sup>1</sup>	1,23 ± 0,15	1,37 ± 0,18	<0,01

<sup>1</sup> Frequência de micronúcleos em 1000 células binucleadas. \*teste Mann-Whitney.

A frequência de células binucleadas contendo ponte nucleopasmática mostrou-se duas vezes maior no grupo exposto ao benzeno, quando comparado ao grupo não exposto, porém não apresentou diferença estatisticamente significativa. A presença de broto nuclear revelou uma frequência três vezes maior nos trabalhadores do grupo exposto quando comparado com os trabalhadores do grupo não exposto (Tabela 12). Para esta alteração, houve diferença estatisticamente significativa (p-valor < 0,01).

Tabela 12 - Outros marcadores de dano citogenético avaliados nos linfócitos binucleados dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.

Potencial de dano citogenético	Não Exposto (N = 60)	Exposto (N = 60)	p-valor**
<b>Frequência (N)</b>			
Células binucleadas	120.000	120.000	
Ponte nucleoplasmática	05	10	0,17
Broto Nuclear	24	86	<0,01
<b>Frequência (Média±DP)</b>			
Ponte nucleoplasmática	0,08 ± 0,28	0,18 ± 0,43	<0,01
Broto nuclear	0,40 ± 0,69	1,42 ± 2,07	<0,01

\*teste Mann-Whitney.

### 5.2.1 Análise descritiva das características da população segundo a contagem de micronúcleos

Análises das variáveis demográficas, socioeconômicas, estilo de vida e variáveis ocupacionais foram utilizadas para avaliar o percentual de efeitos genotóxicos em cada grupo do estudo. Os resultados foram interpretados de maneira contínua e categórica, ou seja, foi feita a frequência de células binucleadas com micronúcleo em 1000 células binucleadas juntamente com a média e desvio padrão, para ambos os grupos (exposto e não exposto). Como não há um valor basal para ser usado em indivíduos não expostos, a média de células binucleadas com micronúcleo do grupo não exposto foi utilizada para avaliação dos efeitos genotóxicos. Sendo assim, o valor de 4 MN ou menos foi considerado como valor aceitável de micronúcleos nos trabalhadores selecionados.

As análises mostraram que a frequência de micronúcleos foi maior no sexo masculino (87,9%), porém este fato pode ser justificado pelo reduzido número de mulheres incluídas no estudo. A faixa de idade em que se encontrou maior contagem de MN foi de 35 anos ou mais

(62,5%). Indivíduos que se autodeclararam não brancos (69,4%), que nunca fumaram (76,4%), que possuem o hábito de ingerir bebidas alcoólicas (68,1%) e que consomem alimentos industrializados de 3 a 6 vezes por semana (42,4%) também apresentaram uma frequência maior do que 4 MN (Tabela 13).

Foram feitas três análises estatísticas a fim de correlacionar a presença de células micronucleadas e o histórico de doenças pregressas. A primeira análise contemplou toda a população do estudo, incluindo o grupo exposto e não exposto; a segunda contemplou somente o “grupo exposto” e a terceira somente o “grupo não exposto”. A análise das doenças pregressas com os dois grupos estudados revelou que indivíduos que relataram doenças hematológicas (8,3%) apresentaram uma frequência maior na contagem de micronúcleos. Doenças respiratórias (33,3%), gastrointestinais (23,4%), oftalmológicas (54,2%) e dermatológicas (10,4%) se encontraram presentes em indivíduos que apresentaram contagem igual ou inferior a 4 MN (Figura 6).

A análise das doenças pregressas relatadas pelos trabalhadores do grupo “exposto” indicou maior frequência para doenças respiratórias (27,3%), gastrointestinais (27,3%), oftalmológicas (45,5%) e dermatológicas (18,2%) relacionadas com uma contagem de micronúcleos menor ou igual a 4 MN (Figura 6). A análise das doenças pregressas relatadas pelos trabalhadores do “grupo não exposto” indicou resultados semelhantes para a presença de tais doenças e a contagem de MN (Figura 6).

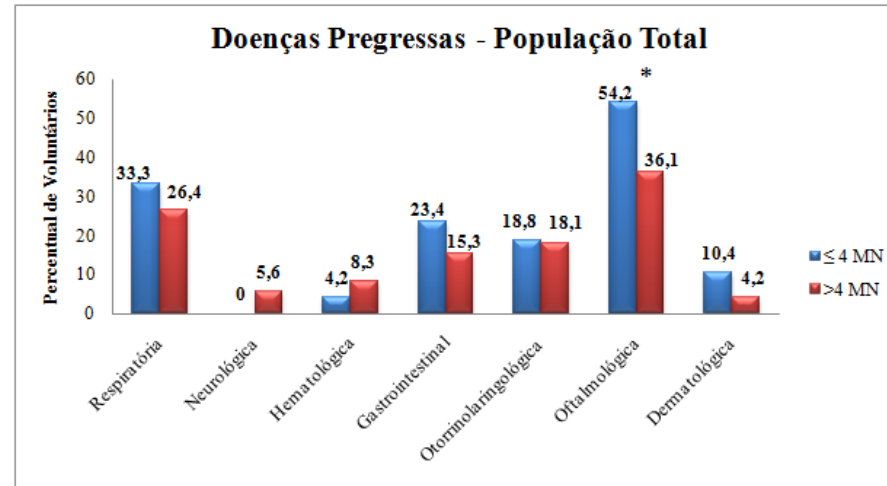


Tabela 13 – Relação entre a contagem de micronúcleos e as características demográficas, socioeconômicas e estilo de vida dos trabalhadores não expostos ocupacionalmente ao benzeno e dos trabalhadores expostos ocupacionalmente ao benzeno inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.

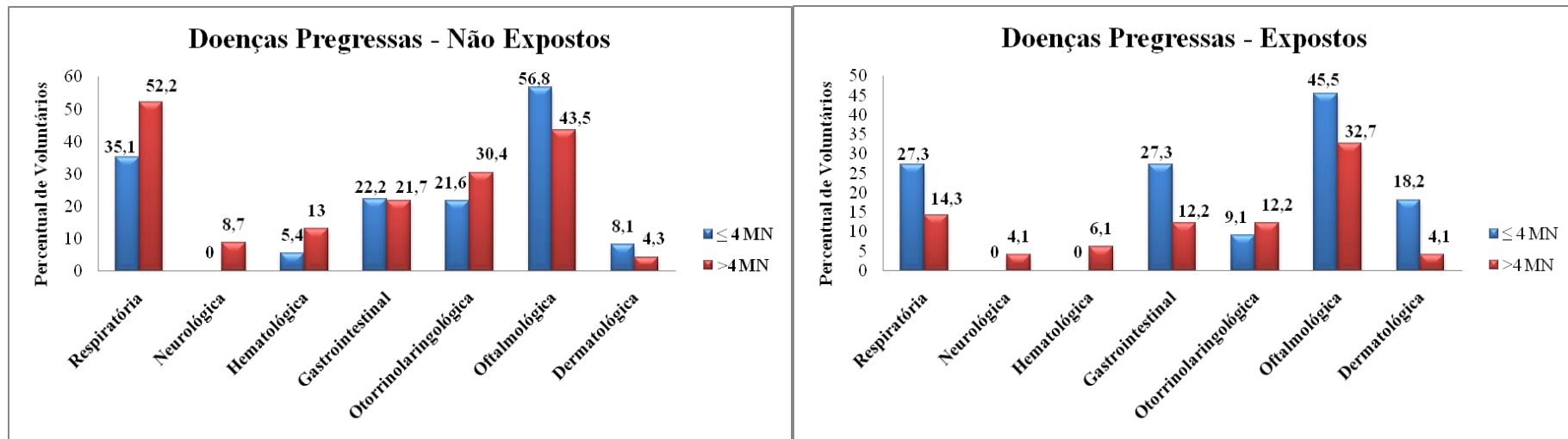
VARIÁVEIS		≤ 4 MN			>4 MN			p-valor
		N	%	Média (DP)	N	%	Média (DP)	
<b>Demográficas e socioeconômicas</b>								
Sexo	Masculino	36	75,0		64	88,9		0,05*
	Feminino	12	25,0		08	11,1		
Idade Categórica	Até 24 anos	02	4,2		05	6,9		0,59*
	De 25 a 34 anos	11	22,9		21	29,2		
	35 anos ou mais	35	72,9		45	62,5		
	NS/NR <sup>2</sup>	00	0,0		01	1,4		
Cor da pele	Não Branco <sup>1</sup>	32	66,7		50	69,4		0,75*
	Branco	16	33,3		22	30,6		
Estado marital	Casado	27	57,4		44	61,1		0,69*
	Separado, viúvo ou solteiro	20	42,6		28	38,9		
Escolaridade	Ensino fundamental	10	20,8		19	26,4		0,09*
	Ensino médio	16	33,3		34	47,2		
	Ensino superior	22	45,8		19	26,4		
Renda familiar (R\$)				3129		4131	0,23 <sup>#</sup>	
<b>Hábitos</b>								
Tabagismo	Nunca fumou	24	50,0		55	76,4		0,01*
	Ex-fumante	15	31,2		10	13,9		
	Fumante	09	18,8		07	9,7		
Ingestão de bebida alcoólica	Não	18	37,5		23	31,9		0,53*
	Sim	30	62,5		49	68,1		
Consumo de alimentos industrializados	Não consome	14	30,4		17	25,8		0,48*
	1-2 vezes por semana	10	21,7		12	18,2		
	3-6 vezes por semana	13	28,3		28	42,4		
	Diariamente	09	19,6		09	13,6		

\*teste Qui-quadrado. #teste Mann-Whitney. <sup>1</sup> Negros, pardos e indígenas. <sup>2</sup> Não sabe/Não respondeu.

Figura 6 – Comparação do histórico de doenças pregressas segundo a contagem de micronúcleos da população total do estudo e de ambos os grupos estudados (grupo não exposto e grupo exposto) analisados separadamente e inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.

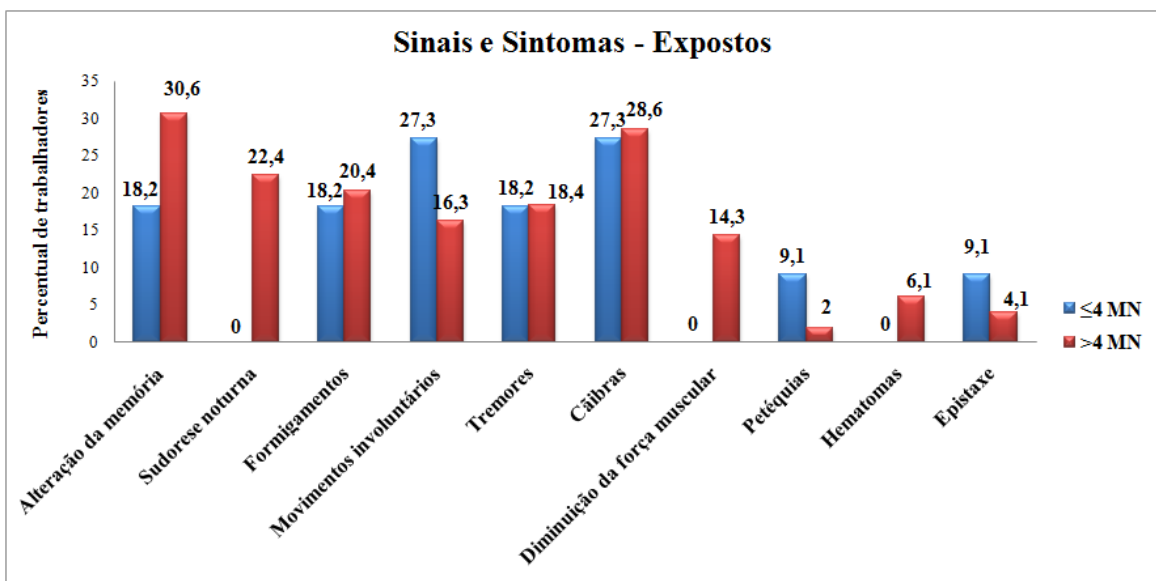
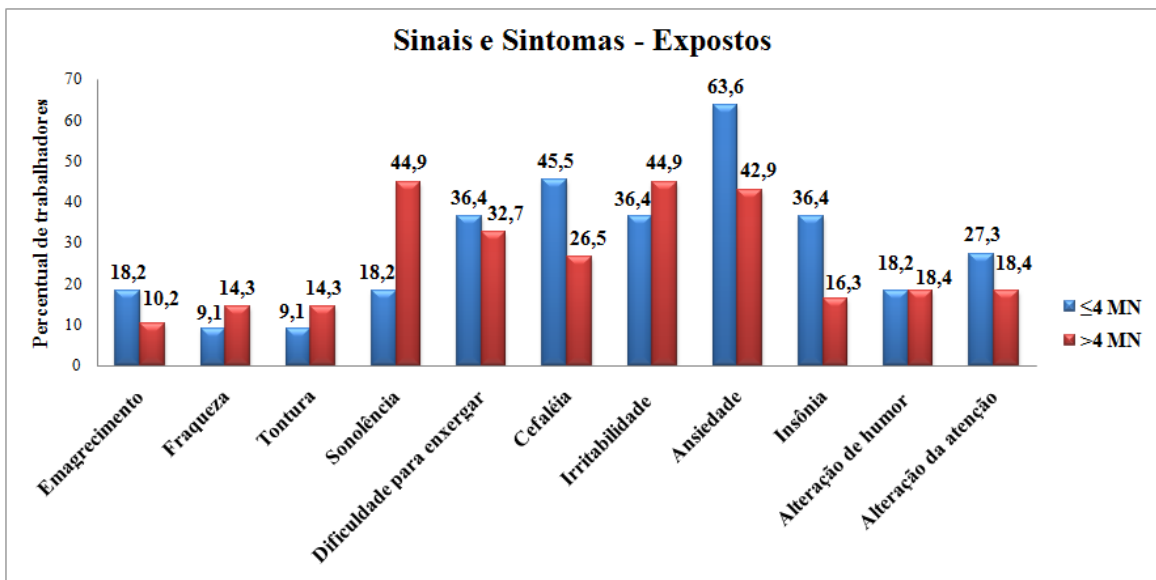


\*p-valor = 0,05 (teste Qui-quadrado)



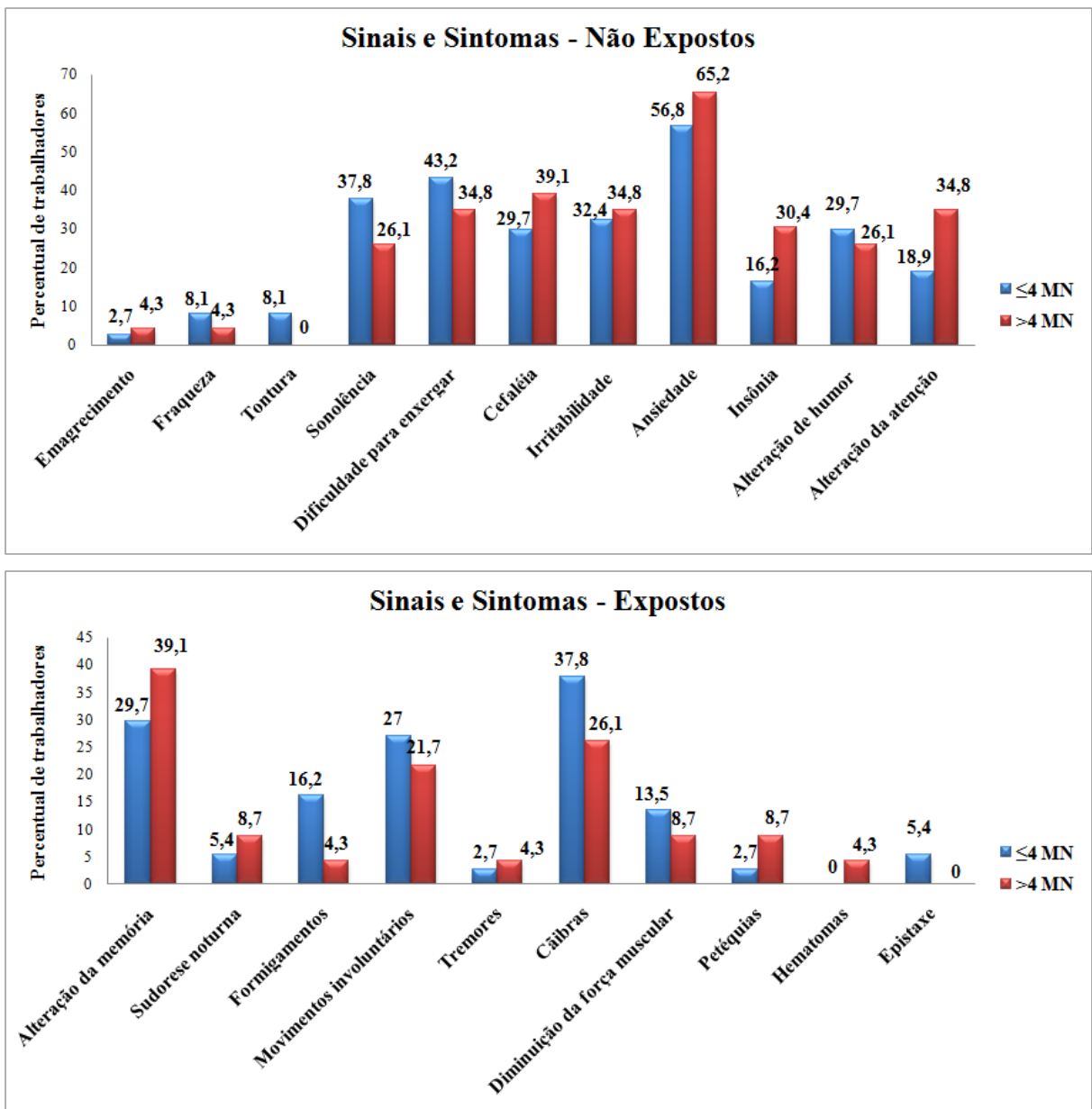
A análise das manifestações clínicas (sintomas) comuns durante a exposição ao benzeno foi realizada separadamente para ambos os grupos estudados (exposto e não exposto). Foi observado que os trabalhadores do “grupo exposto” que afirmaram as queixas clínicas mais comuns relacionadas a intoxicação por benzeno concentraram-se mais frequentemente no grupo com contagem de micronúcleos superior a 4 (Figura 7).

Figura 7 – Sinais e sintomas característicos da exposição ao benzeno apresentados pelos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015 de acordo com a contagem de micronúcleos.



A análise do grupo não exposto de acordo com os sintomas autorrelatados revelou que a maior parte dos trabalhadores que afirmaram a presença das manifestações clínicas estudadas se encontraram no grupo com contagem de células micronucleadas considerada basal (Figura 8).

Figura 8 – Sinais e sintomas característicos da exposição ao benzeno dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) de acordo com a contagem de micronúcleos.



Com relação as características ocupacionais, foram avaliados o tempo de trabalho e a exposição ocupacional a substâncias químicas tanto para o grupo exposto quanto para o grupo não exposto. Foi realizada uma segunda análise do tempo de trabalho e execução de atividades/hábitos ocupacionais que aumentam a exposição ao benzeno utilizando somente os trabalhadores de postos de combustíveis. Todas as variáveis foram agrupadas segundo a contagem de micronúcleos. Analisando os dois grupos foi observada maior frequência de micronúcleos em indivíduos de ambos os grupos que trabalham de 1 a 5 anos na mesma ocupação. Além disso, os indivíduos expostos ocupacionalmente a maior parte das substâncias químicas relatadas, apresentaram aumento na contagem de micronúcleos (Tabela 14).

Tabela 14 - Avaliação do tempo de trabalho e exposição a substâncias químicas, segundo a contagem de micronúcleos dos trabalhadores de escritório da UNIRIO e do INCA não expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo não exposto) e dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.

<i>Variáveis Ocupacionais</i>		≤4 MN		>4MN		p-valor*
		N	%	N	%	
Tempo de trabalho	< 1 ano	03	6,2	13	18,1	0,13*
	1 a 5 anos	20	41,7	31	43,1	
	6 a 10 anos	08	16,7	15	20,8	
	11 a 20 anos	11	22,9	07	9,7	
	> 20 anos	06	12,5	06	8,3	
<i>Exposição a substâncias químicas</i>						
Gasolina	Não	35	72,9	26	36,1	<0,01*
	Sim	13	27,1	46	63,9	
Etanol	Não	38	79,2	28	38,9	<0,01*
	Sim	10	20,8	44	61,1	
Diesel	Não	41	85,4	32	44,4	<0,01*
	Sim	07	14,6	40	55,6	
Gás natural veicular	Não	43	89,6	60	83,3	0,34*
	Sim	05	10,4	12	16,7	
Fumaça de veículos	Não	29	60,4	29	40,3	0,03*
	Sim	19	39,6	43	59,7	
Querosene	Não	46	95,8	71	98,6	0,56 <sup>#</sup>
	Sim	02	4,2	01	1,4	

Continua.

Tabela14 – (Continuação)

<i>Exposição a substâncias químicas</i>		$\leq 4$ MN		$>4$ MN		p-valor*
		N	%	N	%	
Óleo lubrificante	Não	39	81,2	38	52,8	<0,01*
	Sim	09	18,8	34	47,2	
Produtos de limpeza	Não	28	58,3	36	50,0	0,37*
	Sim	20	41,7	36	50,0	
Graxas e ceras	Não	43	89,6	67	93,1	0,52 <sup>#</sup>
	Sim	05	10,4	05	6,9	
Solventes	Não	43	89,6	68	94,4	0,48 <sup>#</sup>
	Sim	05	10,4	04	5,6	

\*teste Qui-quadrado.

Analisando separadamente o tempo de trabalho dos trabalhadores de postos de combustíveis de acordo com a contagem de micronúcleos foi possível observar que os indivíduos com tempo de trabalho abaixo de 5 anos apresentaram maior frequência de células micronucleadas (Tabela 15).

Tabela 15 – Tempo de trabalho segundo a contagem de micronúcleos dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.

Tempo de trabalho	$\leq 4$ MN		$>4$ MN		p-valor
	N	%	N	%	
Menos de 1 ano	02	18,2	12	24,5	0,62*
De 1 a 5 anos	06	54,5	17	34,7	
De 5 a 10 anos	03	27,3	13	26,5	
De 10 a 20 anos	00	0,0	05	10,2	
Mais de 20 anos	00	0,0	02	4,1	

\*teste Qui-quadrado.

### 5.2.2 Características ocupacionais do grupo exposto segundo a contagem de micronúcleos

A avaliação das atividades ocupacionais foi realizada somente para os trabalhadores de postos de combustíveis. Para todas as atividades ocupacionais desenvolvidas pelos

trabalhadores do grupo exposto foi observada maior frequência na contagem de micronúcleos acima de 5 micronúcleos (Tabela 16).

Tabela 16 - Atividades ocupacionais que aumentam a exposição ao benzeno, segundo o número de micronúcleos, em trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.

<i>Atividades ocupacionais</i>	$\leq 4$ MN		$>4$ MN		p-valor*
	N	%	N	%	
<b>Abastece</b>					
Não	01	9,1	03	6,1	0,57#
Sim	10	90,9	46	93,9	
<b>Leitura dos tanques do subsolo</b>					
Não	10	90,9	33	67,3	0,16#
Sim	01	9,1	16	32,7	
<b>Recebe combustível</b>					
Não	10	90,9	33	67,3	0,16#
Sim	01	9,1	16	32,7	
<b>Coleta de amostras de combustível</b>					
Não	09	81,8	38	77,6	1,00#
Sim	02	18,2	11	22,4	
<b>Uso de pano/flanela</b>					
Não	03	27,3	13	26,5	1,00#
Sim	08	72,7	36	73,5	
<b>Aproxima o rosto quando abastece o tanque até a borda</b>					
Não	05	45,5	35	72,9	0,15#
Sim	06	54,5	13	27,1	
<b>Cheira a tampa do veículo antes de abastecer</b>					
Não	09	81,8	38	79,2	1,00#
Sim	02	18,2	10	20,8	
<b>Não confia no bico automático</b>					
Sim	07	63,6	29	60,4	1,00#
Não	04	36,4	19	39,6	
<b>Aspira combustível com mangueira</b>					
Não	10	90,9	42	87,5	1,00#
Sim	01	9,1	06	12,5	
<b>Trabalha com a roupa molhada de combustível</b>					
Não	04	36,4	38	79,2	$<0,01$ #
Sim	07	63,6	10	20,8	

\*teste Qui-quadrado. # teste exato de Fisher.

A análise realizada a seguir foi a comparação entre os valores de *AttM-U* e o surgimento de efeitos genotóxicos através das categorias de contagem considerada basal (4

MN ou menos) e considerada sugestiva de efeitos genotóxicos (mais de 4 MN). Observa-se que 81,2% dos indivíduos com valores de *AttM-U* acima de 0,5mg/g de creatinina, apresentaram uma contagem de MN sugestiva de efeitos genotóxicos (Tabela 17).

Tabela 17 - Níveis de *AttM-U* de acordo com a contagem de micronúcleos dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.

Variáveis	<i>AttM-U</i> ≤0,5		<i>AttM-U</i> >0,5		p-valor*
	N	%	N	%	
≤ 4 MN	03	27,2	08	72,7	0,68#
>4 MN	09	18,8	39	81,2	

\*teste exato de Fisher

### 5.2.3 Análise de regressão multivariada

As variáveis selecionadas para a construção no modelo bivariado foram:

- **Variável independente:** tipo de trabalhador (exposto ou não exposto);
- **Variável dependente:** contagem de micronúcleos em linfócitos binucleados (4 MN ou menos ou mais de 4 MN);
- **Covariáveis:** variáveis demográficas (sexo, idade, estado marital, cor da pele); variáveis socioeconômicas (renda, escolaridade); estilo de vida (tabagismo, ingestão de bebidas alcoólicas, consumo de alimentos industrializados); histórico patológico pregresso (doenças respiratórias, neurológicas, gastrointestinais, hematológicas, otorrinolaringológicas, oftalmológicas e dermatológicas); variáveis ocupacionais (tempo de trabalho, exposição a substâncias químicas).

Foram mantidas no modelo bivariado as variáveis que obtiveram um nível de significância menor ou igual a 0,20, para a posterior inserção no modelo multivariado. As variáveis selecionadas para análise multivariada foram: sexo, idade, escolaridade, tabagismo,



doenças respiratórias, exposição a gasolina, exposição a diesel, exposição a etanol e exposição a gás natural veicular.

Para a análise de regressão multivariada logística não condicional foram mantidas no modelo final as variáveis que apresentaram uma significância menor ou igual a 0,05 ou que modificaram o efeito (coeficiente  $\beta$  de regressão) da variável de exposição sobre o desfecho em 10% ou mais. As variáveis sexo e idade foram mantidas no modelo multivariado final independente da sua significância estatística, devido ao fato de haver indícios na literatura que reforçam a relação entre o número de MN com o sexo e a idade.

Foi observada uma chance de exposição ao benzeno 7 vezes maior entre trabalhadores que apresentaram mais de 4 MN independente da idade, sexo e tabagismo (Tabela 18).

Tabela 18 - Análise de regressão logística multivariada entre a exposição ao benzeno e efeitos genotóxicos através da contagem de micronúcleos ajustada por fatores de confundimento, em trabalhadores de postos de revenda de combustíveis do Centro e da Zona Sul do município do Rio de Janeiro expostos ocupacionalmente ao benzeno (grupo exposto) inseridos no estudo entre os anos de 2014 e 2015.

Variável	$\beta$	IC - 95%	p-valor
Tipo de trabalhador (Ref: Não exposto)	7,630	2,878 – 20,230	<0,01
Idade - até 24 anos (Ref)			
25 a 34 anos	2,133	0,271 – 16,799	0,47
35 anos ou mais	1,506	0,224 – 10,144	0,67
Sexo (Ref: Masculino)	0,503	0,153 – 1,657	0,26
Tabagismo - Nunca fumou (Ref)			
Ex fumante	0,377	0,131 – 1,087	0,38
Fumante	0,203	0,056 – 0,744	0,20

Cat. Ref: Categoria de referência.  $R^2=0,378$ .

## 6 DISCUSSÃO

O presente estudo buscou investigar os possíveis efeitos genotóxicos dos trabalhadores de postos de revenda de combustíveis, após a exposição ao benzeno presente na gasolina através do teste do micronúcleo em linfócitos do sangue periférico. O monitoramento da exposição ao benzeno em trabalhadores de postos de combustíveis é uma ferramenta importante para caracterizar os possíveis efeitos genotóxicos desta substância. A utilização do teste do micronúcleo permite identificar danos ao DNA e/ou cromossomos resultantes da exposição ocupacional, previamente ao desenvolvimento de problemas mais graves a saúde do trabalhador (AU, 1991). A partir dos resultados obtidos neste estudo, foi possível verificar uma associação entre o dano genotóxico e a exposição ocupacional ao benzeno.

### 6.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO

Para descrever a população de estudo foram realizadas análises comparando o grupo exposto ocupacionalmente ao benzeno (trabalhadores de postos de combustíveis) e o grupo não exposto (trabalhadores de escritório). O objetivo do estudo é avaliar a exposição de trabalhadores ao benzeno durante suas atividades ocupacionais e devido a isso, foram selecionados trabalhadores que declararam, durante a coleta de dados, algum contato com a gasolina. Frentistas, gerentes/encarregados de pista, lubrificadores e lavadores de carro foram os trabalhadores selecionados para o estudo. Foi observado na análise de comparação de gêneros do grupo exposto, maior percentual de trabalhadores do sexo masculino. Somente quatro mulheres inseridas na pesquisa declararam contato direto com a gasolina. O fato de haver maior predominância do sexo masculino em tais profissões é justificado, pois são considerados trabalhos onde há riscos mais evidentes se comparados a outras profissões.

Houve maior predominância de trabalhadores, de ambos os grupos estudados, com idade superior a 35 anos. Alguns estudos que avaliavam a exposição ocupacional ao benzeno de trabalhadores de postos de combustíveis mostraram resultados semelhantes em relação a idade, como o realizado por Grendele e Teixeira em trabalhadores de postos de combustíveis no município de Concórdia/Santa Catarina, onde 46% dos trabalhadores se possuíam mais de 31 anos (GRENDELE; TEIXEIRA, 2009). Em um estudo realizado em Santarém/Pará

analisando a proteção e qualidade de vida de trabalhadores frentistas mostrou que 47% dos trabalhadores analisados encontravam-se na faixa etária compreendida entre 30 e 39 anos (PORTELA, et al., 2011).

No que concerne ao estado civil, observou-se maior frequência de trabalhadores expostos que declararam ser casados ou viver em união. Esse resultado foi observado em outros trabalhos que avaliavam exposição ocupacional, como por exemplo, o estudo de avaliação da exposição ocupacional de trabalhadores de postos de combustíveis no Sertão Paraibano, onde 82,5% dos trabalhadores eram casados (CERQUEIRA, et al., 2010). Arruda (2006), estudando a exposição ocupacional a agrotóxicos em trabalhadores rurais no Distrito de Engenheiro Ávidos /Cajazeiras /Paraíba observou que 72,5% dos trabalhadores eram casados e sugere que a frequência é maior nestes grupos devido a necessidade destes indivíduos de manter uma atividade econômica estável para o sustento da família.

Quanto aos hábitos/estilos de vida a avaliação de tabagismo mostrou um maior percentual de trabalhadores não fumantes, para ambos os grupos estudados. Em relação ao consumo de bebidas alcoólicas, houve maior percentual de trabalhadores de ambos os grupos que declararam ingerir tais bebidas. Os trabalhadores dos dois grupos estudados mostraram no consumo de alimentos industrializados, maior percentual de três a seis vezes por semana.

O histórico de doenças pregressas permitiu visualizar a frequência das doenças relacionadas com a exposição ao benzeno. Os resultados desta pesquisa mostraram que dentro da população de estudo, houve maior frequência de trabalhadores do grupo não exposto relatando a presença de tais doenças durante a vida. A comparação entre o grupo exposto e o grupo não exposto apresentou diferença estatisticamente significativa somente para doenças respiratórias, sendo o grupo não exposto o que apresentou mais trabalhadores relatando esta doença. Como os trabalhadores de postos de combustíveis estão expostos ao benzeno através da via respiratória, era esperado que estes trabalhadores apresentassem maior frequência quando comparados aos trabalhadores não expostos. Em trabalhos descritos na literatura foram mencionadas alterações metabólicas e funcionais ocasionadas pela exposição à gasolina, óleo diesel e etanol, em diferentes sistemas biológicos como o respiratório, nervoso, hematológico, oftalmológico, entre outros, podendo levar a formação de câncer e morte. Cerqueira et al., (2013) em um estudo com trabalhadores de postos de combustíveis no município de Icó/Ceará, identificou na população estudada a manifestação de alguns sintomas relacionados com a anemia, provocada por solventes, como cefaléia, algia em membros inferiores, náuseas e tontura.

A desigualdade em saúde existente no Brasil pode explicar este fato. O acesso a saúde é caracterizado pela disponibilidade de serviços de saúde ao alcance dos usuários e pela acessibilidade no que se refere aos custos diretos e indiretos dos cuidados em relação à capacidade de pagamento do usuário (ASSIS; JESUS, 2012). A distinção socioeconômica persistente no Brasil promove acesso desigual aos serviços de saúde pelas diversas classes sociais. O grupo de trabalhadores não expostos foi caracterizado por indivíduos de maior renda, comparando com trabalhadores expostos ao benzeno. O acesso dos trabalhadores aos serviços de saúde propicia diagnósticos mais rápidos e potencial conhecimento sobre tais doenças. Trabalhadores com dificuldades no acesso a saúde podem não obter o conhecimento sobre determinadas doenças, só sendo reconhecidas por profissionais de saúde em estágios tardios.

No que concernem as manifestações clínicas relacionadas com os sinais e sintomas característicos de intoxicação por benzeno, os resultados se mostraram contrários aos encontrados em doenças pregressas autorrelatadas. A comparação foi feita entre os trabalhadores que responderam “Sim” do grupo exposto e não exposto. É possível notar que a maior parte das queixas clínicas foram relatadas pelos trabalhadores expostos. Sudorese noturna e tremores apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos. A prevalência de manifestações clínicas nos trabalhadores expostos reforça a ideia de que muitas doenças podem estar presentes neste grupo, porém devido a dificuldade ao acesso de serviços de saúde, muitas doenças podem não ter sido diagnosticadas até o momento.

A avaliação do tempo de trabalho permitiu identificar que a maior parte dos trabalhadores expostos estavam na mesma ocupação entre 1 e 5 anos. A possível explicação para a rotatividade deste setor pode estar relacionada a diversos fatores como política salarial; a política de benefícios, oportunidades de progresso profissional oferecidas pela empresa; tipo de supervisão; as condições físicas ambientais de trabalho; a motivação do pessoal, entre outros. Além dos fatores citados, também há o fato de que o perfil de trabalho em postos de combustíveis é caracterizado por múltiplas funções que aumentam a carga de trabalho (FERREIRA; FREIE., 2000).

O ambiente dos postos de combustíveis propicia aos trabalhadores inúmeros riscos e agravos à saúde, os quais devem ser considerados ofensivos ao processo saúde-doença do profissional exposto (ROCHA, et al., 2014). As suas atividades rotineiras são caracterizadas por expor os trabalhadores aos compostos presentes nos combustíveis, inclusive ao benzeno. O caráter de exposição difere para cada trabalhador, devido principalmente ao tempo

dedicado a atividade ocupacional e o cuidado ao exercê-la (KAMENOPOULOU; DRIKOS; DIMITRIOU, 2001). Aliado a isso, hábitos ocupacionais que afrontam normas de segurança em relação à exposição ao benzeno têm sido relatados como condições potencialmente associadas ao aumento do risco de danos causados por esta e outras substâncias que compõem os combustíveis utilizados no país (D'ALASCIO et al., 2013). No presente estudo, o procedimento ocupacional de abastecimento de veículos, é executado por quase todos os trabalhadores do grupo exposto. As bombas de combustível utilizadas no país não apresentam sistemas de captação/recuperação de vapores nos bicos das bombas durante as operações de abastecimento de veículos. Por conta disso, a cada abastecimento, os trabalhadores são expostos a grandes concentrações desses vapores que contém benzeno. Outras atividades como a leitura de tanques localizados no subsolo do posto de combustível, o recebimento do caminhão tanque e a coleta de amostras de combustível não esteve presente em todos os trabalhadores do grupo exposto, já que são procedimentos realizados geralmente por gerentes/encarregados de pista. Porém, estas atividades também aumentam a exposição ao benzeno, já que se tratam de procedimentos com contato direto com a gasolina.

Alguns dos hábitos relatados pelos trabalhadores de postos devem ser eliminados do cotidiano uma vez que podem aumentar a exposição ao benzeno presente na gasolina. O uso de pano/flanela próximo ao corpo é um desses hábitos e foi relatado por 73,3% dos trabalhadores expostos. A absorção do benzeno ocorre em maior ou menor concentração de acordo com a parte do corpo. Em homens, regiões próximas aos testículos absorvem concentrações muito altas de benzeno. Regiões próximas a cabeça e costas também possuem alta capacidade de absorção (FUNDACENTRO, 2012). Geralmente, os trabalhadores que utilizam flanelas para proteção dos veículos durante o abastecimento, as mantêm próximo da cintura ou ombros e como foi dito anteriormente, essas áreas têm alta capacidade de absorção de benzeno. Ainda durante o abastecimento algumas gotas do combustível são liberadas e podem entrar em contato com esses panos (KAY, 2005., apud DIB, et al, 2007). O ideal é não utilizar panos ou flanelas durante o abastecimento, mas caso utilizem, tais trabalhadores devem ser orientados a mantê-los longe do corpo. Algumas tecnologias desenvolvidas podem diminuir a exposição dos trabalhadores. Uma pesquisa da Universidade Federal da Paraíba, desenvolvida em parceria com a SEBRAE, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Instituto Euvaldo Lodi e Federação de Indústrias do Estado da Paraíba, desenvolveu um equipamento denominado Gasolimp, feito de esponja poliuretana, que absorve os resíduos de combustíveis lançados durante o abastecimento. Este equipamento

poderia reduzir o contato do trabalhador com as gotas de combustível liberadas durante o abastecimento e com isso haveria uma redução da exposição do trabalhador (KAY, 2005 apud., DIB, et al, 2007).

Aproximar o rosto ao abastecer para verificar se o tanque está cheio e cheirar a tampa do tanque de combustível para deduzir o tipo de combustível a ser utilizado são hábitos que devem ser eliminados pelos trabalhadores. As bombas de abastecimento automáticas têm por finalidade verificar se o tanque de combustível está completamente cheio, não havendo necessidade de aproximar o rosto do taque com o mesmo objetivo. Do mesmo modo que antes de abastecer o trabalhador pode perguntar qual o combustível sem ter a necessidade de cheirar a tampa do tanque de combustível (D'ALASCIO et al., 2013).

Uma das ações para prevenção da exposição ocupacional ao benzeno está no desenvolvimento de ações de educação aos trabalhadores, para que possam ser esclarecidos os riscos aos quais são submetidos diariamente e quais as medidas de proteção devem ser tomadas pelos mesmos para minimizar essa exposição. A execução de estudos com envolvimento dos próprios trabalhadores, isto é, como sujeitos das pesquisas, permite maior entendimento e esclarecimento dos riscos ocupacionais, pois além de ser uma estratégia de comunicação do risco, a informação ao trabalhador dos riscos inerentes a sua atividade é um direito fundamental que deve ser garantido. Estudos demonstraram a importância dessas ações que contribuindo para o empoderamento da força de trabalho, tornam-nas capazes não somente de proteger a saúde individual, mas de reivindicar melhores condições de vida e de transformação da realidade do coletivo (AUGUSTO, 1991; CORREA, 2008).

## 6.2 EFEITOS GENOTÓXICOS

Em âmbito mundial, tem-se encontrado forte relação entre a exposição a agentes genotóxicos e o desenvolvimento de diversos efeitos nocivos à saúde, principalmente relacionados a incidência de cânceres em pessoas ocupacionalmente expostas (MARQUEZ et al., 2005). O teste do MN permite identificar eventuais aumentos na frequência de mutações nas células expostas a agentes genotóxicos, expressando danos cromossômicos através do MN (FENECH, 2007). Segundo Bonassi (2007), o aumento da frequência de MN numa determinada população está associada a um maior risco de câncer. Diversos estudos

relacionam a frequência de MN em linfócitos do sangue periférico como biomarcador preditivo de câncer em populações humanas (FARMER; EMENY, 2006; BONASSI et al., 2007; IARMARCOVAI et al., 2008; GARCIA-SAGREDO, 2008).

A análise dos possíveis efeitos genotóxicos nos trabalhadores foi feita a partir da contagem de micronúcleos em linfócitos do sangue periférico. Nos estudos de monitoramento de populações expostas, é importante analisar características como sexo, idade, hábitos/estilos de vida, hábitos alimentares, entre outros, presentes na população de estudo. Para isso, foi calculada a frequência do número de células micronucleadas para os dois grupos que revelou que a média do grupo não exposto foi de 4 MN e esta foi utilizada como valor basal para a contagem de micronúcleos, visto que não existe um valor para populações não expostas a ser seguido. Os trabalhadores foram agrupados, portanto, de acordo com seus resultados: 4 MN ou menos (valor basal) e mais de 4 MN (indicativo de efeitos genotóxicos).

Diversos estudos têm demonstrado esta associação entre gênero e o número de células micronucleadas. Fenech (1998) apresenta resultados em que a frequência de MN em mulheres é 1,2 a 1,6 vezes mais elevada que a encontrada nos homens, aumentando significativamente e de forma gradual com a idade. Uma possível explicação é maior probabilidade de aneuploidias associados ao cromossomo X (CATALAN et al., 1998; BUKVIC et al., 2001; BOLOGNESI et al., 2002; BARELE et al., 1998). No presente estudo, essa associação não foi encontrada. Houve uma maior frequência de trabalhadores do sexo masculino com mais de 4 MN, o que pode ser justificado pela grande diferença entre o número total de mulheres e de homens incluídos na pesquisa.

Sexo e idade são consideradas as variáveis demográficas que mais influenciam a frequência de MN em linfócitos humanos (CARBONELL et al., 1993; GOMEZ-ARROYO et al., 2000). Analisando a idade não foi possível verificar diferenças significativas quanto a contagem de MN, mas os resultados obtidos demonstram maior frequência de células micronucleadas em idades mais avançadas, como esperado, apesar de não ser significativo. Esses resultados são similares a outros estudos, que demonstram uma associação positiva entre a idade e a frequência de micronúcleos, devido ao significativo aumento nas alterações cromossômicas, tanto em homens como mulheres, com o aumento da idade (CALVERT, TALASKA, MUELLER, 1998).

Em relação aos hábitos de vida como tabagismo, houve diferença estatisticamente significativa entre as categorias de contagem de micronúcleos. Indivíduos que nunca fumaram apresentaram uma contagem de micronúcleos superior quando comparados aos que afirmaram

ser tabagistas. Esse resultado é contrário a muitos estudos relacionando indivíduos tabagistas e o número de micronúcleos encontrados. Um fator que pode ter contribuído para o resultado do presente trabalho pode estar relacionado com o pequeno número de trabalhadores fumantes do estudo, onde 70% dos trabalhadores expostos e 61,7% dos trabalhadores não expostos pertenceram a classe de “Não fumantes”.

O consumo de bebidas alcoólicas tem sido descrito como um agente que influencia de forma genotóxica as células, sendo citado como um forte agente potenciador do desencadeamento de lesões cancerígenas (RAMIREZ; SALDANHA, 2002). Neste estudo os resultados obtidos confirmam tais achados, pois 68,1% dos indivíduos que apresentaram uma contagem de MN maior do que 4, possuíam o hábito de ingerir bebidas alcoólicas, porém a diferença estatística encontrada entre os grupos de contagem de micronúcleos não foi significativa.

As análises de doenças pregressas e sinais e sintomas relacionados a exposição a benzeno foram feitas de três maneiras. Analisando os trabalhadores dos dois grupos juntos em relação a contagem de micronúcleos; analisando somente os trabalhadores de postos de combustíveis em relação a contagem de micronúcleos; e por fim analisando somente os trabalhadores do grupo não exposto. A realização dessas análises separadamente permitiu comparar os resultados encontrados em cada uma delas. Verificou-se uma frequência de alterações sugestivas de efeitos genotóxicos, desde doenças pregressas até os sinais e sintomas clínicos característicos de intoxicação por benzeno, maior no grupo exposto ao benzeno.

A exposição a gasolina aliada outras substâncias químicas como diesel e etanol podem aumentar os efeitos tóxicos a saúde do trabalhador. Holgate e colaboradores (2002) indicam que a exposição a concentrações baixas de emissões de diesel induzem ao aparecimento de inflamações no trato respiratório. Também afirmaram que doenças cardiovasculares podem estar associadas diretamente a exposição a diesel e a fumaça de veículos.

A análise das atividades exercidas no posto de combustível relacionada com a contagem de micronúcleos foi feita comparando os trabalhadores que afirmaram executar tais atividades. Todos os trabalhadores que afirmaram executar os procedimentos e hábitos ocupacionais que aumentam a exposição a gasolina, encontraram-se em maior percentual no grupo com mais de 4 MN. Porém, foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos com a contagem de micronúcleos considerada basal e a contagem de micronúcleos sugestiva de efeitos genotóxicos apenas para os trabalhadores que permanecem com a roupa molhada de combustível ao longo do dia. Este fato é um indicativo da relação



entre a execução de atividades que facilitam ou aumentam a exposição ao benzeno e o aumento de marcadores de efeitos genotóxicos. Porém, é importante fazer uma análise crítica e não responsabilizar o trabalhador, uma vez que, a permanência com a roupa molhada de gasolina ao longo do dia se deve ao fato do trabalhador não ter um uniforme extra e não ter condições adequadas para tomar banho e se trocar nos ambientes dos postos de revenda de combustíveis.

A frequência de células micronucleadas e o total de micronúcleos revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos exposto e não exposto ( $p$ -valor  $< 0,01$ ). Os trabalhadores expostos apresentaram o número de células binucleadas com micronúcleo e o número total de micronúcleos duas vezes maior do que o grupo não exposto. Esses resultados também reforçam a hipótese de que a exposição ocupacional ao benzeno está levando a danos genotóxicos que podem levar a sérios agravos à saúde do trabalhador.

A avaliação citotóxica pode ser considerada como indicador precoce de dano celular, a qual é decorrente do aumento da apoptose e diminuição da viabilidade celular (PEREIRA e cols., 2005; PEREZ e cols., 2005). O cálculo do IDN permite avaliar o estado proliferativo das células viáveis e, portanto, pode ser utilizado como um indicador de efeito citostático. O valor do IDN aumenta de acordo com os ciclos de divisão celular, por esse motivo, valores próximos a 1 indicam que as células não conseguiram passar por um ciclo de divisão, apresentando-se em maior número como mononucleadas (FENECH, 2007). Na avaliação do potencial citotóxico, houve um aumento significativo da proliferação celular em indivíduos expostos a benzeno, quando comparados aos indivíduos não expostos.

A frequência de outros marcadores de dano citogenético como ponte nucleoplasmática e broto nuclear foram maiores no grupo de trabalhadores expostos ao benzeno. O grupo exposto apresentou 3 vezes mais células com broto nuclear quando comparado ao grupo não exposto, sendo a diferença considerada estatisticamente significativa. A formação de brotos nucleares ocorre quando não há a incorporação do fragmento cromossômico, levando a exteriorização nuclear e acredita-se que seja um estágio precoce ou inicial da formação do MN (SALAZAR; SORDO; OSTROSKY-WEGMAN, 2009).

A avaliação da frequência de células binucleadas com ponte nucleoplasmática é importante, pois através dela verifica-se a possibilidade de ocorrência de eventos de quebra/translocação de um cromossomo (PALAZZO; MALUF, 2011). A indução de micronúcleos na ausência de PNP pode indicar ação de um agente aneugênico, pois assim o MN não seria resultado de uma quebra cromossômica que poderia gerar uma PNP, mas sim

de um evento de perda cromossômica decorrente de falha no fuso mitótico. Quando há a presença de uma PNP, essa pode ser decorrente da ação de um agente clastogênico (PALAZZO; MALUF, 2011). A presença de uma PNP sem micronúcleo pode ser devido a fusão de porções terminais de cromátides que sofreram encurtamento telomérico, assim as PNP não precisam acompanhar a formação de um fragmento cromossômico acêntrico (PALAZZO; MALUF, 2011).

A análise de regressão multivariada indicou uma chance sete vezes maior do grupo exposto a benzeno de apresentar células micronucleadas (como indicativo de efeitos genotóxicos) quando comparado com o grupo não exposto a benzeno.

### 6.3 AVALIAÇÃO DO *AttM-U*

O valor máximo permitido de *AttM-U* é 0,5 mg/g de creatinina corresponde ao valor encontrado nas concentrações máximas recomendadas pela legislação, mas como se trata de uma substância carcinogênica, qualquer exposição é importante para o surgimento de danos a saúde. A análise de *AttM-U* em trabalhadores de postos de combustíveis mostrou que 78,3% dos trabalhadores expostos apresentaram o valor acima de 0,5 mg/g de creatinina. Mesmo apresentando uma média de 0,29 mg/g de creatinina, dos 60 trabalhadores estudados, 38 apresentaram uma contagem de micronúcleos indicativa de efeitos genotóxicos e apresentaram valores de *AttM-U* acima de 0,5 mg/g de creatinina.

### 6.4 ALTERNATIVAS PARA A REDUÇÃO DA EXPOSIÇÃO DE TRABALHADORES DE POSTOS DE COMBUSTÍVEIS AO BENZENO

Os dados sobre as doenças provocadas pela exposição ao benzeno, no Brasil, são dispersos e raros. Há uma dificuldade de estabelecimento de nexos causais e de notificações, pois em uma grande parte dos casos, as doenças relacionadas à exposição ocupacional ao benzeno costumam se manifestar distante do local onde foram contraídas, podendo ocorrer muitos anos depois (CERQUEIRA et al., 2010). Além disso, a alta rotatividade, o fato de que

o controle médico rigoroso dos trabalhadores ocorreu somente após a legislação de 1995, a inexistência de trabalhos epidemiológicos de busca ativa de casos junto a populações expostas ocupacionalmente, além da pouca cobertura dos serviços públicos de saúde para diagnóstico das doenças relacionadas ao trabalho e ao meio ambiente, são fatores que contribuem para que o conhecimento institucional continue fragmentado acerca das doenças ocupacionais relativas a exposição ao benzeno (BRASIL, 2009).

O impacto econômico da indústria química a torna extremamente influente na definição de medidas regulatórias, definição de limites de exposição e ações de educação. Por isso, a participação de diferentes áreas e órgãos da Vigilância em Saúde é de fundamental importância para agregar diferentes olhares voltados à proteção dos interesses públicos. Também são de extrema relevância a participação sindical nos processos decisórios, devendo incluir também outros grupos de trabalhadores expostos (comerciantes, motoristas, entre outros). Ações de informação voltadas a todos os que circulam em postos de combustíveis sobre os danos e as medidas de prevenção são primordiais para a proteção dos indivíduos (trabalhadores e consumidores), e também permitem o controle social e as denúncias de irregularidades.

As áreas componentes da Vigilância em Saúde (Vigilância Ambiental, Epidemiológica e Sanitária) devem atuar de maneira integrada a fim de minimizar os riscos inerentes à exposição ocupacional ao benzeno. A Vigilância Ambiental possui um campo de atuação relacionado às substâncias químicas, como o benzeno. A sua forma de atuação se baseia nas ações sistemáticas e articuladas entre diferentes setores de governo, e da sociedade civil, visando detectar e controlar os fatores ambientais de risco à saúde da população exposta. A Vigilância Epidemiológica tem ampliado seu escopo nas últimas décadas para além das já tradicionais doenças transmissíveis e imunopreveníveis, englobando ações de prevenção e controle da população exposta a fatores de risco inclusive para acidentes e doenças de trabalho. Portanto, a vigilância a população trabalhadora exposta ao benzeno entra no campo de atuações da Vigilância Epidemiológica (BRASIL, 2013). Neste contexto, a interlocução da Vigilância Sanitária e da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) deve ser ampliada, uma vez que, é função da vigilância fiscalizar diretamente ou mediante órgãos conveniados da administração pública, a atividade de revenda de combustíveis (Lei nº 9.847, de 28/10/1999) com o objetivo de garantir a qualidade e segurança dos produtos revendidos e verificar se a legislação está sendo cumprida (BRASIL, 1999). A necessidade do estabelecimento da integração dos vários níveis do governo, das

áreas da Vigilância em Saúde, do setor produtivo, e dos demais órgãos públicos permite desenvolver ações articuladas, e utilizar vários instrumentos e métodos para auxiliar o conhecimento, a detecção e o controle dos fatores de risco, e as doenças ou agravos à saúde da população trabalhadora exposta (BRASIL, 2013).

Existem diversas medidas que podem ser adotadas a fim de reduzir a exposição e os efeitos à saúde dos trabalhadores de postos de combustíveis em suas atividades diárias. Avaliar a qualidade das medidas de proteção adotadas para os trabalhadores de postos de combustíveis é um ponto muito importante, assim como, o incentivo para adoção de novas tecnologias que reduzam essa exposição e ações em saúde para o manuseio adequado dos equipamentos do posto de combustível. Outras medidas incluem o controle da concentração de benzeno presente na gasolina e o controle do benzeno no ar, ações educativas para os danos e possíveis danos à saúde dos trabalhadores, a capacitação dos peritos da previdência social para que as doenças ocupacionais possam ser mais facilmente detectadas, campanha informativa sobre a exposição do trabalhador ao benzeno junto aos sindicatos, cursos de atualização para o conselho de medicina, sobre as doenças ocupacionais, com materiais informativos que auxiliem no diagnóstico das alterações hematológicas decorrentes da exposição ao solvente, entre outros.

O monitoramento biológico deve ser realizado sempre que necessário para avaliar a exposição de trabalhadores em atividades de maior risco ou em situações onde houve algum descontrole. A aplicação correta da legislação e a fiscalização, é possível que se controle o risco dos trabalhadores expostos a benzeno.

## 7 CONCLUSÕES

Os resultados desse trabalho indicam a existência de associação entre os efeitos genotóxicos encontrados nos trabalhadores de postos de combustíveis e a exposição ao benzeno durante suas atividades ocupacionais. A frequência de alterações indicativas de efeitos genotóxicos aumentou significativamente nos trabalhadores expostos quando comparados aos não expostos.

Com relação as doenças relacionadas a intoxicação por benzeno foi possível identificar maior frequência de trabalhadores expostos com alterações indicativas de efeitos genotóxicos que afirmaram presença de tais doenças e sinais clínicos. Também foi possível visualizar que os trabalhadores não expostos que afirmaram possuir as doenças e os sinais clínicos analisados possuíam um número de micronúcleos considerados basais. Porém, essas análises não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, sendo necessário aumentar o número de trabalhadores de ambos os grupos para confirmar os resultados encontrados.

O procedimento ocupacional exercido por trabalhadores de postos de combustíveis que aumentou significativamente o marcador de efeito genotóxico (aumento de células binucleadas com micronúcleo) foi: trabalhar com a roupa molhada de combustível. Todas os demais procedimentos ocupacionais e atividades exercidas estiveram presentes em maior frequência em indivíduos com contagem de micronúcleos sugestiva de efeitos genotóxicos, porém não apresentaram significância estatística.

Associação entre a exposição ao benzeno e o surgimento de efeitos genotóxicos demonstrou que indivíduos expostos ao benzeno tem sete vezes mais chance de apresentar efeitos genotóxicos quando comparados aos indivíduos não expostos a benzeno.

A associação entre os efeitos genotóxicos e os níveis de *AttM-U* na população de estudo não encontrou diferenças estatisticamente significativas. Não foi possível realizar análises mais profundas a partir do indicador biológico de exposição – *AttM-U*, pois a presente dissertação não contou com a análise deste metabólito em voluntários do grupo não exposto. Acreditamos que isso ocorreu devido ao pequeno número amostral do estudo. Porém ao analisar a frequência entre a contagem de micronúcleos e os níveis de ácido *trans-trans* mucônico (*AttM-U*) nos trabalhadores de postos de combustíveis vimos que dos 60 trabalhadores estudados, 38 apresentaram uma contagem de micronúcleos indicativa de

efeitos genotóxicos e apresentaram valores de *AttM-U* acima de 0,5mg/g de creatinina. Este fato reforça a necessidade de aumentar o número amostral para a confirmação dos resultados obtidos.

## REFERÊNCIAS

ABIQUIM. Associação Brasileira da Indústria Química **Pacto nacional da indústria química**. São Paulo, 2010.

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists. 1997: **Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices**. Cincinnati, OH, 1999.

ALBERTINI, R.J.; et al.,. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. **Mutation Research**, v. 463, p. 111-172, 2000.

ALVES, R. Vigilância em saúde do trabalhador e promoção da saúde: aproximações possíveis e desafios. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 19(1):319-322, 2003.

ARRUDA, V.R. **Fatores de riscos associados ao uso de agrotóxicos pelos trabalhadores rurais da área de abrangência da USF Elvira Dias da Silva no distrito de Engenheiro Avidos, Cajazeiras, Paraíba**. 2006. (Monografia de Especialização em Saúde da Família) Universidade Federal da Paraíba, 2006.

ANP. Agência Nacional do Petróleo. **Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis**. Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?pg=76798> >. Acesso em 30 de novembro de 2015.

ASSIS; JESUS. Acesso aos serviços de saúde: abordagens, conceitos, políticas e modelo de análise. **Ciência & Saúde Coletiva**, 17(11):2865-2875, 2012.

ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2007. **CERCLA Priority List of Hazardous Substances That Will Be the Subject of Toxicological Profiles and Support Document**, 2007.

AU, WW. Cytogenetic assays in monitoring human exposure and prediction of risk. **Environmental Mutagenesis Carcinogenesis Teratogenesis**; 23:236-245, 1991.

AUGUSTO, L.G.S. **Estudo longitudinal e morfológico (medula óssea) em pacientes com neutropenia secundária à exposição ocupacional crônica ao benzeno**. 1991. Dissertação (Mestrado em Medicina Interna) Campinas: Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP; 1991.

BASTOS, V.D. et al. **Potencial de Investimentos no Setor Petroquímico Brasileiro 2007-2010**. Banco Nacional do Desenvolvimento, 2007.

BARELE, R.; et al. Sister chromatid exchange and micronucleus frequency in human lymphocytes of 1,650 subjects in an Italian population: II. Contribution of sex, age, and lifestyle. **Environmental and Molecular Mutagenesis** 31(3): 228-42, 1998.

BECHTOLD, W.E.; et al., S-phenylcysteine formation in hemoglobin as a biological exposure index to benzene. **Arch. Toxicol.**, Berlin, v. 66, n.5, p. 303-309, 1992.

BECHTOLD, W. E.; HENDERSON, R. F. Biomarkers of human exposure to benzene. **J. Toxicol. Environ. Health**, London, v.40, p.377-386, 1993.

BECHTOLD, W. E.; STRUNK, M. R. S-phenylcysteine in albumin as a benzene biomarker. **Environ. Health Perspect.**, Washington, v.104, suppl. 6, p. 1147-1149, 1996.

BOLOGNESI, C.; PERRONE, E.; LANDINI, E. Micronucleus monitoring of a floriculturist population from western Liguria, Italy . **Mutagenesis** 17( 5): 391- 97, 2002.

BONASSI, S.; et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. **Carcinogenesis** 28:625-631, 2007.

BOND, G. F.; MCLAREN, E. A.; BALDWIN, C.L.; COOK, R. R. An update of mortality among chemical workers exposed to benzene. **British Journal of Industrial Medicine**. v.43, p.685-691, 1986.

BRASIL (a). Ministério da Saúde. Portaria nº 1.565, de 26 de agosto de 1994. **Definição do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária e sua abrangência**. Diário Oficial da União. Brasília, 29 de agosto de 1994.

BRASIL (b). Ministério do Trabalho. Secretaria de Relações do Trabalho. **Portaria nº 24, de 29 dez. 1994**. Diário Oficial, Brasília, 30 dez. 1994. Seção 1, p. 21278-21279.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. **Portaria nº 14 de 20 de dezembro de 1995**. Diário Oficial da União, 22 de dezembro de 1995.

BRASIL. Lei nº 9.847, de 26 de outubro de 1999. **Dispõe sobre a fiscalização das atividades relativas ao abastecimento nacional de combustíveis**. Diário Oficial da União - Seção 1 - Edição Extra – 27 de outubro de 1999.



BRASIL. Portaria nº 116 de 5 de julho de 2000. **Regulamenta o exercício da atividade de revenda varejista de combustível automotivo.** Diário Oficial da União. Brasília, 6 de julho de 2000. Retificada 7 de julho de 2000.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria Interministerial nº 775, de 28 de abril de 2004. **Proíbe a comercialização de produtos acabados que contenham benzeno em sua composição, admitindo, porém, alguns percentuais.** Diário Oficial da União, de 29 de abril de 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Diretoria de Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. **Programa Nacional de Vigilância Ambiental em Saúde Relacionado a Substâncias Químicas.** 2009. 34 – 42p

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde e Secretaria de Atenção a Saúde. **Diretrizes Nacionais de Vigilância em Saúde.** Série Pactos pela Saúde. Brasília, 2010.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. **Análise da Situação em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador.** Acesso em 28 de outubro de 2013. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id\\_area=1494](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1494)>, 2013.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria nº 34, de 20 de dezembro de 2001. **Publica protocolo visando determinar os procedimentos para a utilização de indicador biológico de exposição ocupacional ao benzeno.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Disponível em: < <http://portal.mte.gov.br/legislacao/portaria-n-34-de-20-12-2001-1.htm> >. Acesso em: 18 de agosto de 2014.

BRITO, J. C; PORTO, M. F. S. Processo de Trabalho, Riscos e Cargas à Saúde. Rio de Janeiro: **Centro de Estudos em Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana**, Escola Nacional de Saúde pública, Fundação Oswaldo Cruz, 1991.

BUSS, P.M; PELLEGRINI FILHO. A. A saúde e seus determinantes sociais. **Rev. Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, 17(1): 77-93, 2007.

BUKVIC, N et al. Sex chromosome loss, micronuclei, sister chromatid exchange and aging: a study including 16 centenarians. **Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis** 498(1-2): 159-67, 2001.

BUTHBUMRUNG, N., et al. Oxidative DNA damage and influence of genetic polymorphisms among urban and rural schoolchildren exposed to benzene. **Chemico-Biological Interactions**, v. 172, p. 185-194, 2008.

CALVERT, G.M; TALASKA G; MUELLER C.A. Genotoxicity in workers exposed to methyl bromide. **Mutat Res** ; 417:115-128, 1998.

CAMPOS, M.A.M. **Teste cometa: Validação do método e avaliação da exposição ocupacional ao benzeno presente na gasolina através dos biomarcadores de exposição e genotoxicidade**. 2013. (Dissertação em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2013. Disponível em: <[http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/EMCO-97NHNL/maria\\_agusta.pdf?sequence=1](http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/EMCO-97NHNL/maria_agusta.pdf?sequence=1)> Acesso em 02/01/2016.

CARBONELL, E. et al. Cytogenetic biomonitoring in a Spanish group of agricultural workers exposed to pesticides. **Mutagenesis** 8: 511-17, 1993.

CARTER, S.B. Effects of cytochalasin on mammalian cells. **Nature**, n. 213, p. 261-264, 1967.

CASTRO, H.A.; GOUVEIA, N.; ESCAMILLA-CEJUDO, J.A. Questões metodológicas para a investigação dos efeitos da poluição do ar na saúde. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. v.6, n.2, p. 135-149, 2003.

CATALAN, J. et al. Age-dependent inclusion of sex chromosomes in lymphocyte micronuclei of man. **American Journal of Human Genetics** 63(5): 1464-72, 1998.

CERQUEIRA et al.. Exposição Ocupacional a Gasolina: Um estudo transversal. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 6, n. 1, p. 05-14, fev. 2013.

CERQUEIRA GS, et al. Exposição ocupacional de trabalhadores de postos de combustíveis do sertão Paraibano. **Rev. Ciência e Saúde** , v,2, n.1, p. 310- 31, 2010.

CHANG, R. **Introdução a Química Orgânica**. Química Geral. 11 ed. Cap. 11 p. 374, 2007.

CHANVAIVIT, S., et al. Exposure assessment of benzene in Thai workers, DNA-repair capacity and influence of genetic polymorphisms. **Mutation Research**, v. 626, p. 79–87, 2007.

CHEN D, et. al. Exposure to benzene, occupational stress, and reduced birth weight. **Occup Environ Med.** Out; 57(10):661-7, 2000.

COOPER, K.R.; SNYDER, R. **Benzene metabolism.** In: AKSOY, M. Benzene carcinogenicity. Miami: CRC Press, 1988. p. 33-58.

CORREA, M.J.M. **A Construção Social do Silêncio Epidemiológico do Benzenismo: Uma História Negada.** Dissertação (Mestrado em Serviço Social). Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2008.

COSTA, M.F.B. **Estudo da aplicabilidade do ácido trans trans mucônico urinário como indicador biológico de exposição ao benzeno.** (Tese de Doutorado em Saúde Pública) Rio de Janeiro. Escola Nacional de Saúde Pública. 2001.

COSTA, D. F. **Prevenção da exposição ao benzeno no Brasil.** 2009. 184 f. (Tese Doutorado em Ciências) – 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: 01/08/2014.

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. 5, n. 23, p. 653-663, 2000.

D'ALASCIO.; et al. Sintomas relacionados à exposição ocupacional ao benzeno e hábitos ocupacionais em trabalhadores de postos de revenda de combustíveis a varejo na região sul de Santa Catarina. **Rev Bras Med Trab.**;12(1):21-9 2013

DOUGHERTY, D., et al. NQO1, MPO, CYP2E1, GSTT1 and GSTM1 polymorphisms and biological effects of benzene exposure – a literature review. **Toxicol Lett.** 2008;182(1-3):7-17.

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.529-534, 1990.

DUCOS, P.; GAUDIN, R.; BEL, J.; ROBERT, A.; FRANCIN, J.M. MAIRE, C.; WILD, P.; **Int. Arch. Occup. Environ. Health.** 1992, 64, 309.

EASTMOND, D.A.; TUCKER, J.D. Identification of aneuploidy-inducing agents using cytokinesis-blocked human lymphocytes and an antikinetochore antibody. **Environ Mol Mutagen.** ;13(1):34-43, 1989.

EINING, T.; DEHNEN, W. Sensitive Determination of the Benzene Metabolite S-Phenylmercapturic Acid in Urine by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. **Journal of Chromatography A**, 697:371-375, 1995.

FARMER, P.B; EMENY, J.M. Biomarkers of carcinogen exposure and early effects **Lodz. Nofer Institute of Occupational Medicine**, 2006.

FENECH, M. The cytokinesis-block micronucleus technique and its application to genotoxicity studies in human populations. **Environ Health Perspect.** Oct; 101(Suppl 3): 101-107. 1993.

FENECH, M. The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleus method. **Mutat. Res.** 392:11-18, 1997.

FENECH, M. Important variables that influence base-line micronucleus frequency in cytokinesis-blocked lymphocytes - a biomarker for DNA damage in human populations. **Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis** 404(1-2): 155-65, 1998.

FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research**, v. 455, 0. 81-95, 2000.

FENECH, M.; FERGUSON, L.R. Vitamins/minerals and genomic stability in humans. **Mutat Res**, n. 475, p. 1-6, 2001.

FENECH, M, CROTT, J.W. Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes-evidence for breakage-fusion-bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay. **Mutat Res.** Jul 25;504(1-2):131-6, 2002.

FENECH, M. Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a "cytome" assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. **Mutat. Res.** 2006.

FENECH, M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. **Nature.**;2:1084-104, 2007.

FENECH, M.; et al. Molecular mechanisms, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. **Mutagenesis.**; 26(1): 125-32, 2011.

FERNANDES, M.; et al. Atmospheric BTX and polyaromatic hydrocarbons in Rio de Janeiro, Brazil. **Chemosphere**. v. 47, p 417-425, 2002.

FERREIRA, M.C.; FREIE, O.N.. Carga de Trabalho e Rotatividade na Função de Frentista Frentista. **RAC**, v. 5, n. 2, Maio/Ago. 2000.

FUNDACENTRO (Fundação Jorde Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do Trabalho) Ministério do Trabalho e Emprego. **Efeitos da exposição ao benzeno para a saúde**. Série Benzeno. Fascículo 1. São Paulo, 2012.

GARCIA-SAGREDO, J.M. Fifty years of cytogenetics a parallel view of the evolution of cytogenetics and genotoxicology. **Biochem. Biophys. Acta**, v.1779, p.363-375, 2008.

GAUTHIER, J.M.; et al. Biomarkers of DNA damage in marine mammals. **Mutat Res**, n. 444, p. 427-439, 1999.

GHITTORI, S. et al. Evaluation of Occupational Exposure to Benzene Urinalysis. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, 67:195-200, 1995.

GOMES-ARROYO, S. et al. Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. **Mutation Research** 466: 117- 24, 2000.

GREDEL, G.L. TEIXEIRA, M. L. Avaliação de ácido hipúrico como biomarcador de exposição ocupacional em trabalhadores de postos de combustíveis. **Rev Saúde Pesquisa**. Set-Dez; 2(3):319-24, 2009.

GRIFFITHS, A.J.F.; et al. Mutação Gênica in: **Introdução à Genética**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap 7, p. 169-196, 6ed, 1998.

HANKE, J.; DUTKIEWICZ, T.; PIOTROWSKI, J. The absorption of benzene through human skin. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, Philadelphia, v. 6, n. 2, p. 104-111, Apr./Jun. 2000

HEDDLE, J.A. A rapid *in vivo* test for chromosome damage. **Mutation Research** 18: 187-90.1973.

HOET, P. **General Principles**. In: WHO (org.) Occupational Health for all: Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace: (pp.1-19). Geneva: WHO,1996.

HOLGATE, S.T et al. Health Effects of Acute Exposure to Air Pollution Part I: Healthy and Asthmatic Subjects Exposed to Diesel Exhaust. Boston: HEI - **Health Effects Intitute, Report 112**, 2002.

IARC. International Agency for Research on Cancer. **Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk to humans**. Overall Evaluations of Carcinogenicity: an Updating of IARC. Monographs Volumes 1 to 42. Lyon, France, 1987.

IARMARCOVALI, G. et al. Genetic polymorphisms and micronucleus formation: a review of the literature. **Mutat. Res.** 658 215–233. 2008

INOUE, O. et al. Urinary t,t-muconic acid as an indicator of exposure to benzene. **British Journal of Industrial Medicine**, v. 46, p. 122-127, 1989. Apud, COSTA, M. F. B. Estudo da Aplicabilidade do ácido trans,trans-mucônico urinário como Indicador Biológico de Exposição ao Benzeno. Tese (Doutorado), Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro, 2001.

JAVELAUD, et al. Benzene Exposure in Car Mechanics and Road Tanker Drivers. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, 71:277-283, 1998.

JOHNSON, E. S., LANGARD, S., LIN, Y. A critique of benzene exposure in the general population. **Science of the Total Environment**, v.374, p.183–198, 2007.

KARMNOPOULOU, V.; DRIKOS, G.; DIMITRIOU, P. Dose constraints to the individual annual doses of exposed workers in medical sector. **Eur J Radiol** v. 37, 2001.

KAY, K. 2005. **Frentistas podem escapar dos malefícios ocasionados pelo contato com combustíveis**. <http://ctjovem.mct.gov.br>. Apud, DIB, A.M et al. Avaliação da qualidade do sêmen e do estado de saúde de frentistas de postos de gasolina da cidade de Goiânia. Estudos Goiânia. Goiânia, V. 34. , n.11/12 p. 957-977, nov./dez. 2007.

KIVISTÖ, H.; et al. Biological monitoring of exposure to benzene in the production of benzene and in a cokery. **Sci. Total Environ.**, Amsterdam, v. 199, n.1-2, p. 49-63, 1997.

KLAUNING, J.E., KAMENDULIS, L.M. **Chemical carcinogenesis**. In Klaassen CD, editor. Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons. 7<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill; p.329-79, 2008.

LARSEN, J.C.; LARSEN, P.B. **Chemical Carcinogens**. In R.E. Hester; R.M. Harrison (org.). *Air Pollution and Health*: (pp.33-56). UK: The Royal Society of Chemistry, 1998.

LAUWERYS, R.R.; HOET, P. *Industrial Chemical Exposure—Guidelines for Biological Monitoring*. London, **Lewis Publishers**, 1993.

LEE, B.et.al. Urinary trans, trans-muconic acid determined by liquid chromatography: application in biological monitoring of benzene exposure. **Clin. Chem.**, Wiston-Salem, v.39, n.9, p.1788-1792, 1993.

LINDEBERG, H.K., et al. Origin of nuclear buds and micronuclei in normal and folate-deprived human lymphocytes. **Mutation Research**, 617, 33-45, 2007.

MACHADO, J.M.H. et al., Alternativas e processos de vigilância em saúde do trabalhador relacionados exposição ao benzeno no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, 8(4): 913-921, 2003.

MÁRQUEZ, M. E. F. et al. Detección Del dano genotoxico agudo crónico en umna población de laboratoristas ocupacionalmente expuestos. **Latreia**, v. 18, n. 1, p. 275-282, 2005.

MATEUCA, R.; et al. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. **Biochimie**, v.88, n. 11, p. 1515-1531, 2006

MARTINS, L.G. **Avaliação da influência das emissões da indústria siderúrgica na exposição não ocupacional ao benzeno**. 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Ouro Preto - 2009.

MEDEIROS, A.M.; Bird, M.G.; Witz, G. Potencial Biomarkers of Benzene Exposure. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, 51:519-539. 1997.

MENDES, R; DIAS, EC. Da medicina do trabalho à saúde do trabalhador. **Rev. Saúde Pública**, 25(5): 341-9, 1991.

MORO; et al. Genotoxicity and oxidative stress in gasoline saturation attendants. **Mutation Research** 754: 63-70, 2013.

MS. Ministério da Saúde. **Risco Químico: atenção à Saúde dos trabalhadores expostos ao benzeno**. Série A Normas e Manuais Técnicos. Ed. do Ministério da Saúde, Brasília, DF, 2006.

MS. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Diretrizes para a vigilância do câncer relacionado ao trabalho**. Coordenação Geral de Prevenção e Vigilância. 2 ed. Rio de Janeiro, 2013.

NORPPA, H. Cytogenetic biomarkers and genetic polymorphisms. **Toxicology Letters**, v. 149, p. 309-334, 2004.

OECD - GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS. DRAFT PROPOSAL FOR A NEW GUIDELINE 487: **In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test**. 2014. Disponível em: < <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9714561e.pdf?expires=1458641297&id=id&accname=guest&checksum=107711EC44BD74AEE6CB6CABB1BDE1A6> > Acesso em: 15 de março de 2016.

ONG, C. N, et al. Evaluation of biomarkers for occupational exposure to benzene. **Occup. Environ. Med.**, London, v. 52, n.8, p.528-533, 1995.

OSHA. **Medical surveillance guidelines for Benzene**. Disponível em: <[http://www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show\\_document?p\\_id=10045&p\\_table=STANDARDS](http://www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show_document?p_id=10045&p_table=STANDARDS)>. Acesso em: 19 de agosto de 2014.

PALAZZO, R.P.; MALUF, S.W. Técnica de micronúcleos com bloqueio da citocinese celular. In MALUF, S.W.; RIEGEL.M et al. **Citogenética Humana**. Ed Artmed. Cap.17. 2011.

PAULA, S. C. F.; SILVEIRA, J. N.; ALVAREZ-LEITE, E. M. Validação do método de Ducos modificado para a determinação do ácido *trans,trans*-mucônico urinário; **Rev. Bras. Cienc. Farm.** 39,63, 2003.

PEREIRA, L. C. et al. Cytotoxicity and genotoxicity of low doses of mercury chloride and methylmercury chloride on human lymphocytes in vitro. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 38: 901-907, 2005.

PÉREZ, R. P et al. Genotoxic and cytotoxic studies of beta-sitosterol and pteropodine in mouse. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, 242-247, 2005.



PERIAGO, J. F.; ZAMBUDIO, A.; PRADO, C.; J. Evaluation of environmental levels of aromatic hydrocarbons in gasoline service stations by gas chromatography. **J. Chromatographia.**, A 1997, 778, 263.

PEZZAGNO, G. In *Il Benzene – Tossicologia, Ambienti di Vita e di Lavoro*; Minoia et al., Eds.; Morgan Edizioni Tecniche; Milano; p 125, 1995.

POPP, W. et al. Concentrations of Benzene in Blood and S-Phenylmercapturic and t,t-Muconic Acid in Urine in Car Mechanics. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, 66:1-6, 1994.

PORTELA, C. H. et al. **Proteção e qualidade de vida para trabalhadores frentistas de postos de combustíveis no município de Satarém, PA**. Rev. Digital. Buenos Aires, Año 16, Septiembre de 2011. Disponível em: <<http://www.efdeportes.com/efd160/trabalhadores-frentistas-de-postos-de-combustiveis.htm>>. Acesso em: 19.06.2014.

RAMADAN, M. M. et al. Chronic exposure to gasoline: evaluation of immunological and genotoxic effects among filling station workers. **Mansoura Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology**, 8 (2):85-98, 2000.

RAMIREZ, A.; SALDANHA, P. Micronucleus investigation of alcoholic patients with oral carcinoma, **Genetics and Molecular Research**, 246 – 260, 2002.

RIEGER, R.M.A.; GREEN, M. M. **A Glossary of Genetics and Cytogenetics**. London: Allen and Unwin, P. 507, 1968 .

RIBEIRO, L; MARQUES, E. K. **A importância da mutagênese ambiental na carcinogênese humana**. E.K.. In: RIBEIRO, L.; SALVADORI, D.M.; MARQUES, E.K.. *Mutagênese Ambiental*. Canoas: ULBRA, 2003. Cap 1.

RIBEIRO, L.; SALVADORI, D.M.; FENECH, M. **Teste do micronúcleo em células in vitro**. In: RIBEIRO, L.; SALVADORI, D.M.; MARQUES, E.K.. *Mutagênese Ambiental*. Canoas: ULBRA, 2003. Cap 7.

ROCHA, L.P. et al. Utilização de equipamentos de proteção individual por frentistas de postos de combustíveis: contribuição da enfermagem. **Enferm.** vol.23 no.1 Florianópolis Jan./Mar. 2014

ROSS, D. The role of metabolism and specific metabolites in benzene-induced toxicity: evidence and issues. **J Toxicol Environ Health**. 2000;61(5-6):357-72. Apud. BARATA

SILVA Benzeno: reflexos sobre a saúde pública, presença ambiental e indicadores biológicos utilizados para a determinação da exposição. *Cad. Saúde Colet.*, Rio de Janeiro, 22 (4): 329-42, 2014.

RUIZ, M. A. O problema de leucopenia em Cubatão. **Bol. Soc. Bras. Hematol. Hemat.**, 7: 171-2, 1985.

RUIZ, M. A et al. Correlação de estudo citológico e histológico de medula óssea em pacientes neutropênicos oriundos de uma indústria siderúrgica de Cubatão, SP. **Bol. Soc. Bras. Hematol. Hemat.**, 10: 84, 1988.

RUIZ, M. A.; VASSALLO, J.; SOUZA, C. A. Morphologic study of the bone marrow of neutropenic patients exposed to benzene of metallurgical industry of Cubatão, S.Paulo, Brasil. **J. Occup. Med.**, 33: 83,1991.

RUIZ, et.al. Hematologic changes in patients chronically exposed to benzene. **Rev Saude Publica.** 27(2):145-51, 1993.

SALAZAR, A.M, SORDO, M, OSTROSKY-WEGMAN P. Relationship between micronuclei formation and p53 induction. **Mutat Res.**;67(2):124-8, 2009.

SCHERER, G.; RENNER, T.; MEGER, N. Analysis and evaluation of trans-trans-muconic acid as a biomarker for benzene exposure. **J. Chromatogr. B**, v.717, p.179-199, 1998.

SCHIMID, W. The micronucleus test. **Mutation Research.**; 31: 9-15, 1975.

SHIMIZU, N; ITOH, N.; UTIYAMA, H.; WAHL, G. M. Selective entrapment of extrachromosomally amplified DNA by nuclear budding and micronucleation during S phase. **The Journal of Cell Biology**, v. 140, p. 1307-1320, 1998.

SILVA, E.F. **Gestão Ambiental dos Postos Revendedores de Combustíveis no Estado do Rio de Janeiro: Uma avaliação crítica na visão ocupacional e ambiental da presença do benzeno na gasolina automotiva.** 2004. 97 f. Dissertação (Mestrado em Gestão Ambiental) – Universidade Federal Fluminense. Rio de Janeiro, 2004.

SMITH, M.T., et al. Benzene, the exposome and future investigations of leukemia etiology. **Chemico-Biological Interactions.** p. 155–159, 2011.

SNYDER, R., KOCSIS, J.J. Current concepts of chronic benzene toxicity. **CRC Crit. Rev. Toxicol.** 3:265-288, 1975.

SNYDER, R., HEDLI, C.C., An Overview of Benzene Metabolism. **Environmental Health Perspectives**, v.104, n.6, p.1165-1171, 1996.

SWAPAN, S; PRANAB, D. Micronucleus and Its applications. **Diagnostic Cytopathology**, v. 40, n 1, p. 84-90, 2010.

VAN SITTERT, N. J.; BOOGAARD, P. J.; BEULINK, G. D.; Application of the urinary S-phenylmercapturic acid test as a biomarker for low levels of exposure to benzene in industry, **Br. J. Ind. Med.** 50, 460, 1993.

USEPA, United States Environmental Protection Agency. **Toxicological Review of Benzene**, v.EPA/635/R-02/001F, Washington, DC, 2002.

WAKAMATSU C. T. **Contribuição ao estudo da exposição profissional ao benzeno em trabalhadores de indústria de calçados** - São Paulo. São Paulo, 1976. (Dissertação de Mestrado) - Faculdade de Saúde Pública da USP, 1976.

WHO, World Health Organization. **Constitution of the World Health Organization**. Basic Documents. WHO. Geneva. 1946.

WHO, World Health Organization. **Environmental health criteria 150**. Geneva, Ed. WHO, 1993. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc150.htm>> Acesso em 19 de agosto de 2014.

WHO, 1996. World Health Organization. 1996. **Occupational Health for all Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace**. v. 2. Geneva, WHO.

ZHANG, Z.; et al. **Free Radical Biol. Med.** 1995, 18, 411.

## **ANEXO A – CARTA DE APRESENTAÇÃO AO RESPONSÁVEL DO POSTO DE COMBUSTÍVEL**

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA)  
COORDENAÇÃO GERAL DE PREVENÇÃO E VIGILÂNCIA  
UNIDADE TÉCNICA DE EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL, AMBIENTAL E CÂNCER

### **CARTA DE APRESENTAÇÃO AO RESPONSÁVEL DO POSTO DE COMBUSTÍVEL**

TÍTULO: "MONITORAMENTO BIOLÓGICO E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS MUTAGÊNICOS E IMUNOTÓXICOS DO BENZENO NA SAÚDE DOS TRABALHADORES DOS POSTOS DE COMBUSTÍVEIS DO RIO DE JANEIRO"

Prezado Sr,

O Posto de Combustível que o senhor é responsável (gerente ou proprietário) foi selecionado para fazer parte de um projeto que busca identificar os efeitos à saúde de trabalhadores expostos a combustíveis. Este projeto não fiscalizará seu estabelecimento e as informações coletadas serão mantidas em sigilo. O objetivo desse projeto é caracterizar os riscos relacionados à exposição ocupacional ao benzeno entre trabalhadores de postos de combustíveis do município do Rio de Janeiro. No entanto, para que você possa decidir se o Posto que é responsável (gerente ou proprietário) participará ou não deste estudo, precisa conhecer um pouco mais sobre este projeto.

#### **OBJETIVOS DO ESTUDO**

O objetivo do presente projeto é caracterizar os riscos relacionados à exposição ocupacional ao benzeno entre trabalhadores de postos de gasolina do município do Rio de Janeiro.

#### **PROCEDIMENTOS DO ESTUDO**

##### **Em relação aos trabalhadores e rotina do Posto de Combustível**

Uma vez que o senhor concorde que o Posto de Combustível pelo qual é responsável participe desse estudo é importante saber que:

Haverá necessidade que os funcionários realizem entrevista, exame clínico, coleta de sangue e urina. Será organizada, juntamente com o responsável pelo Posto de Combustível, uma agenda para que haja revezamento dos trabalhadores de forma que não atrapalhe as atividades do posto

##### **Com relação aos exames laboratoriais:**

Serão feitas coletas de sangue e urina destinadas a realização de:

- ❖ Hemograma completo e bioquímica
- ❖ Análise genética e Imunofenotipagem
- ❖ Avaliação dos indicadores de exposição na urina através da análise dos níveis de ácido trans-trans-mucônico.

#### **Com relação aos exames clínicos:**

Esses exames só serão realizados com o aceite do funcionário constante no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido devidamente assinado. O exame clínico será realizado por um profissional de saúde capacitado que aplicará um questionário com perguntas sobre histórico de saúde, estilo de vida e histórico de saúde familiar.

#### **CUSTOS**

A participação nesse estudo será voluntária e não haverá qualquer forma de pagamento ao voluntário pela sua participação.

#### **BASES DA PARTICIPAÇÃO**

É importante que saiba que você pode se recusar a participar desse estudo sem penalidades ou perda de benefícios aos quais você tem direito.

#### **GARANTIA DE ESCLARECIMENTOS**

Nós estimulamos você a fazer perguntas a qualquer momento do estudo. Neste caso, por favor, ligue para a Dra Ubirani Barros Otero ou para a Dra Marcia Sarpa de Campos Mello da Unidade Técnica de Exposição Ocupacional, Ambiental e Câncer, Coordenação Geral de Prevenção e Vigilância do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva/MS, nos telefones (21) 3207-5967 ou 3207-5969 e/ou para a Dra Karen Friedrich do Departamento de Farmacologia e Toxicologia do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz, nos telefones (21) 3865-5157 ou 3865-5235. Se você tiver perguntas com relação a seus direitos como participante do estudo, também pode contar com o Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa Dr. Carlos Henrique Debenedito Silva - Rua do Resende, nº 128 no telefone (021) 3207-4450 ou 3207-4556.

<u>DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO E ASSINATURA</u>
---

Li as informações acima e entendi o propósito deste estudo assim como a necessidade de liberação de funcionários para as entrevistas e exames clínicos/laboratoriais. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, como representante do Posto de Combustível \_\_\_\_\_, dou livremente meu consentimento para participar neste estudo.

Entendo que não receberei compensação monetária por minha participação neste estudo.

Eu recebi uma cópia assinada deste formulário de consentimento.

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
 (Assinatura do Participante)                      dia    mês    ano

\_\_\_\_\_  
 (Nome do Participante – letra de forma )

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
 (Assinatura de Testemunha, se necessário)                      dia    mês    ano

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste estudo ao responsável pelo Posto de Combustível indicado acima.

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
 (Assinatura da pessoa que obteve o consentimento)                      dia    mês    ano

## **ANEXO B – TCLE TRABALHADORES DE POSTOS DE COMBUSTÍVEIS**

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA)  
COORDENAÇÃO GERAL DE PREVENÇÃO E VIGILÂNCIA  
UNIDADE TÉCNICA DE EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL, AMBIENTAL E CÂNCER

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DOS TRABALHADORES DE POSTOS DE COMBUSTÍVEIS**

PROJETO DE PESQUISA: "MONITORAMENTO BIOLÓGICO E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS MUTAGÊNICOS E IMUNOTÓXICOS DO BENZENO NA SAÚDE DOS TRABALHADORES DOS POSTOS DE COMBUSTÍVEIS DO RIO DE JANEIRO"

#### **Nome do Voluntário:**

---

Você está sendo convidado a participar de um projeto que busca identificar os efeitos da exposição ao benzeno em trabalhadores de postos de combustíveis. O Projeto visa implementar medidas de prevenção de doenças relacionadas a exposição ocupacional a substâncias químicas. No entanto, para que você possa decidir se quer participar ou não deste estudo, precisa conhecer seus benefícios, riscos e implicações.

#### **OBJETIVO DO ESTUDO**

O objetivo do presente projeto é caracterizar os riscos relacionados à exposição ocupacional ao benzeno entre trabalhadores de postos de combustíveis do município do Rio de Janeiro.

#### **PROCEDIMENTOS DO ESTUDO**

O sr(a) foi escolhido(a) para participar deste projeto por trabalhar em uma atividade que o exponha a produtos derivados da gasolina. Se o(a) sr(a) concordar em participar deste estudo serão aplicados 2 questionários por entrevistadores treinados. As perguntas abrangem suas condições sócio-demográficas e seu histórico de saúde.

Se o senhor concordar em participar do estudo, responderá a algumas perguntas; fará exame clínico e doará em torno de 10ml de sangue e 5ml urina para realização das seguintes análises:

- ❖ Hemograma completo e bioquímica
- ❖ Análise genética e Imunofenotipagem
- ❖ Avaliação dos indicadores de exposição na urina através da análise dos níveis de ácido trans-trans-mucônico.

Essas análises são importantes, pois permitirão avaliar os níveis de exposição ao benzeno e os efeitos das substâncias presentes nos combustíveis sobre as suas células e a sua saúde.

### **TODOS OS RESULTADOS SERÃO MANTIDOS EM SIGILO E DEVOLVIDOS APENAS A VOCÊ.**

O exame clínico será realizado por um profissional de saúde capacitado que aplicará um questionário com perguntas sobre seu histórico de saúde, estilo de vida e seu histórico de saúde familiar.

### **MÉTODOS ALTERNATIVOS**

Não haverá outro método alternativo de coleta de informações.

### **RISCOS**

Você não estará correndo nenhum risco por participar deste estudo. O responsável pelo posto de combustível também assinou um termo de consentimento que autoriza esse Projeto e vai facilitar sua participação no horário de trabalho. Cabe destacar que **apenas você** vai receber os resultados dos exames clínicos e laboratoriais.

### **BENEFÍCIOS**

Estudo semelhante a esse está ocorrendo em todo o país e sua proposta é avaliar as condições de saúde dos funcionários dos postos de combustíveis. O acompanhamento será individual e caso necessário você será encaminhado para o serviço de saúde de referência.

Os resultados desse estudo serão úteis para que sejam adotadas medidas de redução e controle da exposição a agentes tóxicos presentes nos combustíveis em todo país.

### **ACOMPANHAMENTO, ASSISTÊNCIA E RESPONSÁVEIS**

Estão previstos 3 encontros. No primeiro, os questionários sócio demográfico e clínico serão aplicados por entrevistadores, no segundo encontro serão coletadas as amostras de sangue e urina e no terceiro o resultado do seu exame será entregue. Caso seja identificado



algum problema, você será encaminhado(a) para atendimento em um serviço de saúde do SUS para melhor avaliação.

Os profissionais que atuam nesse projeto pertencem a Unidade Técnica de Exposição Ocupacional, Ambiental e Câncer, Coordenação Geral de Prevenção e Vigilância do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva - INCA / MS e ao Departamento de Farmacologia e Toxicologia do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz.

## **CARÁTER CONFIDENCIAL DOS REGISTROS**

Além da equipe da pesquisa, seus dados poderão ser consultados pelo Comitê de Ética do Hospital do Câncer I –INCA. No entanto, os seus dados individuais serão mantidos em sigilo e os resultados serão divulgados em forma de relatórios estatísticos.

## **TRATAMENTO MÉDICO EM CASO DE DANOS**

A sua participação neste estudo não implica em danos à sua saúde. No caso de detecção de problema de saúde, você será encaminhado (a) para atendimento no Sistema Único de Saúde no município do Rio de Janeiro.

## **CUSTOS**

A participação neste estudo será voluntária e não haverá qualquer forma de pagamento ao voluntário pela sua participação.

## **BASES DA PARTICIPAÇÃO**

É importante que você saiba que pode se recusar a participar deste estudo sem penalidades ou perda de benefícios aos quais você tem direito.

## **GARANTIA DE ESCLARECIMENTOS**

Nós estimulamos você a fazer perguntas a qualquer momento do estudo. Neste caso, por favor, ligue para a Dra Ubirani Barros Otero ou para a Dra Marcia Sarpa de Campos Mello da Unidade Técnica de Exposição Ocupacional, Ambiental e Câncer, Coordenação Geral de Prevenção e Vigilância do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva/MS, nos telefones (21) 3207-5967 ou 3207-5969 ou para a Dra Karen Friedrich do Departamento de Farmacologia e Toxicologia do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz, nos telefones (21) 3865-5157 ou 3865-5235. Se você tiver perguntas com relação a seus direitos como participante do estudo, também pode contar com o Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa Dr Carlos Henrique Debenedito Silva - Rua do Resende, nº128 no telefone (021) 3207-4450 ou 3207-4556.

## DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO E ASSINATURA

Li as informações acima e entendi o propósito deste estudo assim como os benefícios e riscos potenciais da participação no mesmo. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, por intermédio deste, dou livremente meu consentimento para participar neste estudo.

Entendo que não receberei compensação monetária por minha participação neste estudo.

Eu recebi uma cópia assinada deste formulário de consentimento.

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
(Assinatura do Participante)      dia   mês   ano

\_\_\_\_\_  
(Nome do Participante – letra de forma)

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
(Assinatura de Testemunha, se necessário)      dia   mês   ano

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste estudo ao voluntário indicado acima.

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
(Assinatura da pessoa que obteve o consentimento)      dia   mês   ano

## **ANEXO C – TCLE VOLUNTÁRIO NÃO EXPOSTO OCUPACIONALMENTE A GASOLINA**

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA)  
COORDENAÇÃO GERAL DE PREVENÇÃO E VIGILÂNCIA  
UNIDADE TÉCNICA DE EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL, AMBIENTAL E CÂNCER

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA VOLUNTÁRIO NÃO EXPOSTO OCUPACIONALMENTE A GASOLINA**

PROJETO DE PESQUISA: "MONITORAMENTO BIOLÓGICO E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS MUTAGÊNICOS E IMUNOTÓXICOS DO BENZENO NA SAÚDE DOS TRABALHADORES DOS POSTOS DE COMBUSTÍVEIS DO RIO DE JANEIRO"

#### **Nome do Voluntário:**

---

Você está sendo convidado a participar de um projeto que busca identificar os efeitos da exposição ao benzeno em trabalhadores de postos de combustíveis. O Projeto visa implementar medidas de prevenção de doenças relacionadas a exposição ocupacional a substâncias químicas. No entanto, para que você possa decidir se quer participar ou não deste estudo, precisa conhecer seus benefícios, riscos e implicações.

#### **OBJETIVO DO ESTUDO**

O objetivo do presente projeto é caracterizar os riscos relacionados à exposição ocupacional ao benzeno entre trabalhadores de postos de gasolina do município do Rio de Janeiro.

#### **PROCEDIMENTOS DA PESQUISA:**

O sr(a) foi escolhido(a) para participar deste projeto por **não exercer** nenhuma atividade ocupacional que o exponha a produtos derivados da gasolina. Se o(a) sr(a) concordar em participar deste estudo serão aplicados 2 questionários por entrevistadores treinados. As perguntas abrangem suas condições sócio-demográficas e seu histórico de saúde.

Se o senhor concordar em participar do estudo, responderá a algumas perguntas; fará exame clínico e doará em torno de 10ml de sangue e 5ml urina para realização das seguintes análises:

- ❖ Hemograma completo e bioquímica
- ❖ Análise genética e Imunofenotipagem

- ❖ Avaliação dos indicadores de exposição na urina através da análise dos níveis de ácido trans-trans-mucônico.

Essas análises são importantes, pois permitirão avaliar os níveis de exposição ao benzeno e os efeitos das substâncias presentes nos combustíveis sobre as suas células e a sua saúde.

### **TODOS OS RESULTADOS SERÃO MANTIDOS EM SIGILO E DEVOLVIDOS APENAS A VOCÊ.**

O exame clínico será realizado por um profissional de saúde capacitado que aplicará um questionário com perguntas sobre seu histórico de saúde, estilo de vida e seu histórico de saúde familiar.

### **MÉTODOS ALTERNATIVOS**

Não haverá outro método alternativo de coleta de informações.

### **RISCOS**

Não existe risco associado com a participação neste estudo. Cabe destacar que apenas você vai receber os resultados dos exames clínicos e laboratoriais.

### **ACOMPANHAMENTO, ASSISTÊNCIA E RESPONSÁVEIS**

Estão previstos 3 encontros. No primeiro, os questionários sócio demográfico e clínico serão aplicados por entrevistadores, no segundo encontro serão coletadas as amostras de sangue e urina e no terceiro o resultado do seu exame será entregue.

Os profissionais que atuam nesse projeto pertencem a Unidade Técnica de Exposição Ocupacional, Ambiental e Câncer, Coordenação Geral de Prevenção e Vigilância do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva - INCA / MS e ao Departamento de Farmacologia e Toxicologia do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz.

### **CARÁTER CONFIDENCIAL DOS REGISTROS**

Além da equipe da pesquisa, seus dados poderão ser consultados pelo Comitê de Ética do Hospital do Câncer I –INCA. No entanto, os seus dados individuais serão mantidos em sigilo e os resultados serão divulgados em forma de relatórios estatísticos.

## **CUSTOS**

A participação neste estudo será voluntária e não haverá qualquer forma de pagamento ao voluntário pela sua participação.

## **BASES DA PARTICIPAÇÃO**

É importante que você saiba que pode se recusar a participar deste estudo sem penalidades ou perda de benefícios aos quais você tem direito.

## **GARANTIA DE ESCLARECIMENTOS**

Nós estimulamos você a fazer perguntas a qualquer momento do estudo. Neste caso, por favor, ligue para a Dra Ubirani Barros Otero ou para a Dra Marcia Sarpa de Campos Mello da Unidade Técnica de Exposição Ocupacional, Ambiental e Câncer, Coordenação Geral de Prevenção e Vigilância do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva/MS, nos telefones (21) 3207-5967 ou 3207-5969 ou para a Dra Karen Friedrich do Departamento de Farmacologia e Toxicologia do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz, nos telefones (21) 3865-5157 ou 3865-5235. Se você tiver perguntas com relação a seus direitos como participante do estudo, também pode contar com o Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa Dr Carlos Henrique Debenedito Silva - Rua do Resende, nº 128 no telefone (021) 3207-4450 ou 3207-4556.

## DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO E ASSINATURA

Li as informações acima e entendi o propósito deste estudo assim como os benefícios e riscos potenciais da participação no mesmo. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, por intermédio deste, dou livremente meu consentimento para participar neste estudo.

Entendo que não receberei compensação monetária por minha participação neste estudo.

Eu recebi uma cópia assinada deste formulário de consentimento.

\_\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_  
(Assinatura do Participante)                      dia    mês    ano

\_\_\_\_\_  
(Nome do Participante – letra de forma)

\_\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_  
(Assinatura de Testemunha, se necessário)                      dia    mês    ano

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste estudo ao voluntário indicado acima.

\_\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_  
(Assinatura da pessoa que obteve o consentimento)                      dia    mês    ano







Módulo 2: Informações sobre Exposição Ocupacional

**(16) Qual sua situação atual no mercado de trabalho?**

- 1-  Empregado registrado CLT/ carteira assinada      5-  Cooperativado      9-  NS/NR  
 2-  Empregado não registrado                              6-  Aposentado  
 3-  Autônomo / conta própria                                7-  Empregador  
 4-  Trabalho temporário                                      8-  Outros: \_\_\_\_\_

**(17) Você é sindicalizado?      1-  Sim   0-  Não   9-  NS/NR**

**(17a) Se sim, qual o sindicato?** \_\_\_\_\_

**(18) Com que idade começou a trabalhar em postos de combustíveis? \_\_\_\_\_ anos   9-  NS/NR**

**(19) Antes de trabalhar neste posto de abastecimento, quais trabalhos que o sr (a) permaneceu por mais tempo?**

ONDE (local / estabelecimento)? (CNAE)	O QUE FAZIA(nessa ocupação)? (CBO)	POR QUANTO TEMPO?	
		Nº.	Meses/Ano

**(20) Qual sua ocupação atual?**

- 1-  Frentista  
 2-  Gerente / Encarregado de pista  
 3-  Lubrificador  
 4-  Lavador de carro  
 5-  Loja de conveniência  
 6-  Segurança  
 7-  Escritório  
 8-  Outros: \_\_\_\_\_  
 9-  NS/NR

**(21) Qual ou quais atividade(s) que o sr (a) desempenha nessa ocupação?**

- A- Abastece 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR
- B- Caixa 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR
- C- Calibra pneus 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR
- D- Lava carros /vidros 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR
- E- Verifica água 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR
- F- Verifica / troca óleo 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR
- G- Realiza leitura dos tanques dos subsolo do posto 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR
- H- Recebe combustível 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR
- I- Coleta amostras do caminhão tanque 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR
- J- Outros : \_\_\_\_\_

**(22) Há quanto tempo o sr (a)trabalha nesta ocupação?** \_\_\_\_\_  9-  
NS/NR

**(23) Qual seu horário de trabalho predominante?**

1- |\_\_|\_\_| ás |\_\_|\_\_|  9-NS/NR

**(24) O sr(a) tem folga?**

- 0-  1x /semana
- 1-  2x / semana
- 2-  3x ou mais por semana
- 3-  Não
- 9-  NS/NR

**(25) Quais desses procedimentos o sr (a) realiza durante o seu trabalho? ENTREVISTADOR LEIA TODAS AS OPÇÕES**

- A-** Uso do paninho / flanela 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- B-** Aproxima o rosto quando abastece até a boca 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- C-** Cheira a tampa do carro antes de abastecer 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- D-** Confia no bico automático 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- E-** Aspira combustíveis com a mangueira 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- F-** Roupa molhada de combustível 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- G-** Lava carros 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- H-** Uso do querosene ou outra substância para dar brilho no carro 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- I-** Outro?  1-Sim Qual: \_\_\_\_\_
- 0- Não 9- NS/NR

**(26) Quais combustíveis o sr(a) abastece? ENTREVISTADOR LEIA TODAS AS OPÇÕES**

- A -** Gasolina Comum 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- B -** Gasolina Aditivada 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- C -** Diesel 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- D -** Etanol 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- E-** GNV 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- F-** Outros: \_\_\_\_\_

**(27) O sr(a) realiza (ou) coleta de amostras do caminhão tanque?**

- 1- Sim, realiza atualmente 2- Não realiza atualmente, mas já realizou
- 0- Nunca fez 9- NS/NR

**(28) Por quanto tempo o sr(a) realiza (ou) coleta das amostras do caminhão tanque?**

Tempo: |\_\_| |\_\_| meses / anos 9- NS/NR

**(29) O sr(a) usa (va) equipamentos diferentes do uniforme durante as coletas do caminhão tanque?**

1-  Sim Quais: \_\_\_\_\_

0-  Não                      9-  NS/NR

**(30) Onde são armazenadas as amostras de combustíveis?**

1-  Escritório

2-  Sala de refeição / refeitório

3-  Loja de conveniência

4-  Banheiro

5-  Sala exclusiva para armazenar combustível

6-  Outro local fora do posto

7-

Outros:Quais: \_\_\_\_\_

9-  NS/NR

**(31) O sr(a) realiza ou já realizou medição dos níveis dos tanques do subsolo?**

1-  Eletrônica

2-  Manual com régua

0-  Não realiza

9-  NS/NR

**(32) Por quanto tempo o sr(a) realiza(ou) este tipo de medição dos níveis dos tanques do subsolo?**

Tempo: |\_\_| |\_\_| MESES / ANOS                      8-  NA                      9-  NS/NR

**(33) O sr(a) usa (ou) algum equipamento de proteção, além do uniforme, durante a medição dos níveis dos tanques do subsolo?**

1-  Sim Quais: \_\_\_\_\_

0-  Não                      9-  NS/NR                      8-  NA

**(34) O sr(a) realiza(ou) limpeza da caixa separadora de água e óleo?**

9.3 **1- SIM - POR QUANTO TEMPO?** |  |  | **MESES / ANOS**

0- Não

9- NS/NR

**9.4**

**(35) O sr(a) realiza (ou) troca de óleo de carro?**

1- Sim – Por quanto tempo? |  |  | meses / anos

9.5 **0- NÃO** **9- NS/NR**

**(36) O sr(a) realiza (ou) aferição da bomba de combustível?**

1- Sim – Por quanto tempo? |  |  | meses / anos

0- Não

9- NS/NR

**(37) Alguns dos eventos a seguir foram sofridos pelo sr(a) nesta função?**

- A- Assaltos 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- B- Atropelamentos 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- C- Incêndio / explosão 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- D- Vazamento de combustível no posto 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- E- Exposição ao combustível (banho/intoxicação) 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- F- Vazamento de gás (GNV) 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- G- Queimadura 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- H- Vazamento de combustível no carro do cliente 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- I- Discussão com cliente 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- J- Assédio (moral / sexual) 1- Sim 0- Não 9- NS/NR
- H- Outro: 1- Sim Quais: \_\_\_\_\_
- 0- Não 9- NS/NR

**(38) Nos últimos 12 meses o sr(a) realizou algum exame de imagem? (raio x, tomografia, ressonância?)**

- 0- Não
- 1- Sim Especifique abaixo o(s) local(is) do corpo, tipo de exame e mês que realizou o último exame
- Cabeça: tipo: \_\_\_\_\_ mês: \_\_\_\_\_
- Tórax: tipo: \_\_\_\_\_ mês: \_\_\_\_\_
- Braço: tipo: \_\_\_\_\_ mês: \_\_\_\_\_
- Perna: tipo: \_\_\_\_\_ mês: \_\_\_\_\_
- Outra parte do corpo: Especifique: \_\_\_\_\_ tipo: \_\_\_\_\_ mês: \_\_\_\_\_
- 9- NS/NR

**(39) O Sr (a) realizou algum tipo de tratamento com radioterapia ou quimioterapia?**

0-  Não

1-  Sim Qual: \_\_\_\_\_

Local do corpo: \_\_\_\_\_

9-  NS/NR

**EXPOSIÇÃO ATUAL:  
POR FAVOR, INFORME TODAS AS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AS  
QUAIS O(A) SR.(A) É EXPOSTO NESTE TRABALHO ATUAL.**

**SUBSTÂNCIAS E PRODUTOS QUÍMICOS**

40- O (a) sr(a) algum tipo de contato (dérmico, olfativo, etc)?	40- Com que frequência o (a) sr(a) tem contato ? <i>Entrevistador: Leia as alternativas</i>
9.6 <u>A. GASOLINA</u> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR	1- <input type="checkbox"/> Diariamente 2- <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> vezes da semana 3- <input type="checkbox"/> Raramente/Nunca 4- <input type="checkbox"/> <b>Não tem contato</b> 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
<b>B. Etanol (Álcool)</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR	1- <input type="checkbox"/> Diariamente 2- <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> vezes da semana 3- <input type="checkbox"/> Raramente/Nunca 4- <input type="checkbox"/> <b>Não tem contato</b> 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
9.7 <u>C. DIESEL</u> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR	1- <input type="checkbox"/> Diariamente 2- <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> vezes da semana 3- <input type="checkbox"/> Raramente/Nunca 4- <input type="checkbox"/> <b>Não tem contato</b> 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
9.8 <u>D. GNV</u> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR	1- <input type="checkbox"/> Diariamente 2- <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> vezes da semana 3- <input type="checkbox"/> Raramente/Nunca 4- <input type="checkbox"/> <b>Não tem contato</b> 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
<b>E. Fumaças de carro, caminhão e motos</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR	1- <input type="checkbox"/> Diariamente 2- <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> vezes da semana 3- <input type="checkbox"/> Raramente/Nunca 4- <input type="checkbox"/> <b>Não tem contato</b> 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
<b>F. Querosene</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR	1- <input type="checkbox"/> Diariamente 2- <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> vezes da semana 3- <input type="checkbox"/> Raramente/Nunca 4- <input type="checkbox"/> <b>Não tem contato</b> 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
<b>G. Óleo lubrificante</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR	1- <input type="checkbox"/> Diariamente 2- <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> vezes da semana 3- <input type="checkbox"/> Raramente/Nunca 4- <input type="checkbox"/> <b>Não tem contato</b> 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
<b>H. Produtos de Limpeza</b> <b>Especificar:</b> _____ 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR	1- <input type="checkbox"/> Diariamente 2- <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> vezes da semana 3- <input type="checkbox"/> Raramente/Nunca 4- <input type="checkbox"/> <b>Não tem contato</b> 9- <input type="checkbox"/> NS/NR



<b>40- O (a) sr(a) algum tipo de contato (dérmico, olfativo, etc)?</b>	<b>40- Com que frequência o (a) sr(a) tem contato ? <i>Entrevistador: Leia as alternativas</i></b>
<p>9.9 <u>I. GRAXA E CERA</u></p> <p>1- <input type="checkbox"/> Sim  0- <input type="checkbox"/> Não  9- <input type="checkbox"/> NS/NR</p>	<p>1- <input type="checkbox"/> Diariamente  2- <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> vezes da semana  3- <input type="checkbox"/> Raramente/Nunca  <b>4- <input type="checkbox"/> Não tem contato</b>  9- <input type="checkbox"/> NS/NR</p>
<p>9.10 <u>J. SOLVENTES, REMOVEDORES, AGUARRÁS, THINNER</u></p> <p>1- <input type="checkbox"/> Sim  0- <input type="checkbox"/> Não  9- <input type="checkbox"/> NS/NR</p>	<p>1- <input type="checkbox"/> Diariamente  2- <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> vezes da semana  3- <input type="checkbox"/> Raramente/Nunca  <b>4- <input type="checkbox"/> Não tem contato</b>  9- <input type="checkbox"/> NS/NR</p>
<p>9.11 <u>L. OUTROS,</u>  <u>ESPECIFICAR: _____</u>  _____</p>	<p>1- <input type="checkbox"/> Diariamente  2- <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> vezes da semana  3- <input type="checkbox"/> Raramente/Nunca  <b>4- <input type="checkbox"/> Não tem contato</b>  9- <input type="checkbox"/> NS/NR</p>
<p>9.12 <u>M. OUTROS,</u>  <u>ESPECIFICAR: _____</u>  _____</p>	<p>1- <input type="checkbox"/> Diariamente  2- <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> vezes da semana  3- <input type="checkbox"/> Raramente/Nunca  <b>4- <input type="checkbox"/> Não tem contato</b>  9- <input type="checkbox"/> NS/NR</p>
<p>9.13 <u>N. OUTROS,</u>  <u>ESPECIFICAR: _____</u>  _____</p>	<p>1- <input type="checkbox"/> Diariamente  2- <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> vezes da semana  3- <input type="checkbox"/> Raramente/Nunca  <b>4- <input type="checkbox"/> Não tem contato</b>  9- <input type="checkbox"/> NS/NR</p>

PERCEPÇÃO DO ENTREVISTADOR:

**A - Confiança nas respostas:**

- Confio totalmente
- Confio Parcialmente
- Não Confio

OBSERVAÇÕES: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## ANEXO E – “QUESTIONÁRIO CLÍNICO”



INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA)  
 COORDENAÇÃO GERAL DE PREVENÇÃO E VIGILÂNCIA  
 UNIDADE TÉCNICA DE EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL, AMBIENTAL E CÂNCER

PROJETO DE PESQUISA: "MONITORAMENTO BIOLÓGICO E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS MUTAGÊNICOS E IMUNOTÓXICOS DO BENZENO NA SAÚDE DOS TRABALHADORES DOS POSTOS DE COMBUSTÍVEIS DO RIO DE JANEIRO"

## QUESTIONÁRIO CLÍNICO

10 Nome do Posto : _____	
11 Nome Completo: _____	
12 Nº do Posto:  _ _ _	Nº Questionário  _ _ _ _
Data da Entrevista: ____/____/____	
<b>12.3 ENTREVISTADOR:</b> _____	

<b>MÓDULO 1: ANAMNESE CLÍNICA</b>	
<b>HISTÓRIA PATOLÓGICA PREGRESSA</b>	
<b>(1) Doenças Cardiovasculares:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(1.1) Qual(is): _____	
<b>(2) Doenças Infeciosas:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(2.1) Qual(is): _____	
<b>(3) Doenças Neurológicas:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(3.1) Qual(is): _____	
<b>(4) Doenças Respiratórias:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(4.1) Qual(is): _____	
<b>(5) Doenças Gastrointestinais:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(5.1) Qual(is): _____	

<b>(6) Doenças Hepáticas:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(6.1) Qual(is):	_____
<b>(7) Doenças Renais:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(7.1) Qual(is):	_____
<b>(8) Doenças Hematológicas:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(8.1) Qual(is):	_____
<b>(9) Doenças Endócrinas:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(9.1) Qual(is):	_____
<b>(10) Doenças Psíquicas:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(10.1) Qual(is):	_____
<b>(11) Doenças Osteoarticulares:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(11.1) Qual(is):	_____
<b>(12) Doenças Uro/ginecológicas:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(12.1) Qual(is):	_____
<b>(13) Doenças Otorrinolaringológicas:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(13.1) Qual(is):	_____
<b>(14) Doenças da Visão:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(14.1) Qual(is):	_____
<b>(15) Doenças da Pele:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(15.1) Qual(is):	_____
<b>(16) Neoplasias:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(16.1) Qual(is):	_____
<b>(17) Internações:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(17.1) Motivo(s):	_____
<b>(18) Cirurgias:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(18.1) Motivo(s):	_____
<b>(19) Transfusão de sangue ou derivados:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(19.1) Motivo(s):	_____

<b>História Patológica Atual</b>	
<b>(20) Diagnóstico de Hipertensão Arterial:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/>
NS/NR	
(20.1) Faz uso de remédios para controle da pressão arterial?	
1- <input type="checkbox"/> Sim, de forma regular 2- <input type="checkbox"/> Sim, de forma irregular 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR	
<b>(21) Diagnóstico de Diabete Mellitus:</b>	Tipo 1- <input type="checkbox"/> Tipo 2 - <input type="checkbox"/> 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(21.1) Faz uso de remédios para controle DB? 1- <input type="checkbox"/> Sim, de forma regular 2- <input type="checkbox"/> Sim, de forma irregular	
0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR	
<b>(22) TEM OUTRO(S) PROBLEMA(S) DE SAÚDE DIAGNOSTICADO(S) POR MÉDICO?</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/>	
NS/NR	
(22.1) Qual: _____	
(22.2) Usa alguma medicação? 1- <input type="checkbox"/> Sim, de forma regular 2- <input type="checkbox"/> Sim, de forma irregular 0- <input type="checkbox"/>	
Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR	

<b>História Reprodutiva</b>	
<b>MULHERES</b>	
<b>(23) Possui filhos:</b>	1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
<b>(24) Número de filhos:</b>	__ __
<b>(24.1) Número de Partos:</b>	__ __
<b>(25) Sra já sofreu algum aborto? (Espontâneo)</b>	0- <input type="checkbox"/> não 1- <input type="checkbox"/> sim 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
<b>(25.2) Qual período gestacional?</b>	
1- <input type="checkbox"/> 1.º Trimestre	Quantos: _____
2- <input type="checkbox"/> 2.º Trimestre	Quantos: _____
3- <input type="checkbox"/> 3.º Trimestre	Quantos: _____
<b>(26) A sra já provocou algum aborto?</b>	0- <input type="checkbox"/> Não 1- <input type="checkbox"/> Sim Quantos? _____ 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
<b>(27) Número de Natimortos:</b>	__ __
<b>(28) Nascidos Vivos Sadios:</b>	__ __

(29) Nascidos Vivos Não Sadios:  __ __  Qual doença (inclusive má formação)? _____
(30) Idade em que ocorreu a primeira menstruação:  __ __  Anos
(31) Idade em que parou de menstruar:  __ __  Anos <input type="checkbox"/> NA
(31.1) Há quanto tempo parou de menstruar? _____
(31.2) Por que sr(a) não menstrua mais? 1- <input type="checkbox"/> Menopausa natural 2- <input type="checkbox"/> Cirurgia para retirada de útero ou ovários 3- <input type="checkbox"/> Outros tratamentos (hormônios, quimioterapia ou radiação); 4- <input type="checkbox"/> Outra razão – especificar: _____
<b>Homens</b>
(32) Possui filhos: 1- <input type="checkbox"/> Sim 9- <input type="checkbox"/> NS/NR 0- <input type="checkbox"/> Não
(32.1) Caso afirmativo, quantos? _____
(32.2) Todos são saudáveis? 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(32.3) Caso negativo, qual ou quais doenças? _____

<b>MÓDULO 2:Estilos de Vida</b>
<b>TABAGISMO</b>
(33) Sr(a) é: 2- <input type="checkbox"/> Tabagista 1- <input type="checkbox"/> Ex-tabagista 0- <input type="checkbox"/> Nunca fumou
(34) Quantos cigarros sr(a) fuma por dia? 0- <input type="checkbox"/> menos de 10 1- <input type="checkbox"/> de 11 a 20 2- <input type="checkbox"/> 21 a 30 3- <input type="checkbox"/> mais de 30 88- <input type="checkbox"/> NA 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
<b>CONSUMO DE ALCOOL</b>
(35) Sr(a) costuma ingerir bebidas alcoólicas? 1 <input type="checkbox"/> Sim 0 <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR

**(36) Que tipo de bebida alcoólica o sr (a) bebe com maior frequência?**A- Cerveja 1- Sim 0- Não 9- NS/NR 88- NAB- Cachaça 1- Sim 0- Não 9- NS/NR 88- NAC- Vodka 1- Sim 0- Não 9- NS/NR 88- NAD- Vinho 1- Sim 0- Não 9- NS/NR 88- NAD- Energético 1- Sim 0- Não 9- NS/NR 88- NA

E- Outras: Quais: \_\_\_\_\_

**(37) Qual frequência do seu consumo de bebidas alcoólicas?**0-  1 a 2 x semana 1- 3 a 4x semana 2- 5 a 6 x por semana3-  Diariamente 4- Outra: \_\_\_\_\_ 9- NS/NR 88-  
NA**(38) Em média, quantas doses o sr (a) consome?**0-  1 dose por dia1-  2 - 3 doses por dia2-  4 - 5 doses por dia3-  Mais de 6 doses por dia4-  Outra: especifique: \_\_\_\_\_ 9-  NS/NR 88-

NA

**Consumo de outras Substâncias Psicoativas****(39) O sr(a) usa algum tipo de medicamento?**A- Analgésicos 1- Sim 0- Não 9- NS/NR 88- NAB- Anti-inflamatórios 1- Sim 0- Não 9- NS/NR 88- NAC- Antibióticos 1- Sim 0- Não 9- NS/NR 88- NAD- Controlados 1- Sim 0- Não 9- NS/NR 88- NA

E- Outros? Quais? \_\_\_\_\_

**(40) O sr(a) usa algum tipo de droga:**1- Sim 0-  Não 9- NS/NR

**(41) Quais drogas o sr(a) usa?**A- Maconha 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR 88-  NAB- Cocaína 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR 88-  NAC- Remédios sem prescrição médica 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR 88-  NAD- Colas / solventes 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR 88-  NAE- Crack 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR 88-  NAF- Ecstasy 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR 88-  NA

G- Outras? Quais? \_\_\_\_\_

**(42) Frequência do uso de drogas:**1-  1 a 2 vezes por semana 2-  3 a 4 vezes por semana3-  5 a 6 vezes por semana 4-  Diariamente 5-  Outra:

\_\_\_\_\_

**MÓDULO 3: História Familiar****(43) Alguém da sua família já teve câncer:** 1-  Sim 0-  Não 9-  NS/NR**(43.1) Quem da sua família ou do seu convívio teve / tem câncer:**A- Pai 0-  Não 1-  Sim Qual(is) tipo(s)? \_\_\_\_\_ 9- NS/NRB- Mãe 0-  Não 1-  Sim Qual(is) tipo(s)? \_\_\_\_\_ 9- NS/NRC- Avô 0-  Não 1-  Sim Qual(is) tipo(s)? \_\_\_\_\_ 9- NS/NRD- Avó 0-  Não 1-  Sim Qual(is) tipo(s)? \_\_\_\_\_ 9- NS/NRE- Irmão(ã) 0-  Não 1-  Sim Qual(is) tipo(s)? \_\_\_\_\_ 9- NS/NRF- Filho(a) 0-  Não 1-  Sim Qual(is) tipo(s)? \_\_\_\_\_ 9- NS/NRG- Esposo(a) 0-  Não 1-  Sim Qual(is) tipo(s)? \_\_\_\_\_ 9- NS/NRH- Outro 0-  Não 1-  Sim Qual(is) tipo(s)? \_\_\_\_\_ 9- NS/NR

(43.2) Outras doenças familiares : \_\_\_\_\_

<b>MODULO 4: Sinais e Sintomas</b>			
(44) Emagrecimento	1- <input type="checkbox"/> Sim	Quantos kg: _____	0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(45) Fraqueza	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(46) Tontura	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(47) Sonolência	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
<i>Sistema Nervoso Central e Periférico</i>			
(48) Dificuldade para enxergar	1- <input type="checkbox"/> Sim	Qual motivo: _____	0- <input type="checkbox"/> Não 9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(49) Cefaléia / dor de cabeça	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(50) Irritabilidade / Nervosismo	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(51) Ansiedade	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(52) Insônia	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(53) Alteração da Humor / Depressão	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(54) Alteração da atenção	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(55) Alteração da memória	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(56) Sudorese Noturno	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(57) Formigamentos	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(58) Movimentos Involuntários	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(59) Tremores	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(60) Câibras	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(61) Diminuição da força muscular	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(62) CONVULSÕES	1- <input type="checkbox"/> SIM	0- <input type="checkbox"/> NÃO	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
<b>Sistema Hematológico e sistema Imunológico</b>			
(63) Petéquias:	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(64) Hematomas	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
(65) Epistaxe	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	9- <input type="checkbox"/> NS/NR
<b>ectoscopia</b>			
(66) Irritação Ocular	1- <input type="checkbox"/> Sim	0- <input type="checkbox"/> Não	



<b>(67) Orientado:</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não	<b>(68) Lúcido:</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não
<b>(69) Fácies:</b> 1- <input type="checkbox"/> Atípico 2- <input type="checkbox"/> Inexpressivo 3- <input type="checkbox"/> Indiferente 4- <input type="checkbox"/> Tristeza 5- <input type="checkbox"/> Euforia 6- <input type="checkbox"/> Ansiedade 7- <input type="checkbox"/> Outra: _____	
<b>(70) Marcha:</b> 0- <input type="checkbox"/> Normal 1- <input type="checkbox"/> Alterada	
<b>(71) Deformidades:</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não → Qual: _____	
<b>(72) Equilíbrio:</b> A- Dinâmico: 0- <input type="checkbox"/> Normal 1- <input type="checkbox"/> Alterado B- Estático: 0- <input type="checkbox"/> Normal 1- <input type="checkbox"/> Alterado	
<b>(73) Tremores:</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não → Onde: 0- <input type="checkbox"/> Facial 1- <input type="checkbox"/> Membro superior 2- <input type="checkbox"/> Membro inferior 3- <input type="checkbox"/> Outro(s): _____	
<b>(74) Pupilas isocóricas:</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não	
<b>(75) Nistagmus:</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não	
<b>(76) Diplopia:</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não	
<b>(77) Acomodação:</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não	<b>(78) Disfonia:</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não
<b>(79) Mucosas:</b> 0- <input type="checkbox"/> coradas 1- <input type="checkbox"/> descoradas	<b>(80) Icterícia:</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não
<b>(81) Gânglios palpáveis:</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não → Quais: 1- <input type="checkbox"/> Submandibular 2- <input type="checkbox"/> Pescoço 3- <input type="checkbox"/> outro(s): _____	
<b>(82) Lesões de pele:</b> 0- <input type="checkbox"/> Não 1- <input type="checkbox"/> Sim → Quais: 1- <input type="checkbox"/> Manchas 2- <input type="checkbox"/> Furúnculos 3- <input type="checkbox"/> Pruridos 4- <input type="checkbox"/> Dermatite irritativa 5- <input type="checkbox"/> Eritema 6- <input type="checkbox"/> Outra(s): _____ (82.1) Localização: _____ (82.2) Descrição: _____	
<b>(83) Acne:</b> 1- <input type="checkbox"/> Sim 0- <input type="checkbox"/> Não	

(84) Edemas 1-  Sim

→Onde: \_\_\_\_\_

0-  Não

(85) Fâneros: 0-  Normal 1-  Alterado

Qual: \_\_\_\_\_

(86) Tireóide: 0-  Normal 1-  Alterado

### APARELHO CARDIOVASCULAR (ACV)

(87) Pressão Arterial: | \_ | \_ | \_ | x | \_ | \_ | \_ | mmHg

(88) Frequência Cardíaca: | \_ | \_ | \_ | bpm

(89) Ritmo cardíaco 0-  Normal 1-  Alterado: \_\_\_\_\_

(90) Bulhas normofonéticas

1-  Sim 0-  Não

(91) Pulso Radial Esquerdo: 0-  Normal 1-  Alterado

### APARELHO RESPIRATÓRIO (AR)

(92) Deformidade torácica: 1-  Sim → Qual: \_\_\_\_\_ 0-  Não

(93) Frequência Respiratória: 0-  Eupnéico 1-  Taquipnéico 2-  Bradipneico

(94) Murmúrio Vesicular bem distribuído: 1-  Sim

0-  Não → Por que? \_\_\_\_\_

OBSERVAÇÕES: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_