



2022  
número  
especial 14  
2ª série



**Biomonitorização humana**



Lisboa\_INSA, IP

n. especial 14 2022\_Biomonitorização humana

ISSN: 2183-8873 (em linha)

# Observações

— Boletim Epidemiológico

sumário\_

## \_Editorial

O papel da biomonitorização humana na geração do conhecimento para a avaliação dos efeitos cumulativos dos diferentes químicos p 03

*The role of human biomonitoring in generating knowledge for the assessment of the cumulative effects of different chemicals*

Teresa Borges, Isabel Moura

## \_Artigos breves

### \_Saúde ambiental

1\_ Perceções da população portuguesa sobre biomonitorização humana segundo o inquérito aos cidadãos do HBM4EU p 05

*Portuguese population's perceptions on human biomonitoring according to the HBM4EU citizen survey*

Sónia Namorado, Henriqueta Louro, Glória Isidro, Rita Cavaleiro, Isabel Moura, Teresa Borges, Ana Virgolino, Osvaldo Santos, Joana Lobo Vicente, Maria João Silva

2\_ Biomonitorização humana de micotoxinas no âmbito do projeto HBM4EU: um estudo sobre deoxinivalenol e fumonisina B<sub>1</sub> p 11

*Mycotoxins human biomonitoring under HBM4EU: the case study of deoxynivalenol and fumonisin B<sub>1</sub>*

Paula Alvito, Sónia Namorado, Ricardo Assunção, Lola Bajard, Carla Martins, Marcel Mengelers, Hans Mol, Annick Van den Brand, Elsa Vasco, Susana Viegas, Maria João Silva

3\_ Utilização de biomonitorização humana para avaliação da exposição a cádmio na população portuguesa p 19

*Use of human biomonitoring to evaluate exposure to cadmium in the Portuguese population*

Ana Rita Alberto, Inês Coelho, Inês Delgado, Sandra Gueifão, Marta Ventura, Susana Silva, Janja Snoj Tratnik, Eva Govarts, Greet Schoeters, Sónia Namorado

4\_ Exposição a arsénio na população portuguesa: resultados preliminares do estudo INSEF-ExpoQuim p 25

*Arsenic exposure in the Portuguese population: INSEF-ExpoQuim preliminary results*

Sónia Namorado, Inês Delgado, Inês Coelho, Sandra Gueifão, Marta Ventura, Clara Alves Alves, Emília Castilho, Eugénio Cordeiro, Ana Dinis, Bruna Gouveia, Tamara Prokopenko, Patrícia Vargas, Susana Silva

### \_Saúde ocupacional

5\_ Biomonitorização da exposição profissional ao crómio hexavalente: contributo para proposta de valores-limite biológicos p 31

*Biomonitoring of occupational exposure to hexavalent chromium: contribution to the proposed biological limit values*

Herminia Pinhal, Ana Nogueira, Sílvia Santos, Edna Ribeiro, Carina Ladeira, Susana Viegas

6\_ Caracterização de biomarcadores de genotoxicidade em trabalhadores expostos a crómio hexavalente: um estudo no âmbito da Iniciativa Europeia em Biomonitorização Humana p 40

*Genotoxicity biomarkers in workers exposed to hexavalent chromium: a study under the European Human Biomonitoring Initiative*

Ana Tavares, Kukka Aimonen, Sophie Ndaw, Aleksandra Fučić, Julia Catalán, Radu Corneliu Duca, Lode Godderis, Bruno C. Gomes, Beata Janasik, Carina Ladeira, Henriqueta Louro, Sónia Namorado, An Van Nieuwenhuysse, Hannu Norppa, Paul T.J. Scheepers, Célia Ventura, Jelle Verdonck, Susana Viegas, Wojciech Wasowicz, Tiina Santonen, Maria João Silva

7\_ Avaliação do risco da mistura de crómio hexavalente, níquel e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos a partir de dados de exposição ocupacional extraídos da literatura p 47

*Risk assessment of the mixture of hexavalent chromium, nickel and polycyclic aromatic hydrocarbons using occupational exposure data extracted from the literature*

Ana Maria Tavares, Susana Viegas, Henriqueta Louro, Thomas Goen, Tiina Santonen, Mirjam Luijten, Andreas Kortenkamp, Maria João Silva

8\_ Aplicação da biomonitorização humana para avaliação da exposição ocupacional a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos na Europa: uma revisão da literatura p 54

*Application of human biomonitoring to assess occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Europe: a literature review*

Henriqueta Louro, Bruno Costa Gomes, Anne Thoustrup Saber, Anna Laura Iamiceli, Thomas Göen, Kate Jones, Andromachi Katsonouri, Christiana Neophytou, Ulla Vogel, Célia Ventura, Axel Oberemm, Radu Corneliu Duca, Mariana F. Fernandez, Nicolas Olea, Tiina Santonen, Susana Viegas, Maria João Silva





**9\_ O treino intensivo pode levar ao aumento de dano oxidativo no ADN em bailarinos profissionais? p 60**

*Can intensive physical exercise increase DNA oxidative damage among professional dancers?*

*Filipa Esteves, Eduardo Teixeira, Tânia Amorim, Carla Costa, Joana Madureira, João Paulo Teixeira, Solange Costa*

**10\_ Matrizes de exposição ocupacional e biomonitorização humana p 65**

*Job exposure matrices and human biomonitoring*

*Mariana Neto, Sónia Namorado, Helena Krippahl*

## O papel da biomonitorização humana na geração do conhecimento para a avaliação dos efeitos cumulativos dos diferentes químicos

*The role of human biomonitoring in generating knowledge for the assessment of the cumulative effects of different chemicals*

A União Europeia reconheceu o papel relevante da biomonitorização humana (BMH) na geração do conhecimento para a avaliação dos efeitos cumulativos dos diferentes químicos, tendo em conta as várias vias e fontes de exposição e, neste sentido, cofinanciou o projeto HBM4EU (2017-2022), que envolveu 116 instituições de 30 países e teve como objetivo usar os dados disponíveis de BMH para criar melhor evidência sobre a exposição real dos cidadãos europeus aos químicos e possíveis efeitos na Saúde e, assim, implementar medidas regulamentares adequadas por forma a reduzir o risco químico (1).

A BMH permite entender o risco químico na Saúde através da determinação dos químicos ambientais e respetivos metabolitos no corpo humano, designadamente, no sangue, urina, cabelo, leite materno ou tecidos, fornecendo a medida agregada da exposição do corpo humano através das várias vias de exposição (oral, dérmica e inalatória). Por exemplo, estudos de coorte que acompanham uma amostra da população desde o nascimento podem estabelecer a associação entre a exposição a certos poluentes e efeitos em Saúde.

A BMH permite quantificar a exposição relativamente a substâncias químicas já conhecidas e ainda pode facultar alertas precoces para químicos emergentes com base nas propriedades físico-químicas e efeitos biológicos. Nesta medida, pode ajudar os decisores a gerir os químicos de forma preventiva, através de medidas que minimizem a exposição a químicos tóxicos, antes de provocar custos em Saúde. Estudos de BMH permitem caracterizar a exposição da população ao longo do tempo, ou seja, as tendências temporais, e ser usada para avaliar a eficiên-

cia das políticas implementadas, nomeadamente, restrições do uso de certos químicos, no âmbito do Regulamento REACH (2); no entanto, para que essa otimização exista, é necessário existir cruzamento de informação e colaboração entre especialistas de BMH, de modelação da exposição e de avaliação do risco químico.

Desde os anos 90 que a UE tem vindo a estabelecer valores de BMH baseados em estudos epidemiológicos (3). De facto, a avaliação dos valores de BMH baseados na exposição humana são os que oferecem maior confiança, no entanto, poucos valores têm sido determinados até agora devido a insuficiência de estudos em humanos sobre efeitos biológicos, condição essencial para derivar estes valores. Para ultrapassar isto, foi proposto um novo conceito em que os valores de exposição das substâncias e metabolitos usados na avaliação do risco químico são convertidos em concentrações no sangue ou urina (4).

O ponto de partida são os valores-limite de exposição externa propostos por organizações reconhecidas, p. ex. Organização Mundial da Saúde (OMS) e Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA), como os valores de ingestão diária aceitável (ADI), ou de ingestão diária tolerável (TDI), *Derived No-Effect Levels* (DNELs) ou *Derived Minimal Effect Levels* (DMELs) ou *Acceptable Exposure Levels* (AELs), os quais são convertidos em concentrações de biomarcadores internos, ou seja, em níveis equivalentes de biomonitorização humana (BE) (5). Para efetuar a conversão, é necessário conhecer a toxicocinética humana (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) das respetivas substâncias e/ou metabolitos-alvo; e, para que o processo seja satisfatório, é fundamental que a metodologia e critérios usados para estabelecer estes valores-limite sejam transparentes e robustos do ponto de vista científico.

Os valores BMH permitem avaliar impactos na Saúde relativamente a níveis de poluentes ou metabolitos encontrados em amostras humanas e podem ser usados para definir medidas regulatórias com vista à redução da exposição



ou avaliar a eficácia das medidas de gestão de risco em curso e se elas resultaram em menor risco para a população europeia (6).

Quando os estudos de biomonitorização indicam que as concentrações detetadas em humanos se situam acima do valor de BE relevante, isso significa que a exposição combinada através das várias vias de exposição pode constituir um risco para a Saúde.

Num determinado cenário de exposição a químicos que possa representar risco para a população, torna-se importante identificar a via de exposição que mais contribui para o “*body burden*”, para que se possa atuar a montante, ao nível do controlo da sua emissão. Para atingir esse objetivo, há que cruzar dados de exposição interna com informação sobre comportamentos, dieta alimentar e estilos de vida e, igualmente, com dados de monitorização ambiental e alimentar.

A BMH pode igualmente ser utilizada para priorizar substâncias químicas para posterior aplicação de medidas de gestão de risco, no âmbito das várias legislações europeias, como o REACH, saúde e segurança do trabalhador, fitofarmacêuticos, biocidas, medicamentos e cosméticos, assim como, legislação aplicável à qualidade do ar, água de consumo humano e alimentos (7).

Existem, no entanto, limitações quanto ao uso de dados de BMH na avaliação de risco químico. Assim, frequentemente, são os metabolitos específicos que são alvo de quantificação e não os compostos parentais, sendo os biomarcadores de exposição apenas *proxies* medidos em tecidos e fluídos humanos (8), não refletindo necessariamente as concentrações nos órgãos-alvo. Em conclusão, pode não ser possível relacionar diretamente o “*body burden*” total com a exposição aos poluentes em estudo. A Plataforma de Informação sobre Monitorização Química desenvolvida pela Comissão Europeia (IPChem) (9) proporciona acesso a dados de BMH e monitorização ambiental, além de dados de substâncias químicas em produtos e alimentos para uso humano e animal.

Em Portugal, nos últimos anos, têm sido realizados alguns estudos de BMH, em contexto ocupacional, refira-se os trabalhos publicados neste Boletim efetuados na área da BMH aplicada à avaliação do risco da exposição profissional a agentes químicos (crómio hexavalente, níquel e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos), e na população em geral, na área da BMH aplicada à avaliação do risco da exposição humana a agentes ambientais, como são exemplo os trabalhos aqui incorporados sobre a avaliação da exposição a arsénio, a cádmio e a micotoxinas.

### Teresa Borges

HBM4EU — Iniciativa Europeia em Biomonitorização Humana  
Programme Owner (representante no Governing Board) e Linked Third Party do INSA  
no WP5/Task 5.3 – Use of HBM Guidance Values in risk assessment/health impact strategies  
Divisão de Saúde Ambiental e Ocupacional  
Direção-Geral da Saúde

### Isabel Moura

HBM4EU — Iniciativa Europeia em Biomonitorização Humana  
Programme Owner (representante substituto no Governing Board)  
Agência Portuguesa do Ambiente

### Referências bibliográficas:

- (1) HBM4EU – European Human Biomonitoring Initiative (online). <https://www.hbm4eu.eu/>
- (2) Comissão Europeia. Regulamento n.º 1907/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 18 de dezembro de 2006, relativo ao registo, avaliação, autorização e restrição de substâncias químicas (REACH). JO L 396 de 30.12.2006, p. 1-854. <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/1907/oj>
- (3) Schulz C, Angerer J, Ewers U, et al. The German Human Biomonitoring Commission. Int J Hyg Environ Health. 2007 May;210(3-4):373-82. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2007.01.035>
- (4) Human Biomonitoring (HBM) Commission of the German Federal Environment Agency. Derivation of human biomonitoring (HBM) values based on tolerable intake doses. Part II: rationale and way of derivation. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2007;50(2):251-54. (English version)
- (5) Boogaard PJ, Aylward LL, Hays SM. Application of human biomonitoring (HBM) of chemical exposure in the characterisation of health risks under REACH. Int J Hyg Environ Health. 2012 Feb;215(2):238-41. Epub 2011 Dec 15. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.09.009>
- (6) Apel P, Angerer J, Wilhelm M, et al. New HBM values for emerging substances, inventory of reference and HBM values in force, and working principles of the German Human Biomonitoring Commission. Int J Hyg Environ Health. 2017 Mar;220(2 Pt A):152-166. Epub 2016 Sep 17. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.09.007>
- (7) Louro H, Heinälä M, Bessems J, et al. Human biomonitoring in health risk assessment in Europe: Current practices and recommendations for the future. Int J Hyg Environ Health. 2019 Jun;222(5):727-737. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.05.009>
- (8) Grandjean P. Strengths and limitations of HBM-imprecision matters. Int J Hyg Environ Health. 2012 Feb;215(2):94. Epub 2011 Dec 24. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.11.008>
- (9) European Commission. IPCHEM - Information Platform for Chemical Monitoring (online). <https://ipchem.jrc.ec.europa.eu/>

## \_ Perceções da população portuguesa sobre biomonitorização humana segundo o inquérito aos cidadãos do HBM4EU

Portuguese population's perceptions on Human Biomonitoring according to the HBM4EU citizen survey

Sónia Namorado<sup>1,2,3</sup>, Henriqueta Louro<sup>4</sup>, Glória Isidro<sup>4</sup>, Rita Cavaleiro<sup>5</sup>, Isabel Moura<sup>6</sup>, Teresa Borges<sup>7</sup>, Ana Virgolino<sup>8</sup>, Osvaldo Santos<sup>8</sup>, Joana Lobo Vicente<sup>9</sup>, Maria João Silva<sup>4,10</sup>

sonia.namorado@insa.min-saude.pt

- (1) Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal  
(2) Centro de Investigação em Saúde Pública. Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal  
(3) Comprehensive Health Research Center, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal  
(4) Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal  
(5) Fundação para a Ciência e a Tecnologia, Lisboa, Portugal  
(6) Agência Portuguesa do Ambiente, Lisboa, Portugal  
(7) Direção-Geral da Saúde, Lisboa, Portugal  
(8) Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal  
(9) Agência Europeia do Ambiente, Copenhaga, Dinamarca  
(10) Centre for Toxicogenomics and Human Health. Faculdade de Ciências Médicas, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

### \_Resumo

No âmbito da Iniciativa Europeia em Biomonitorização Humana (HBM4EU) foi realizado um inquérito dirigido aos cidadãos europeus que pretendia recolher informação acerca das suas opiniões e perceções sobre a exposição a substâncias químicas, bem como sobre o que é a biomonitorização humana (BMH), por que é que ela é importante e qual o seu papel na saúde. Em Portugal responderam ao inquérito 669 indivíduos, a maioria do sexo feminino, com ensino superior e empregados. A maioria dos participantes portugueses considera que a BMH é uma atividade que deve ser realizada regularmente e de forma coordenada. Os participantes também consideraram que os estudos de BMH são muito relevantes para várias atividades, desde a avaliação do impacto da exposição às substâncias químicas, ao apoio de políticas de saúde ocupacional. As áreas indicadas como uma prioridade para os estudos de BMH revelaram uma maior preocupação com a exposição por via alimentar.

### \_Abstract

In the scope of the European Human Biomonitoring Initiative, a survey directed to all the European citizens was launched to collect information on their opinions and perceptions on exposure to chemicals and human biomonitoring (HBM). In Portugal, 669 individuals have answered the survey, the majority being female, with high educational level and having a job. The majority of the Portuguese survey participants considers that HBM is an activity that should be performed regularly and in a coordinated way. The participants also consider that HBM surveys are relevant to several activities from the evaluation of the impact of exposure to chemicals to the support of occupational health policies. The areas indicated as a priority to the HBM surveys have revealed a bigger concern with exposure through food.

### \_Introdução

A biomonitorização humana (BMH) é uma técnica em que se medem as concentrações de substâncias químicas ou dos seus metabolitos em amostras humanas, por exemplo, sangue ou urina. Reflete, por isso, a exposição interna total, ou seja, a quantidade que foi absorvida pelo corpo por inalação, ou por absorção oral ou dérmica (1).

Neste contexto, a Iniciativa Europeia em Biomonitorização Humana (HBM4EU, [www.hbm4eu.eu](http://www.hbm4eu.eu)) foi um projeto europeu que decorreu entre 2017 e 2022, envolvendo 30 países, a Agência Europeia do Ambiente e a Comissão Europeia, cujo objetivo era a utilização da biomonitorização humana para avaliar a exposição humana a substâncias químicas na Europa, com vista a uma melhor compreensão dos impactos na saúde derivados dessa exposição e à melhoria da avaliação do risco associado a essas substâncias químicas (2).

Uma vez que os objetivos do HBM4EU incluíam o envolvimento dos cidadãos e a disseminação do conhecimento produzido no âmbito do projeto para a sociedade, foram realizadas atividades dirigidas aos cidadãos, nomeadamente *focus groups* com cidadãos de vários países europeus (3,4) e um inquérito dirigido especificamente aos



cidadãos de toda a Europa para compreender as suas opiniões e perceções sobre a exposição a substâncias químicas e a biomonitorização humana (5).

Nos *focus groups* realizados, alguns dos participantes demonstraram possuir um nível básico de compreensão sobre BMH, mas nenhum dos participantes conseguiu fornecer uma definição exata (3,4). Ainda assim, a existência de estudos de BMH foi reconhecida como um fator positivo associado à monitorização ativa dos riscos pelas autoridades.

Não tendo sido possível realizar *focus groups* em todos os países participantes no projeto HBM4EU e dado que cada país apenas conduziu um *focus group*, não sendo possível retirar conclusões específicas por país, foi decidido realizar um inquérito dirigido aos cidadãos para avaliação das suas perceções e opiniões. Os dados recolhidos em Portugal (o segundo país, de entre 30 países, com maior número de cidadãos respondentes – 12,4% do total de respondentes a nível europeu) serão utilizados neste artigo.

## **\_Objetivo**

Este estudo teve como objetivo analisar as perceções e opiniões da população portuguesa relativamente à biomonitorização humana, nomeadamente no que diz respeito à sua utilidade e importância, utilizando dados do inquérito europeu realizado no âmbito do projeto HBM4EU.

## **\_Material e métodos**

O questionário foi desenvolvido por um grupo de peritos e incluía questões sobre fontes e vias de exposição, perigosidade, evolução da exposição, formas de reduzir a exposição, alterações na exposição devidas à pandemia da COVID-19, e BMH, para avaliação das perceções e opiniões da população europeia sobre a exposição a substâncias químicas (5). O inquérito foi traduzido para as diferentes línguas dos países participantes no projeto HBM4EU e implementado na página de internet do projeto. Em Portugal, o convite para resposta ao inquérito em português foi divulgado pelas várias instituições portuguesas participantes no projeto HBM4EU através das suas páginas de *internet*, redes sociais e listas de emails.

O inquérito esteve disponível para resposta entre 14 de setembro de 2020 e 3 de fevereiro de 2021.

A página de *internet* de acesso ao inquérito continha um texto de introdução explicando o objetivo do estudo e, após aceitarem responder, os indivíduos eram direcionados para as perguntas do inquérito. Os indivíduos que não responderam a metade das questões do inquérito foram excluídos da análise.

Neste estudo foi utilizada a informação sociodemográfica e a informação sobre BMH recolhida no inquérito. Foi realizada a análise descritiva das características sociodemográficas dos participantes e das respostas às questões relacionadas com a BMH, que incluiu o cálculo das frequências absolutas (número de respostas) e relativas (percentagens). A análise estatística foi realizada no programa informático IBM SPSS *Statistics* vs27.

## **\_Resultados e discussão**

Responderam ao inquérito 669 indivíduos de Portugal, sendo a maioria do sexo feminino (72,2%), com nível de escolaridade elevado (85,6%) e com atividade profissional (74,7%) (tabela 1). No que respeita à idade, cerca de metade dos participantes tinham entre 35 e 54 anos de idade. Relativamente ao número de habitantes da localidade de residência, 32,4% dos respondentes referiram residir numa localidade com um número de habitantes entre 5.000 e 20.000 habitantes, 26,3% numa localidade com um número de habitantes entre 20.000 e 100.000 habitantes e cerca de um quinto (19,1%) respondeu não saber.

A maioria dos participantes em Portugal considerou que a BMH se deve realizar regularmente e que se justifica a utilização desta metodologia, mesmo que exista uma gestão das substâncias químicas tida como adequada. Considerou ainda que a BMH é confiável, que deveria ser realizada com maior frequência do que acontece atualmente e com a mesma regularidade com que são feitas as análises de rotina à qualidade da água e dos alimentos (gráfico 1). Quase dois terços (64,8%) considera que deveria ser incluída nos inquéritos nacionais de saúde e que deveria ter maior coordenação a nível nacional (58,8%) e europeu (71,1%).



**Tabela 1:** Caracterização dos participantes portugueses no inquérito aos cidadãos do HBM4EU.

| Variável   | N   | %    |
|--|-----|------|
| <b>Sexo</b>  |     |      |
| Masculino  | 181 | 27,1 |
| Feminino   | 483 | 72,2 |
| Não responde   | 5   | 0,7  |
| <b>Grupo etário</b>                                  |     |      |
| 15-24 anos   | 90  | 13,7 |
| 25-34 anos   | 82  | 12,5 |
| 35-44 anos   | 169 | 25,7 |
| 45-54 anos   | 172 | 26,2 |
| 55-64 anos   | 118 | 18,0 |
| + 65 anos  | 26  | 4,0  |
| <b>N.º de habitantes da localidade de residência</b> |     |      |
| Menos de 5.000 habitantes                            | 105 | 15,7 |
| Entre 5.000 e 20.000 habitantes                      | 217 | 32,4 |
| Entre 20.000 e 100.000 habitantes                    | 176 | 26,3 |
| Mais de 100.000 habitantes                           | 43  | 6,4  |
| Não sabe   | 128 | 19,1 |
| <b>Nível de escolaridade</b>                         |     |      |
| Ensino secundário ou inferior (ISCED ≤ 4)            | 96  | 14,3 |
| Ensino superior (ISCED ≥ 5)                          | 572 | 85,6 |
| <b>Situação perante o trabalho</b>                   |     |      |
| Empregado  | 495 | 74,7 |
| Estudante  | 109 | 16,4 |
| Outra situação (reformado, desempregado ou outro)    | 59  | 8,9  |

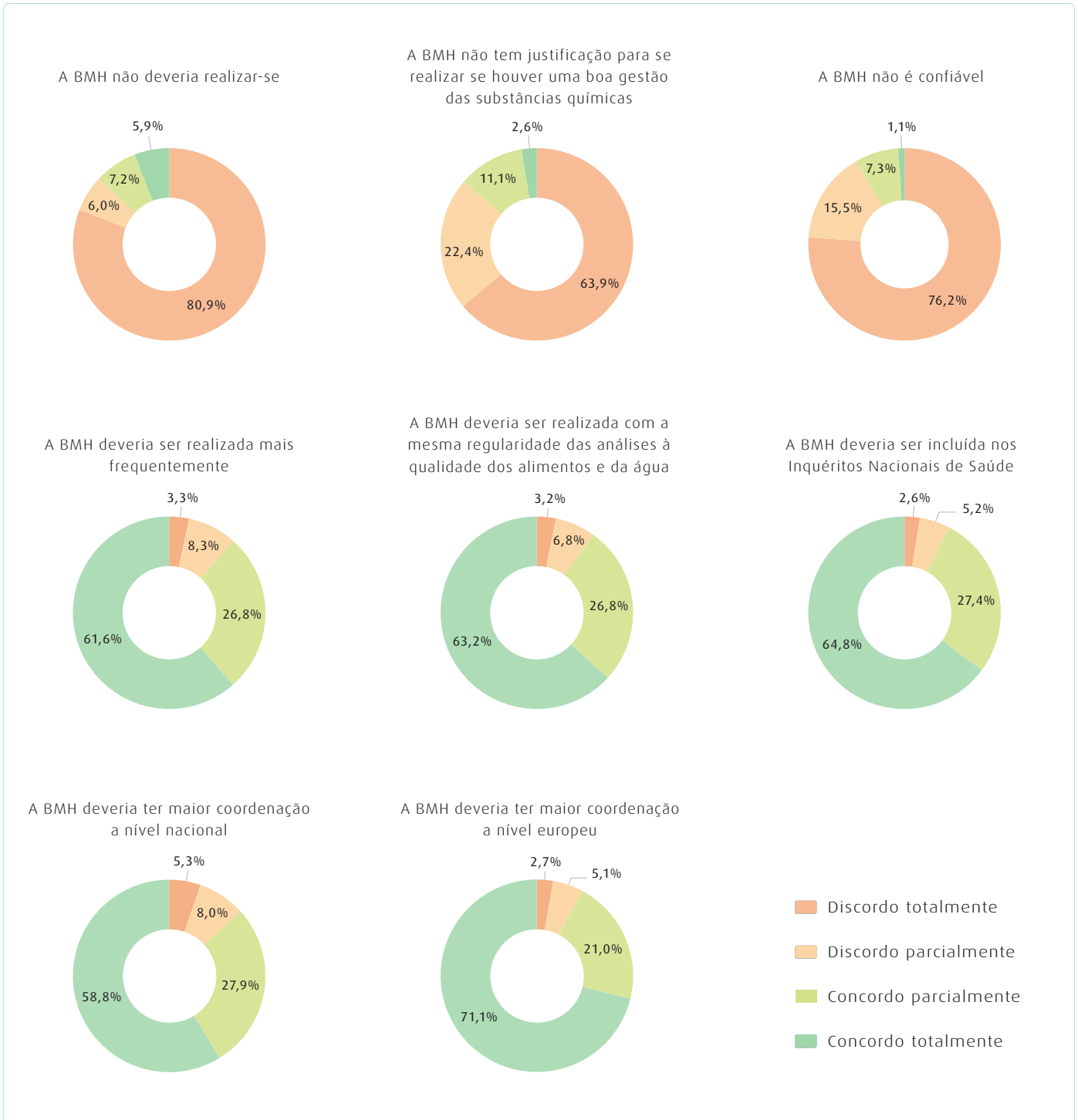
Os resultados dos estudos de BMH são considerados importantes para todas as atividades mencionadas, principalmente para estudar o impacto da exposição às substâncias químicas na saúde da população (84,2%; gráfico 2), para avaliar a exposição da população a substâncias químicas (82,9%), para desenvolver políticas de saúde que promovam a utilização segura das substâncias químicas (81,3%) e para sensibilizar e aumentar o conhecimento dos profissionais de saúde e decisores políticos sobre o impacto na saúde da exposição a substâncias químicas (81,1%).

Relativamente às áreas que deveriam ser consideradas uma prioridade para os estudos de BMH, a área dos alimentos foi apontada pela maioria dos participantes (81,9%, gráfico 3) como a área que deveria ser prioritária, seguida da água potável (53,5%) e das embalagens de alimentos (30,9%), revelando uma maior preocupação com a exposição por via alimentar. De referir que o ambiente não foi considerado por nenhum dos participantes portugueses como sendo uma área prioritária, contrariamente à perceção dos participantes europeus que consideraram o ambiente uma prioridade para os estudos de biomonitorização (5).

ISCED: Classificação Internacional Normalizada da Educação (do inglês *International Standard Classification of Education*).

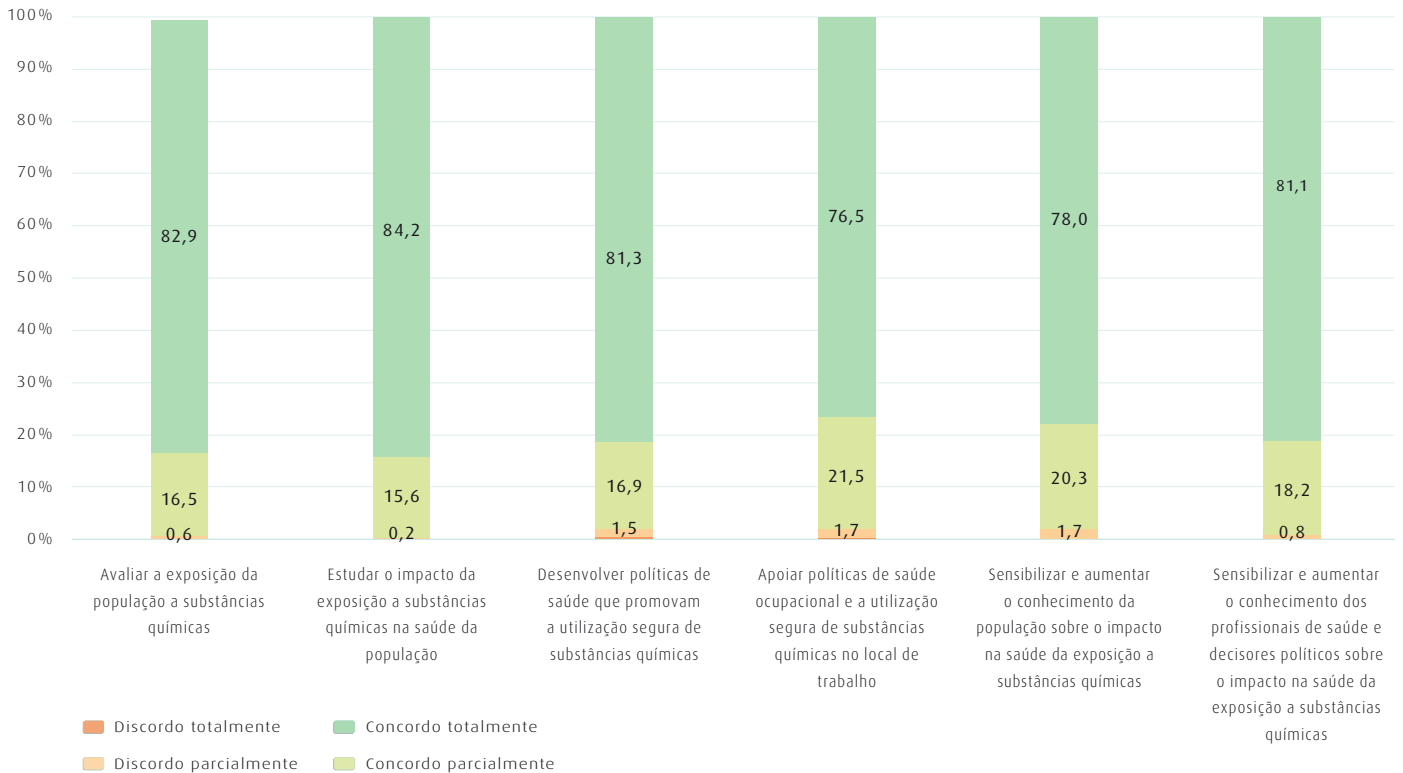


Gráfico 1: Opinião dos respondentes sobre a metodologia de biomonitorização humana (BMH).

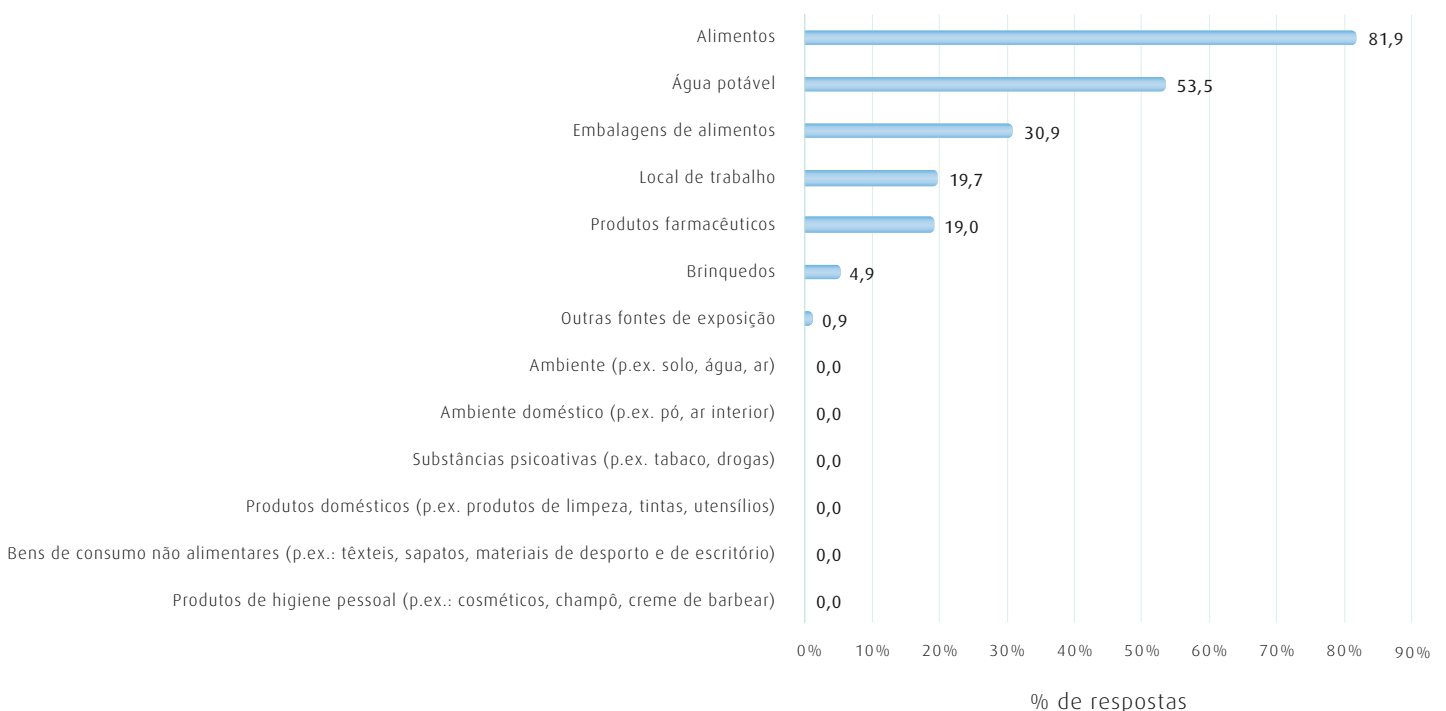




**Gráfico 2:** Atividades para as quais os respondentes consideraram que os estudos de biomonitorização humana são importantes.



**Gráfico 3:** Áreas que os respondentes consideraram que deveriam ser uma prioridade para os estudos de biomonitorização humana.





## **\_Conclusão**

Esta análise evidenciou a elevada relevância dada pelos cidadãos portugueses à biomonitorização humana (BMH) no contexto da proteção da população relativamente à exposição a substâncias químicas, concordante com a perceção dos cidadãos europeus em geral (5).

A compreensão da utilidade da BMH abre caminho a futuras campanhas de BMH a realizar no nosso país, com envolvimento da população portuguesa.

## **Financiamento:**

O projeto HBM4EU foi cofinanciado pelo programa de investigação e inovação Horizonte 2020 da União Europeia, ao abrigo da convenção de subvenção n.º 733032, e pelas instituições nacionais parceiras do projeto.

## **Agradecimentos:**

Os autores agradecem a todos os participantes no inquérito e ao grupo de trabalho que desenvolveu o inquérito no âmbito do WP6 do HBM4EU.

## **Referências bibliográficas:**

- (1) Sexton K, Needham LL, Pirkle JL. Human Biomonitoring of Environmental Chemicals: Measuring chemicals in human tissues is the "gold standard" for assessing people's exposure to pollution. *American Scientist*. 2004;92(1):38-45. <http://www.jstor.org/stable/27858331>
- (2) Weise P, Apel P, Kolossa-Gehring M. Human-Biomonitoring für Europa (HBM4EU) – erste Einblicke in die Ergebnisse der Initiative [Human Biomonitoring for Europe (HBM4EU)-first insights into the results of the initiative]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2022 Sep;65(9):936-39. German. <https://doi.org/10.1007/s00103-022-03578-z>
- (3) Matisãne L, Knudsen LE, Lobo Vicente J, et al. Citizens' Perception and Concerns on Chemical Exposures and Human Biomonitoring-Results from a Harmonized Qualitative Study in Seven European Countries. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 May 25;19(11):6414. <https://doi.org/10.3390/ijerph19116414>
- (4) Uhl M, Santos RR, Costa J, et al. Chemical Exposure: European Citizens' Perspectives, Trust, and Concerns on Human Biomonitoring Initiatives, Information Needs, and Scientific Results. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Feb 5;18(4):1532. <https://doi.org/10.3390/ijerph18041532>
- (5) HBM4EU. Revised report on national needs, objectives of a long-term HBM4EU inventory of funding mechanisms and recommendations for a sustainable HBM initiative in Europe and its organisation - Deliverable Report 6.4 – WP6 – Sustainability and capacity building. 2021. <https://www.hbm4eu.eu/work-packages/deliverable-6-4-revised-report-on-national-needs-objectives-of-a-long-term-hbm4eu-inventory-of-funding-mechanisms-and-recommendations-for-a-sustainable-hbm-initiative-in-europe-and-its-organisation/>

## **\_Biomonitorização humana de micotoxinas no âmbito do projeto HBM4EU: um estudo sobre desoxinivalenol e fumonisina B<sub>1</sub>**

*Mycotoxins Human Biomonitoring under HBM4EU: the case study of deoxynivalenol and fumonisin B<sub>1</sub>*

Paula Alvito<sup>1,2</sup>, Sonia Namorado<sup>3,4</sup>, Ricardo Assunção<sup>1,5</sup>, Lola Bajard<sup>6</sup>, Carla Martins<sup>1,4,7</sup>, Marcel Mengelers<sup>8</sup>, Hans Mol<sup>9</sup>, Annick Van den Brand<sup>8</sup>, Elsa Vasco<sup>1</sup>, Susana Viegas<sup>4,7</sup>, Maria João Silva<sup>10,11</sup>

paula.alvito@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Centro de Estudos do Ambiente e do Mar, Universidade de Aveiro, Portugal

(3) Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(4) Comprehensive Health Research Center, Lisboa, Portugal

(5) Instituto Universitário Egas Moniz, Egas Moniz-Cooperativa de Ensino Superior, Caparica, Portugal

(6) Research Centre for Toxic Compounds in the Environment. Faculty of Science, Masaryk University, Czech Republic

(7) Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

(8) National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands

(9) Wageningen Food Safety Research, Wageningen University & Research, Wageningen, The Netherlands

(10) Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo, Lisboa, Portugal

(11) Centro de Toxicogenómica e Saúde Humana. NOVA Medical School, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

### **\_Resumo**

As micotoxinas são toxinas naturais produzidas por fungos, apresentando efeitos tóxicos para o homem e para os animais. Reconhece-se, atualmente, que as alterações climáticas terão impacto na distribuição geográfica de algumas espécies de fungos produtores de micotoxinas o que se traduzirá, previsivelmente, num aumento da exposição humana a estes compostos. Pelas razões descritas, urge conhecer a atual exposição a micotoxinas na Europa, com vista à sua futura monitorização e à prevenção/redução do seu impacto na saúde. No âmbito da Iniciativa Europeia em Biomonitorização Humana (HBM4EU) consideraram-se as micotoxinas desoxinivalenol (DON) e fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) como substâncias prioritárias, tendo sido abordadas várias questões relativas à avaliação da exposição humana e o potencial risco para a saúde. No presente artigo, apresentam-se as questões identificadas como mais importantes, respostas obtidas e perspetivas futuras. Os resultados confirmaram a exposição humana a DON, tendo sido obtidos, pela primeira vez, dados harmonizados de exposição ao nível europeu e derivado um valor de referência para essa exposição. Foi ainda proposto, pela primeira vez no HBM4EU, uma sucessão de eventos biológicos baseados no mecanismo de ação da FB<sub>1</sub> que permitiu associar a exposição durante a gravidez ao desenvolvimento de defeitos do tubo neural no feto. Espera-se que estes resultados possam contribuir para uma futura monitorização da exposição a micotoxinas na Europa e para melhorar a avaliação de risco destas substâncias.

### **\_Abstract**

*Mycotoxins are natural low-molecular-weight toxins produced by fungal species that can be toxic for humans and animals. Under the climate change scenario, some fungal species might shift their geographical distribution in response to global warming, leading to changes in the pattern of mycotoxin occurrence and, thus, increasing the risk of human myco-*

*toxin exposure. For this reason, it urges to assess the current human exposure to mycotoxins in Europe, to monitor internal exposure and prevent future health impact. The European Human Biomonitoring Initiative (HBM4EU), running from 2017 to 2022, was set to generate knowledge on internal exposure and their potential health impacts. Within this initiative, the mycotoxins deoxynivalenol (DON) and fumonisin B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) were considered as priority substances to be studied and several policy questions were addressed concerning their risk assessment. The present paper presents policy questions identified within HBM4EU for these mycotoxins, answers obtained and future perspectives. The exposure of the general European population to DON was confirmed using new harmonized data and a reference guidance value for human biomonitoring was set for the first time. Additionally, an adverse outcome pathway for neural tube defects was proposed for FB<sub>1</sub> for the first time. Hopefully these findings may contribute to a more accurate risk assessment of European population's exposure to mycotoxins.*

### **\_Introdução**

A biomonitorização humana (BMH) consiste na determinação de um composto químico ou dos seus metabolitos (correspondentes aos biomarcadores de exposição) em amostras biológicas, incluindo sangue, urina, leite e cabelo (1,2). Esta determinação integra todas as fontes e vias de exposição, nomeadamente a via oral, inalatória e transdérmica (2). Nos últimos anos, têm sido desenvolvidas várias iniciativas de BMH, a nível regional e internacional, per-



mitindo a obtenção de dados de exposição humana adequados para a avaliação do risco de várias substâncias químicas. A Iniciativa Europeia em BMH (doravante designada por projeto HBM4EU) decorrida entre 2017 e 2022, foi desenvolvida com o objetivo de coordenar e promover a BMH na Europa e obter evidências científicas que pudessem contribuir para a tomada de decisões políticas e melhorar, assim, a gestão da exposição humana a substâncias química (3). As micotoxinas foram consideradas um grupo de substâncias prioritárias no âmbito desta iniciativa. Dada a grande variedade de compostos químicos incluídos neste grupo, e de acordo com a opinião de várias autoridades europeias de reconhecido mérito científico, foram identificadas como substâncias prioritárias as micotoxinas desoxivalenol (DON) e fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) (4).

Elaborou-se um documento de base (*scoping document*) que reuniu a informação atualizada sobre estes dois compostos, onde se identificaram as principais questões científicas e a forma de contribuir para que as respostas a essas questões pudessem apoiar a decisão política no que se refere à exposição a micotoxinas na Europa. Este documento incluiu uma revisão sobre a caracterização toxicológica, exposição humana, relevância política, metodologias de análise e preocupações com a saúde dos cidadãos relativas aos compostos prioritário (5).

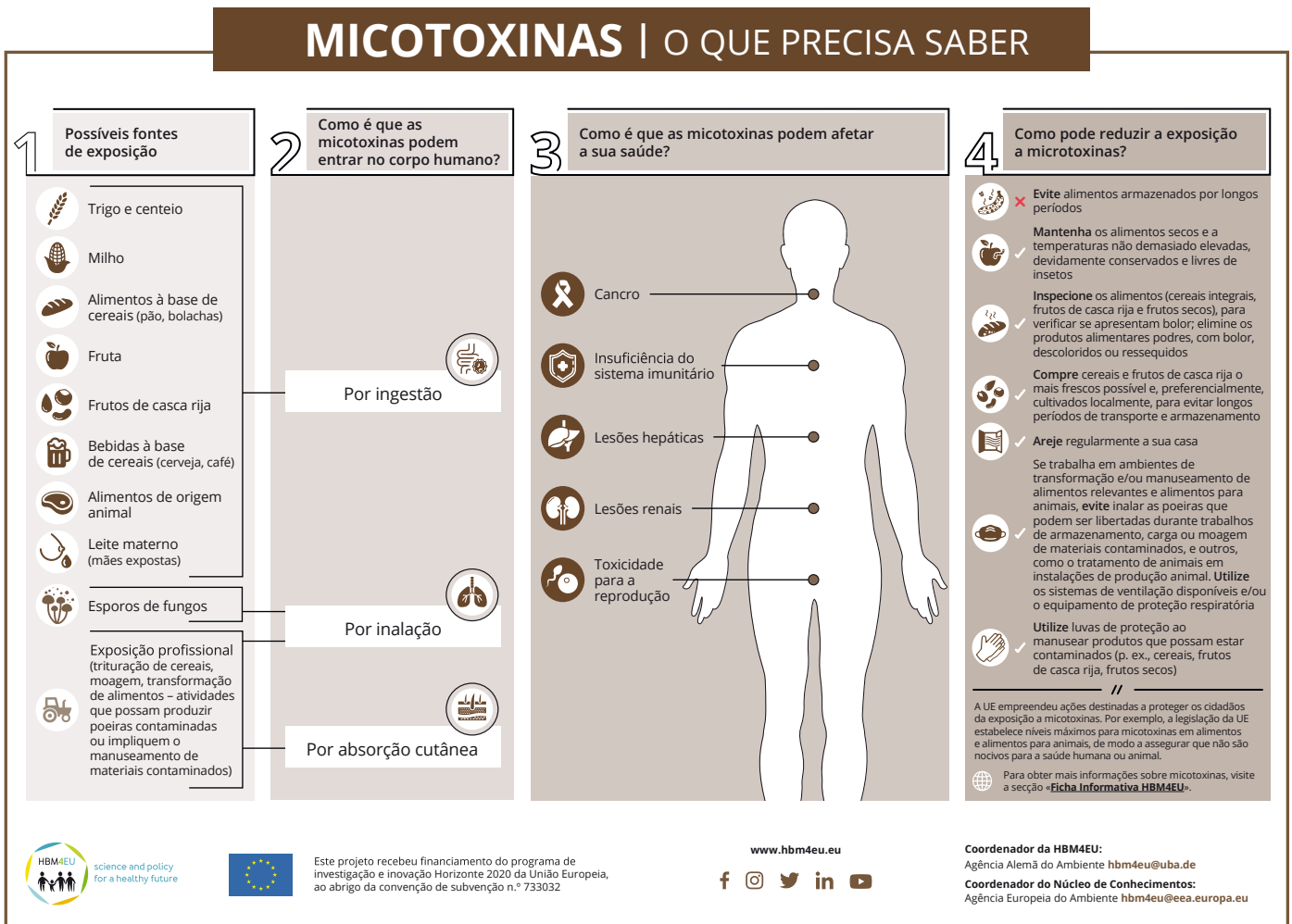
Ambas as micotoxinas, DON e FB<sub>1</sub>, são produzidas por fungos do género *Fusarium* e ocorrem, maioritariamente, em cereais. Os teores máximos destas duas micotoxinas encontram-se legislados em cereais e produtos derivados sendo objeto de programas de controlo oficial na Europa (6). A micotoxina DON ocorre tradicionalmente em trigo, aveia, cevada, milho e produtos derivados, tais como cereais de pequeno-almoço, pão, massas e cerveja, entre outros. Esta micotoxina tem sido considerada como um agente imunotóxico, reprotóxico (tóxico para o sistema reprodutor) e um potencial desregulador endócrino induzindo alterações da homeostase intestinal (7). Não há evidências de que este composto possa ser carcinogénico para humanos e, portanto, foi classificado no Grupo 3 pela Agência Internacional para a Investigação do Cancro (IARC, na sigla em inglês) (8). Tendo em conta a ausência

de dados sobre efeitos crónicos em humanos, foi definida uma dose diária tolerável de grupo (TDI) de 1 µg/kg peso corporal/dia para DON e os seus metabolitos derivados presentes em plantas (designado por DON total). Para a exposição aguda a DON, foi derivada uma dose de referência aguda de grupo de 8 µg/kg peso corporal/dia (7). Segundo um relatório elaborado pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA, na sigla e inglês), foram detetados na Europa valores de exposição crónica média a este composto, através da dieta, superiores ao valor de TDI, em bebés, crianças, adolescentes e adultos expostos a elevadas concentrações de DON, indicando uma potencial preocupação para a saúde humana (7).

As fumonisinas (FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>, FB<sub>3</sub> e FB<sub>4</sub>) estão presentes tradicionalmente em milho e sorgo, sendo a micotoxina FB<sub>1</sub> dominante (9). Este composto é um suspeito agente mutagénico e um composto possivelmente carcinogénico sendo classificado pela IARC no Grupo 2B (10). É teratogénico e está associado a defeitos do tubo neural no feto. Foi estabelecido um valor de grupo TDI de 1 µg/kg peso corporal/dia para FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>, FB<sub>3</sub> e FB<sub>4</sub>. Não se registaram efeitos adversos agudos após a exposição a FB<sub>1</sub>. Na figura 1, ilustram-se as principais informações sobre micotoxinas, fontes e vias de exposição, efeitos na saúde e orientações para a redução da exposição a estes compostos tóxicos, reunidas em documento elaborado no âmbito do HBM4EU.



Figura 1: Ocorrência de micotoxinas, vias de exposição, efeitos na saúde humana e orientações para reduzir a exposição a este grupo de toxinas naturais (infográfico desenvolvido no âmbito do projeto HBM4EU).



Disponível em: <https://www.hbm4eu.eu/infographics/mycotoxins/>

## \_Objetivo

Considerando o conhecimento científico disponível sobre as duas micotoxinas prioritárias, DON e FB<sub>1</sub>, identificadas no âmbito da iniciativa HBM4EU, o presente artigo pretendeu i) identificar as principais questões científicas e/ou regulatórias desenvolvidas no âmbito do projeto HBM4EU sobre micotoxinas e apresentar as respetivas conclusões e publicações relevantes associadas, ii) apresentar os principais resultados dos estudos alinhados realizados, com particular ênfase para os níveis de exposição em Portugal e iii) identificar as perspetivas futuras para a investigação científica em micotoxinas.

## \_Materiais e métodos

Com base num documento exploratório inicial (*background document*) preparado pelos responsáveis do projeto HBM4EU (Agência Alemã do Ambiente, UBA), em colaboração com instituições europeias de reconhecido mérito científico, incluindo o Conselho de Políticas da União Europeia, a EFSA e a Direção-Geral da Saúde e Segurança Alimentar (DG SANTE) foram priorizados os compostos químicos a estudar. Portugal foi selecionado como responsável pelo estudo das micotoxinas no HBM4EU (*Chemical Group Leader, CGL*), através, nomeadamente, de membros do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo



Jorge, INSA e da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, ESTeSL, que prepararam o *scoping document*, identificando as questões científicas e/ou regulatórias a responder ao longo do projeto, bem como as atividades a desenvolver. Foi também criado um grupo de trabalho sobre micotoxinas no âmbito do HBM4EU, reunindo peritos nas diferentes áreas de investigação das referidas questões e integrando, para além das instituições responsáveis, a Universidade de Masaryk (RECETOX), da República Checa, e o Instituto Nacional de Saúde Pública e Ambiente (RIVM) e a Universidade de Wageningen (WFSR), ambos dos Países Baixos.

Os peritos foram participando ou seguindo o trabalho realizado sobre micotoxinas nos vários grupos de trabalho e tarefas do projeto e partilhando, em reuniões de trabalho, os resultados e conhecimentos obtidos. O grupo de trabalho, globalmente, promoveu a discussão crítica em torno dos resultados obtidos e da sua relevância para responder às questões científicas e/ou regulatórias levantadas. Para além disso, e quando possível, foram identificadas novas lacunas e propostas abordagens para as preencher.

## **\_Resultados**

Este artigo resume o resultado do trabalho desenvolvido no âmbito das micotoxinas DON e FB<sub>1</sub>, identificadas como prioritárias em 2019-2020 no segundo processo de priorização do projeto HBM4EU (4).

As atividades do grupo consistiram em reuniões periódicas para partilha do trabalho realizado, participação em reuniões da iniciativa assim como congressos nacionais e internacionais para disseminação dos resultados, colaboração na elaboração de um vídeo sobre os compostos prioritários (<https://www.youtube.com/watch?v=x2uDp281F3E>) e de uma publicação final dos principais resultados em formato de notícia de jornal (<https://www.hbm4eu.eu/wp-content/uploads/2022/05/HBM4EU-Newspaper.pdf>), preparação de brochuras sobre impacto na saúde da exposição a micotoxinas (<https://www.hbm4eu.eu/citizens-corner/infographics/>) e preparação e publicação de relatórios e artigos científicos.

De seguida, apresentam-se as questões científicas e principais resultados, assim como as perspetivas para futuros trabalhos.

### *Questões científicas e principais resultados*

As questões científicas identificadas sobre as micotoxinas prioritárias e referidas na **tabela 1**, basearam-se nas três etapas da avaliação de risco, identificação e caracterização do perigo, avaliação da exposição e caracterização do risco.

Resumidamente (**tabela 1**), os principais resultados relacionados com a micotoxina DON dizem respeito ao aumento do conhecimento sobre a exposição da população europeia e a caracterização do risco associado a essa exposição (11,12,14-18). No que se refere à identificação do perigo associado à exposição a micotoxinas, o trabalho incidiu sobre a FB<sub>1</sub> e a sua associação com o aparecimento de defeitos no feto, após exposição *in utero*. Utilizando os dados disponíveis na literatura sobre o mecanismo de ação desta micotoxina, propôs-se uma via explicativa que fez a ponte entre um evento crítico inicial (inibição de uma enzima crucial no metabolismo dos esfingolípídeos) e o aparecimento de defeitos do tubo neural (13).

De salientar, pela primeira vez para DON, i) a implementação de um programa de controlo de qualidade para assegurar que os resultados das análises efetuadas nos vários laboratórios europeus eram comparáveis (estudo harmonizado), ii) a realização de estudos alinhados em urinas de adultos e iii) a derivação e aplicação, nos estudos alinhados, de um valor de referência (indicativo) para a exposição interna a DON, de 23 µg DON total/L urina, possibilitando a caracterização direta do risco, por comparação dos níveis quantificados com este valor de referência. Dado este valor ter sido obtido para uma amostra de urina de 24 horas e a maioria dos resultados reportados serem obtidos apenas numa amostra de urina o risco estimado está associado a várias incertezas pelo que deverá ser usado com cautela. Espera-se, no entanto, que estes avanços aumentem a confiança e a utilização de dados da BMH para fins regulatórios, ou seja, para avaliação do risco de exposição humana a micotoxinas.



**Tabela 1: Questões científicas, principais respostas e publicações efetuadas no decurso da iniciativa HBM4EU (2017-2022) sobre a exposição humana às micotoxinas prioritárias: desoxinivalenol (DON) e fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>).**

|  | Questões científicas  | Principais respostas   | Publicações |
|--|---|--|-------------|
| Identificação e caracterização do perigo | Estão disponíveis dados de toxicocinética e quais são as suas limitações?   | Foi descrito, pela primeira vez, um modelo toxicocinético que permite comparar os níveis de exposição externa (ingestão de alimentos) e interna (biomarcadores de exposição na urina) a DON. Contudo ainda serão necessárias modificações até poder ser considerado um modelo baseado em condições fisiológicas.   | (11,12)     |
|  | Quais são os eventos iniciais que determinam os efeitos crónicos de saúde associados à exposição humana?                    | Foi descrita, pela primeira vez, uma via explicativa que faz a ponte entre um evento crítico inicial e o aparecimento de defeitos do tubo neural em fetos expostos a FB <sub>1</sub> durante o período intrauterino. Este mecanismo inicia-se com a inibição da ceramida sintetase, enzima fundamental do metabolismo dos esfingolípidos, e inclui duas cadeias de eventos alternativas que conduzem às malformações congénitas. | (13)        |
|  | Quais são os biomarcadores de efeito mais frequentes associados ao desenvolvimento de anomalias congénitas?                 | A quantificação de esfinganina (Sa) e esfingosina (So) e a sua razão são os biomarcadores de efeito mais frequentemente referidos na literatura para a exposição a FB <sub>1</sub> , estando associados à inibição da ceramida sintetase.  | (13)        |
|  | É possível derivar um valor de referência para a biomonitorização humana?   | Foi derivado, pela primeira vez, um valor de referência (indicativo) para a exposição interna da população geral a DON total (incluindo DON livre e os seus metabolitos derivados presentes em plantas) na urina de 24h, de 23 µg DON total/L urina (Intervalo de Confiança 95%: 5-33 µg DON total/L).   | (14)        |
| Avaliação da exposição                   | Estão disponíveis métodos analíticos validados e harmonizados para determinar os biomarcadores de exposição?                | Foram obtidos, pela primeira vez, dados novos de exposição da população europeia a DON total (estudos alinhados), utilizando um método analítico harmonizado após participação e aprovação de quatro laboratórios do HBM4EU num ensaio interlaboratorial interno de controlo de qualidade.   | (15)        |
|  | Quais são os níveis atuais de exposição da população Europeia às micotoxinas em estudo?                                     | De acordo com os estudos alinhados realizados para DON total, em 5 países da Europa (Portugal, França, Alemanha, Polónia, Luxemburgo), no período 2014-2020, para a população adulta (20-39 anos, 1099 indivíduos) os níveis de exposição da apresentaram uma média geométrica de 5,59 µg DON total/L com níveis de 36,15 µg DON total/L para o percentil 95 da população, confirmando a exposição a esta micotoxina.            | (16,17)     |
|  | Será que a exposição humana varia para diferentes grupos populacionais? Quais são os principais determinantes de exposição? | No âmbito dos estudos alinhados foram identificadas variações significativas nos níveis de exposição a DON de acordo com a localização geográfica (Polónia com maior exposição, média geométrica de 9,40 µg/L), nível educacional (níveis superiores com menor exposição), e grau de urbanização (áreas rurais com maior expostas).  | (17)        |
| Caracterização do risco                  | Está o risco associado à exposição humana caracterizado?  | Foi possível, pela primeira vez, comparar os níveis de exposição interna a DON da população Europeia com um valor de referência (indicativo) derivado no HBM4EU. Confirmou-se que a exposição a esta micotoxina representa um potencial risco para uma fração da população. Foram obtidos os primeiros resultados sobre exposição em países da Europa Oriental que revelaram maior exposição.                                    | (16)        |



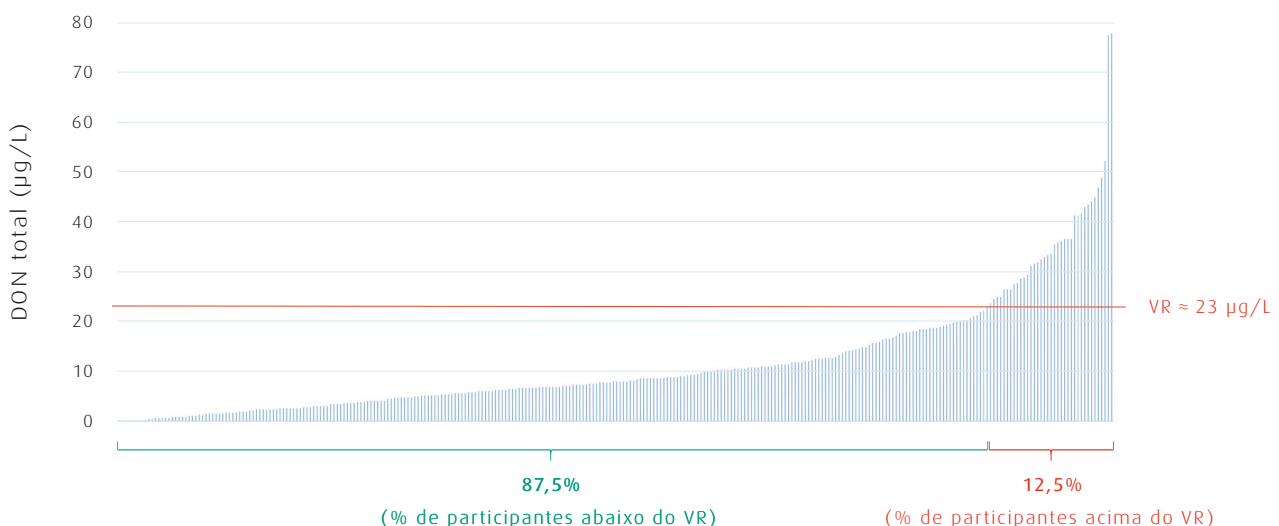
### Estudos alinhados e exposição da população portuguesa a DON

Os resultados dos Estudos Alinhados do HBM4EU, compreendendo 1099 indivíduos de cinco países europeus, permitiram concluir que a população europeia está em média (média geométrica – MG) exposta a um valor de DON total de 5,59 µg/L e que 95% desta (percentil 95) está exposta a um valor igual ou inferior a 36,15 µg/L. No que diz respeito à variabilidade geográfica, foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as diversas regiões, com a Europa ocidental (França, Alemanha e Luxemburgo) apresentando o menor valor de exposição (MG 4,34 µg/L) e a Europa oriental (Polónia) o maior (MG 9,40 µg/L). Em relação aos fatores sociodemográficos, não foi observada diferença significativa quanto ao sexo, mas foram observadas diferenças significativas quanto ao nível de escolaridade e ao grau de urbanização do local de residência do participante. Indivíduos com baixa escolaridade apresentaram níveis de exposição mais elevados do que indivíduos com maior escolaridade; indivíduos residentes em áreas rurais apresentaram níveis de exposição mais elevados do que indivíduos residentes em cidades e vilas/subúrbios. Em relação à época de amostragem, as amostras colhidas no inverno apresentaram níveis mais baixos (16,17).

Comparando os dados dos Estudos Alinhados do HBM4EU com o valor de referência (VR) de BMH de 23 µg DON/L urina, 13,7% dos participantes apresentaram valores superiores ao valor de referência (17) confirmando a necessidade da continuação dos estudos de biomonitorização incluindo não só a DON mas também outras micotoxinas.

Quanto à exposição da população portuguesa a DON total (correspondente a uma amostragem de 295 adultos, com recolha de amostras efetuada entre 2019 e 2020, integrada no âmbito do projeto INSEF-ExpoQuim), um dos Estudos Alinhados do HBM4EU, verificou-se que esta se encontra exposta a níveis médios de DON total de 9,8 µg/L (18). As concentrações de DON total foram significativamente maiores para amostras recolhidas na primavera e no verão. Os indivíduos com menor escolaridade apresentaram maior exposição a DON total. Não se encontraram diferenças significativas quanto ao sexo, idade, grau de urbanização da área de residência, ocupação, rendimento ou consumo de outros alimentos. Comparando os dados deste estudo com o valor de referência de BMH de 23 µg DON total/L urina, 12,5% dos participantes apresentaram valores superiores a este valor (gráfico 1). Os resultados deste estudo mostraram que a população portuguesa esteve exposta a DON, tal como a população Europeia, com

**Gráfico 1:** Comparação dos níveis de exposição da população portuguesa adulta a DON total e valor de referência (VR) derivado no âmbito do projeto HBM4EU (23 µg DON total/L urina), para amostras de urina colhidas a nível nacional, entre 2019 e 2020.





uma proporção significativa de indivíduos a apresentar valores de exposição que justificam uma avaliação mais aprofundada, incluindo uma monitorização da exposição a curto, médio e longo prazo e o desenvolvimento e implementação de orientações políticas destinadas a minimizar a exposição e prevenir efeitos sobre a saúde da população, particularmente num contexto de alteração climática com uma possível alteração do padrão de exposição a micotoxinas.

### **Conclusão e perspetivas futuras**

O presente estudo enfatizou a relevância de conhecer a exposição atual da população europeia a DON e incrementou o interesse no conhecimento da exposição a outras micotoxinas na Europa e à escala mundial. Contribuiu, igualmente, para aumentar a consciencialização sobre os riscos para a saúde humana associados à exposição a esta micotoxina.

No futuro, devem ser desenvolvidos estudos semelhantes, abrangendo um espectro mais amplo de micotoxinas com implicações para a saúde e alargando a cobertura geográfica. Outras oportunidades com interesse para desenvolver futuramente, identificadas durante esta iniciativa, incluíram a necessidade de estabelecer orientações para a criação de campanhas de biomonitorização que permitam uma comparação adequada entre os estudos ao longo do tempo.

A inclusão de dados de BMH na avaliação de risco de micotoxinas é fundamental, pois representa a dose de exposição interna a todas as fontes e por todas as vias de exposição a nível individual, reduzindo assim as incertezas associadas à avaliação de risco realizada a nível populacional (estudos epidemiológicos) e/ou com abordagens indiretas, por exemplo, através da identificação de micotoxinas em alimentos. O impacto das alterações climáticas na exposição da população às micotoxinas também deve ser acompanhado regularmente através de BMH, a fim de permitir aos decisores políticos, tomar, atempadamente e com suporte científico, medidas para prevenir a exposição a micotoxinas e prevenir possíveis patologias associadas, com ganhos previsíveis em saúde pública.

### **Financiamento:**

O projeto HBM4EU recebeu financiamento do programa de investigação e inovação da União Europeia Horizonte 2020 sob o contrato de concessão n.º 733032 e das instituições em que os autores desenvolvem as suas atividades.

Os autores agradecem à FCT/MCTES pelo financiamento com fundos nacionais relativos ao CESAM (UIDP/50017/2020+UIDB/DB/50017/2020) e ToxOmics (UIDB/00009/2020; UIDP/00009/2020).

Baseado no artigo publicado:

Alvito P, Assunção RM, Bajard L, Martins C, Mengelers M, Hans Mol, Van den Brand A, Namorado S, Vasco E, Viegas S, Silva M. *Current advances, research needs and gaps in Mycotoxins Biomonitoring under HBM4EU – lessons learned and future trends*. *Toxins* (Basel). 2022;14(12):826. <https://doi.org/10.3390/toxins14120826>

### **Referências bibliográficas:**

- (1) Hoar S. Job exposure matrix methodology. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1983;21(1-2):9-26. <https://doi.org/10.3109/15563658308990408>
- (2) Ribeiro FS, Wunsch Filho V. Avaliação retrospectiva da exposição ocupacional a cancerígenos: abordagem epidemiológica e aplicação em vigilância em saúde. *Cad Saude Publica*. 2004;20(4):881-90. <https://doi.org/10.1590/s0102-311x2004000400002>
- (3) Ge CB, Friesen MC, Kromhout H, et al. Use and Reliability of Exposure Assessment Methods in Occupational Case-Control Studies in the General Population: Past, Present, and Future. *Ann Work Expo Health*. 2018 Nov 12;62(9):1047-1063. <https://doi.org/10.1093/annweh/wxy080>
- (4) Kauppinen TP. Assessment of exposure in occupational epidemiology. *Scand J Work Environ Health*. 1994;20 Spec No:19-29. <https://www.sjweh.fi/article/1444>
- (5) Neto Ribeiro FS, de Camargo EA, Wunsch Filho V. Delineamento e validação de matriz de exposição ocupacional à sílica. *Rev Saude Publica*. 2005 Feb;39(1):18-26. <https://doi.org/10.1590/s0034-89102005000100003>
- (6) Goldberg M, Kromhout H, Guénel P, et al. Job exposure matrices in industry. *Int J Epidemiol*. 1993;22(Suppl 2):S10-5. [https://doi.org/10.1093/ije/22.supplement\\_2.s10](https://doi.org/10.1093/ije/22.supplement_2.s10)
- (7) Garlandezec R, Multigner L, Labat L, et al. Urinary biomarkers of exposure to glycol ethers and chlorinated solvents during pregnancy: determinants of exposure and comparison with indirect methods of exposure assessment. *Occup Environ Med*. 2012 Jan;69(1):62-70. doi: 10.1136/oem.2010.062315. Epub 2011 Jun 24.
- (8) Seixas NS, Checkoway H. Exposure assessment in industry specific retrospective occupational epidemiology studies. *Occup Environ Med*. 1995 Oct;52(10):625-33. <https://doi.org/10.1136/oem.52.10.625>
- (9) Peters S. Although a valuable method in occupational epidemiology, job-exposure matrices are no magic fix. *Scand J Work Environ Health*. 2020 May 1;46(3):231-234. <https://doi.org/10.5271/sjweh.3894>
- (10) Guseva Canu I, Paquet F, Goldberg M, et al. Comparative assessing for radiological, chemical, and physical exposures at the French uranium conversion plant: Is uranium the only stressor? *Int J Hyg Environ Health*. 2009 Jul;212(4):398-413. Epub 2008 Oct 31. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2008.09.002>
- (11) Descatha A, Fadel M, Sembajwe G, et al. Job-exposure matrix: a useful tool for incorporating workplace exposure data into population health research and practice. *Front Epidemiol*. 2022 Apr;2:857316. <https://doi.org/10.3389/fepep.2022.857316>



artigos breves\_ n. 2

- (12) Toreyin ZN, Godderis L. Occupational exposure assessment to chromium using a job-exposure matrix based approach based on biomonitoring data. *Eur Respir J.* 2020;56:3170. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2020.3170>
- (13) Kreckmann KH, Sakr CJ, Leonard RC, et al. Estimation and validation of biomarker-based exposures for historical ammonium perfluorooctanoate. *J Occup Environ Hyg.* 2009 Sep;6(9):511-6. <https://doi.org/10.1080/15459620903025483>
- (14) Riddell A, Wakeford R, Liu H, et al. Building a job-exposure matrix for early plutonium workers at the Sellafield nuclear site, United Kingdom. *J Radiol Prot.* 2019 Jun;39(2):620-34. <https://doi.org/10.1088/1361-6498/ab1168>
- (15) Florentin A, Zmirou-Navier D; RNV3P members, Paris C. Contribution of job-exposure matrices for exposure assessment in occupational safety and health monitoring systems: application from the French national occupational disease surveillance and prevention network. *Int Arch Occup Environ Health.* 2017 Aug;90(6):491-500. <https://doi.org/10.1007/s00420-017-1215-1>
- (16) Fadel M, Evanoff BA, Andersen JH, et al. Not just a research method: If used with caution, can job-exposure matrices be a useful tool in the practice of occupational medicine and public health? *Scand J Work Environ Health.* 2020 Sep 1;46(5):552-53. <https://doi.org/10.5271/sjweh.3900>

## \_Utilização de biomonitorização humana para avaliação da exposição a cádmio na população portuguesa

### Use of human biomonitoring to evaluate exposure to cadmium in the Portuguese population

Ana Rita Alberto<sup>1,2</sup>, Inês Coelho<sup>3</sup>, Inês Delgado<sup>3</sup>, Sandra Gueifão<sup>3</sup>, Marta Ventura<sup>3</sup>, Susana Silva<sup>4</sup>, Janja Snoj Tratnik<sup>5</sup>, Eva Govarts<sup>6</sup>, Greet Schoeters<sup>6</sup>, Sónia Namorado<sup>4,7,8</sup>

sonia.namorado@insa.min-saude.pt

(1) Instituto de Soldadura e Qualidade, Oeiras, Portugal

(2) Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

(3) Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

(4) Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(5) Department of Environmental Sciences, Jožef Stefan Institute, Eslovénia

(6) VITO Health, Flemish Institute for Technological Research, Bélgica

(7) Centro de Investigação em Saúde Pública, Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

(8) Comprehensive Health Research Center, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

#### \_Resumo

O cádmio é um metal pesado tóxico e carcinogénico, que representa uma ameaça séria para a saúde humana. A população geral pode encontrar-se exposta ao cádmio por diversas vias e o estudo INSEF-ExpoQuim visou caracterizar a exposição da população portuguesa adulta (28-39 anos) a este agente químico através de um estudo transversal. Este estudo incluiu 295 indivíduos, os quais reponderam a um questionário (dados sociodemográficos, de estilos de vida e possíveis vias de exposição) e facultaram uma amostra de urina para quantificação de cádmio por espectrometria de massa com plasma indutivo acoplado (ICP-MS). Observou-se uma média geométrica de 0,092 µg Cd/g creatinina [IC(95%): 0,084-0,101], apresentando as mulheres valores mais elevados (0,103 vs 0,079), bem como os fumadores (0,135 vs 0,081).

#### \_Abstract

Cadmium is a toxic and carcinogenic heavy metal, that presents a serious threat to human health. The general population can be exposed through several pathways and the study INSEF-ExpoQuim aimed to characterise the exposure of the Portuguese adult population (28-29 years) to this chemical agent through the development of a cross-sectional study. This study has included 295 individuals, that have answered to a questionnaire (sociodemographic characteristics, lifestyle and possible exposure sources) and provided a urine sample for the quantification of cadmium by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). A geometric mean of 0.092 µg Cd/g creatinine [95%CI: 0.084-0.101 µg Cd/g creatinine] was observed, with females (0.103 vs 0.079) and smokers (0.135 vs 0.081) presenting higher values.

#### \_Introdução

A ação humana, bem como os fenómenos naturais, podem conduzir à libertação de substâncias químicas para o ambiente que, ao entrar no corpo humano, quer por absorção, inalação ou ingestão, podem causar efeitos adversos na saúde. Nos últimos anos, tem havido uma crescente preocupação relativamente à contaminação ambiental causada por metais pesados, definidos como elementos metálicos (incluindo metalóides) com uma densidade relativamente elevada em comparação com a água e capazes de induzir toxicidade a baixos níveis de exposição (1,2). Um destes poluentes é o cádmio (Cd), metal pesado tóxico e carcinogénico (3), que representa uma séria ameaça para a saúde humana e cujas concentrações no ar, solo, água, plantas e alimentos aumentaram com o rápido desenvolvimento industrial (por exemplo em resultado de atividades como a mineração, fundição, queima de combustíveis fósseis, incineração de resíduos, aterros sanitários, etc.), levando, consequentemente, a uma maior exposição dos seres humanos e outros organismos a este agente químico (4,5). Ao depositar-se no solo agrícola e na água, o cádmio é absorvido pelas plantas, nomeadamente pelo tabaco (que acumula concentrações superiores às acumuladas pelo solo), soja, arroz e verduras folhosas (6). A população em geral pode, portanto, ser exposta através do consumo de



alimentos ou do consumo de tabaco, bem como através do contacto com produtos de consumo contendo cádmio na sua composição (vernizes, esmaltes, tintas para o cabelo, etc.). Os níveis de cádmio nos alimentos dependem de vários fatores, incluindo o tipo de alimento, as condições de cultivo, as práticas agrícolas, as condições meteorológicas, e a contaminação antropogénica do solo ou sistemas aquáticos (3,7,8). A contaminação da água potável e a exposição direta ao ar contribuem tipicamente para uma reduzida fração da exposição (6).

A biomonitorização humana (BMH) possibilita a determinação da exposição interna total a um produto químico resultante de todas as fontes e vias de exposição (9). A concentração de cádmio no sangue reflete parcialmente a carga corporal acumulada nas semanas e meses anteriores (9), enquanto a concentração de cádmio na urina é considerada por muitos autores como um biomarcador adequado de exposição prolongada ao cádmio e reflete a concentração de cádmio no rim, tendo a urina a vantagem de ser uma amostra cuja recolha é não invasiva (6,9,10). No entanto, a concentração de cádmio na urina depende também da diurese e, portanto, é recomendado o ajuste através dos valores da creatinina ou da gravidade específica da urina (10,11). Os valores propostos para a população não profissionalmente exposta, por entidades reconhecidas, estão na gama de 0,6 – 0,8 µg Cd/g creatinina para não fumadores e 1 µg Cd/g creatinina para fumadores (9-13).

Para a definição de estratégias eficazes a nível europeu e global, é urgente caracterizar a exposição da população a agentes químicos perigosos, presentes no ar que inalamos, nos alimentos que ingerimos e nos produtos que utilizamos. Só conhecendo a situação de cada país, é possível planear estratégias e políticas europeias que respondam às necessidades globais e específicas de cada país. Neste sentido, a Comissão Europeia tem desenvolvido várias iniciativas, através do financiamento de projetos europeus, tais como os projetos COPHES e DEMOCOPHES (Demonstração de um estudo para coordenação e desenvolvimento de biomonitorização humana a uma escala europeia) e, mais recentemente, a Iniciativa Europeia em Biomonitorização Humana (HBM4EU) (9,14,15), um programa europeu con-

junto financiado ao abrigo do programa de investigação e inovação Horizonte 2020 da União Europeia. Neste âmbito, foi desenvolvido um estudo com o objetivo de descrever a exposição da população adulta portuguesa, na faixa etária dos 25 aos 39 anos, a vários agentes químicos, incluindo o cádmio, e contribuir para o desenvolvimento de uma plataforma de BMH em Portugal.

### **\_Objetivo**

Este estudo teve como objetivo avaliar a exposição atual a cádmio da população adulta portuguesa (28-39 anos), através da realização de um estudo de biomonitorização humana, utilizando como biomarcador de exposição a concentração de cádmio na urina.

### **\_Material e métodos**

O estudo INSEF-ExpoQuim (Exposição da população portuguesa a químicos ambientais) (15) foi um estudo epidemiológico transversal aninhado no Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico (INSEF) 2015 (16). Para o estudo INSEF-ExpoQuim foram selecionados 863 indivíduos participantes no INSEF potencialmente elegíveis (residente em Portugal nos 3 anos anteriores à participação no estudo, não estar institucionalizado, ter entre 28 e 39 anos, ter conhecimento de português suficiente para poder responder à entrevista e ter consentido ser contactado para participação em estudos futuros). O trabalho de campo foi desenvolvido entre maio de 2019 e março de 2020. Os indivíduos selecionados receberam uma carta de convite e posteriormente foram contactados por telefone para agendamento da colheita da amostra e da entrevista telefónica. As amostras de primeira urina da manhã foram recolhidas juntamente com dados sociodemográficos e sobre condições de vida e histórico residencial, hábitos/estilo de vida, nutrição, saúde, ocupação e informações específicas abrangendo quase todas as vias de exposição. Os dados foram recolhidos através de entrevista telefónica assistida por computador usando o *software* REDCap – *Research Electronic Data Capture* (17).



O INSEF-ExpoQuim foi aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, pelas Comissões de Ética para a Saúde das Administrações Regionais de Saúde, pela Comissão de Ética do Hospital da Horta e pela Comissão de Ética para a Saúde do Serviço de Saúde da Região Autónoma da Madeira.

A concentração de cádmio nas amostras de urina foi determinada por espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo (ICP-MS). O método analítico utilizado demonstrou ter um limite de deteção (LoD) de 0,0075 µg/L e um limite de quantificação (LoQ) de 0,025 µg/L. Nos casos em que as concentrações de cádmio eram inferiores aos limites, foi atribuído um valor correspondente a metade do valor do limite. As concentrações de cádmio foram ajustadas utilizando as concentrações de creatinina.

A análise descritiva das características sociodemográficas dos participantes incluiu o cálculo das frequências absolutas e relativas (percentagens) para as variáveis categóricas. Foi realizada a análise descritiva (N, média geométrica e intervalo de confiança a 95% e valor máximo) das concentrações de cádmio reportadas por volume (µg/L) e ajustadas para a creatinina (µg/g creatinina). A análise foi realizada para o total da amostra e estratificada por sexo, grupo etário, grau de urbanização da área de residência, nível de escolaridade, situação face ao trabalho e consumo de tabaco. As diferenças entre os estratos foram avaliadas através da utilização de testes não paramétricos (Mann-Whitney e Kruskal-Wallis) para as concentrações de cádmio ajustadas para a creatinina. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa informático SPSS considerando um nível de significância de 5%.

## Resultados e discussão

Os participantes no INSEF-ExpoQuim eram maioritariamente do sexo feminino (58,0%), tinham em média 35 anos de idade, 35,9% residiam em áreas rurais e 27,1% em cidades, e a grande maioria encontrava-se empregada (92,8%) (tabela 1). No que respeita ao nível de escolaridade, 43,7% possuíam um nível elevado e 20,0% um nível reduzido,

**Tabela 1:** Caracterização dos participantes no estudo INSEF-ExpoQuim.

| Variável                     | N   | %    |
|------------------------------|-----|------|
| Sexo                         |     |      |
| Masculino                    | 124 | 42,0 |
| Feminino                     | 171 | 58,0 |
| Grupo etário                 |     |      |
| 28-31 anos                   | 70  | 23,7 |
| 32-35 anos                   | 93  | 31,5 |
| 36-39 anos                   | 132 | 44,7 |
| Grau de urbanização          |     |      |
| Cidade                       | 80  | 27,1 |
| Vilas ou subúrbios           | 109 | 36,9 |
| Área rural                   | 106 | 35,9 |
| Nível de escolaridade        |     |      |
| Reduzido (ISCED 0-2)         | 59  | 20,0 |
| Médio (ISCED 3-4)            | 107 | 36,3 |
| Elevado (ISCED ≥ 5)          | 129 | 43,7 |
| Situação perante o trabalho  |     |      |
| Empregado                    | 257 | 92,8 |
| Outra situação               | 20  | 7,2  |
| Consumo de tabaco            |     |      |
| Fumou nas 24h anteriores     | 73  | 24,7 |
| Não fumou nas 24h anteriores | 222 | 75,3 |

demonstrando uma maior participação no estudo de indivíduos com um nível de escolaridade mais elevado. Relativamente ao consumo de tabaco 24,7% dos inquiridos referiram ter consumido tabaco nas 24 horas anteriores à colheita da amostra.

Das 295 amostras analisadas, 281 revelaram valores detetáveis de cádmio, com uma média geométrica de 0,106 µg/L e 0,092 µg/g creatinina (tabela 2). Todos os valores de cádmio se encontravam abaixo do valor de referência derivado no âmbito do projeto HBM4EU (HBM-GV=1 µg/g creatinina) (9). Contudo, considerando os valores alerta por faixa etária derivados no âmbito do projeto HBM4EU (0,3 µg/g creatinina para a faixa etária dos 21 aos 30 anos



de idade e 0,5 µg/g creatinina para a faixa etária dos 31 aos 40 anos de idade), 4 indivíduos (1,4%) apresentaram valores acima dos valores alerta.

De acordo com o apresentado no **gráfico 1**, os resultados obtidos evidenciaram concentrações de cádmio superiores nas mulheres ( $p < 0,001$ ) e no grupo etário dos 36 aos 39 anos ( $p < 0,001$ ), de acordo com resultados de estudos anteriores (18–21). Também em acordo com outros estudos, os indivíduos que referiram ter consumido tabaco nas 24 horas anteriores à colheita da amostra apresentaram níveis de cádmio superiores aos indivíduos que não fumaram ( $p < 0,001$ ) (10,19,22,23). Os valores observados estão

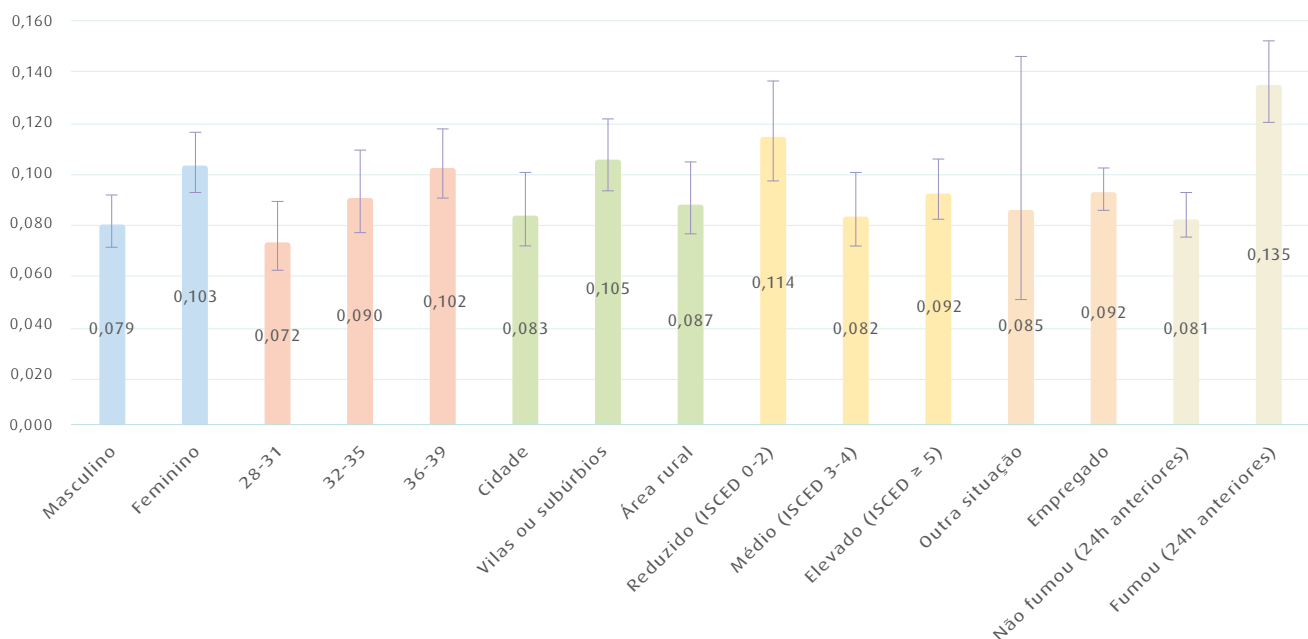
de acordo com os resultados de outros estudos que apresentam dados sobre os níveis de cádmio (11), que referem concentrações (percentil 95) entre 0,6 e 1,2 µg Cd/g de creatinina em não fumadores e entre 0,6 e 1,8 µg Cd/g de creatinina em fumadores. Alguns destes estudos referem a ocorrência de concentrações de cádmio superiores nas mulheres, muito provavelmente devido a uma maior absorção do cádmio e uma menor excreção da creatinina (11). Já no que respeita ao grau de urbanização da área de residência, ao nível de escolaridade e à situação face ao trabalho não se observaram diferenças com significado estatístico.

Tabela 2: ▾ Concentração de cádmio na urina em µg/L e em µg/g de creatinina.

|                               | N   | N < LOD | N < LOQ | MG    | IC95%       | P95   | Máx. |
|-------------------------------|-----|---------|---------|-------|-------------|-------|------|
| Cd na urina (µg/L)            | 295 | 12      | 14      | 0,106 | 0,095-0,119 | 0,402 | 0,76 |
| Cd na urina (µg/g creatinina) | 295 | 12      | 14      | 0,092 | 0,084-0,101 | 0,281 | 0,77 |

MG: média geométrica; IC95%: intervalo de confiança a 95%; P95: percentil 95; Máx.: máximo.

Gráfico 1: ▾ Médias geométricas das concentrações de cádmio na urina em µg/g de creatinina estratificada por sexo, grupo etário, grau de urbanização da área de residência, nível de escolaridade, situação face ao trabalho e consumo de tabaco.





## Conclusões

Os resultados deste estudo demonstraram que as concentrações de cádmio determinadas para a população portuguesa se encontram abaixo dos valores de referência não indiciando risco para a saúde. Foi possível confirmar também, à semelhança do reportado noutros estudos, níveis de cádmio na urina mais elevados em indivíduos de faixa etária mais avançada, com hábitos tabágicos (consumo de tabaco nas 24 horas anteriores à colheita da amostra) e do sexo feminino.

Face às constantes alterações a que o ser humano está sujeito (alterações nos hábitos alimentares, hábitos de consumo, alterações climáticas, etc.), é importante investir em estudos de biomonitorização humana e continuar esta avaliação de forma a confirmar os resultados obtidos ao longo do tempo.

## Financiamento:

O estudo INSEF-ExpoQuim foi cofinanciado no âmbito do projeto HBM4EU, que recebeu financiamento do programa de investigação e inovação Horizonte 2020 da União Europeia, ao abrigo da convenção de subvenção n.º 733032. O INSEF foi desenvolvido como parte integrante do projeto *Improvement of epidemiological health information to support public health decision and management in Portugal Towards reduced inequalities, improved health, and bilateral cooperation*, tendo beneficiado de um apoio financeiro de 1 500 000 euros concedido pela Islândia, Liechtenstein e Noruega, através das EEA Grants.

## Agradecimento:

Os autores agradecem a todos os participantes no projeto INSEF-ExpoQuim.

## Referências bibliográficas:

- (1) Duffus JH. "Heavy Metals" – A Meaningless Term? Pure Appl Chem. 2002;74(5): 793-807. <http://dx.doi.org/10.1351/pac200274050793>
- (2) Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, et al. Heavy metal toxicity and the environment. Exp Suppl. 2012;101:133-64. [https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6)
- (3) WHO International Agency for Research on Cancer. Arsenic, metals, fibres and dusts: a review of human carcinogens. Lyon: IARC, 2012. pp. 121-41. (IARC Monogr Eval Carcinog Risks To Humans;100 C). <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono100C.pdf>
- (4) Wang M, Chen Z, Song W, et al. A review on Cadmium Exposure in the Population and Intervention Strategies Against Cadmium Toxicity. Bull Environ Contam Toxicol. 2021 Jan;106(1):65-74. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-03088-1>
- (5) Järup L, Hellström L, Alfvén T, et al. Low level exposure to cadmium and early kidney damage: the OSCAR study. Occup Environ Med. 2000 Oct;57(10):668-72. Erratum in: Occup Environ Med 2002 Jul;59(7):497. <https://doi.org/10.1136/oem.57.10.668>
- (6) Adams SV, Newcomb PA. Cadmium blood and urine concentrations as measures of exposure: NHANES 1999-2010. J Expo Sci Environ Epidemiol. 2014 Mar-Apr;24(2):163-70. Epub 2013 Sep 4. <https://doi.org/10.1038/jes.2013.55>
- (7) United Nations Environment Programme. Final Review of Scientific Information on Cadmium - Version of December 2010. Nairobi: UNEP, 2010. <https://wedocs.unep.org/20.500.11822/27636>
- (8) European Food Safety Authority. Cadmium in food - Scientific opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. EFSA J. 2009;980:1-139. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.980>
- (9) Lamkarkach F, Ougier E, Garnier R, et al. Human biomonitoring initiative (HBM4EU): Human biomonitoring guidance values (HBM-GVs) derived for cadmium and its compounds. Environ Int. 2021 Feb;147:106337. Epub 2020 Dec 30. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106337>
- (10) Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail. Evaluation of biomarkers and recommendations for biological limit values and biological reference: collective expert appraisal: summary of discussion with conclusions. Paris, ANSES, 2014. <https://www.anses.fr/en/system/files/VLEP2007SA0425RaEn.pdf>
- (11) European Chemicals Agency. Scientific Report for evaluation of limit values for cadmium and its inorganic compounds at the workplace. Helsinki: ECHA, 2020. <https://echa.europa.eu/documents/10162/2c23f940-fff8-59ab-43b1-05aadb30042e>
- (12) Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail. Exposition au cadmium Propositions de valeurs toxicologiques de référence par ingestion, de valeurs sanitaires repères dans les milieux biologiques (sang, urines, ...): rapport d'expertise collective. Paris, ANSES, 2017. <https://www.anses.fr/fr/system/files/VSR2015SA0140Ra-1.pdf>
- (13) Drexler H, Lämmlein P, Nasterlack M, et al; MAK Commission. Addendum to Cadmium and its inorganic compounds [BAT Value Documentation, 2011]. MAK-Collection Occup Heal Saf. 2016 Apr;1(2):1166-81. <https://doi.org/10.1002/3527600418.bb744043vere1815>
- (14) Gilles L, Govarts E, Rambaud L, et al. HBM4EU combines and harmonises human biomonitoring data across the EU, building on existing capacity - The HBM4EU survey. Int J Hyg Environ Health. 2021 Aug;237:113809. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2021.113809>
- (15) Gilles L, Govarts E, Rodriguez Martin L, et al. Harmonization of Human Biomonitoring Studies in Europe: Characteristics of the HBM4EU-Aligned Studies Participants. Int J Environ Res Public Health. 2022 Jun 1;19(11):6787. <https://doi.org/10.3390/ijerph19116787>
- (16) Nunes B, Barreto M, Gil AP, et al. The first Portuguese National Health Examination Survey (2015): design, planning and implementation. J Public Health (Oxf). 2019 Sep 30;41(3):511-17. <https://doi.org/10.1093/pubmed/fdy150>
- (17) Harris PA, Taylor R, Thielke R, et al. Research electronic data capture (REDCap) - a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. J Biomed Inform. 2009 Apr;42(2):377-81. Epub 2008 Sep 30. <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2008.08.010>



artigos breves\_ n. 3

- (18) Vahter M, Gochfeld M, Casati B, et al. Implications of gender differences for human health risk assessment and toxicology. *Environ Res.* 2007 May;104(1):70-84. Epub 2006 Nov 13. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.10.001>
- (19) Olsson IM, Bensryd I, Lundh T, et al. Cadmium in blood and urine-impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking--association of renal effects. *Environ Health Perspect.* 2002 Dec;110(12):1185-90. <https://doi.org/10.1289/ehp.021101185>
- (20) Vacchi-Suzzi C, Kruse D, Harrington J, et al. Is Urinary Cadmium a Biomarker of Long-term Exposure in Humans? A Review. *Curr Environ Health Rep.* 2016 Dec;3(4):450-458. <https://doi.org/10.1007/s40572-016-0107-y>. Erratum in: *Curr Environ Health Rep.* 2016 Dec;3(4):493-94
- (21) Nisse C, Tagne-Fotso R, Howsam M; Members of Health Examination Centres of the Nord – Pas-de-Calais region network, Richeval C, Labat L, Leroyer A. Blood and urinary levels of metals and metalloids in the general adult population of Northern France: The IMEPOGE study, 2008-2010. *Int J Hyg Environ Health.* 2017 Apr;220(2 Pt B):341-63. Epub 2016 Oct 3. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.09.020>
- (22) Pepić E, Šečić D, Lepara O, et al. Smoking effect on the cadmium and zinc concentration in smokers and nonsmokers. *Glas hem tehnol Bosne Herceg.* 2021;57:17-26. <https://doi.org/10.35666/2232-7266.2021.57.03>
- (23) Richter P, Faroon O, Pappas RS. Cadmium and Cadmium/Zinc Ratios and Tobacco-Related Morbidities. *Int J Environ Res Public Health.* 2017 Sep 29;14(10): 1154. <https://doi.org/10.3390/ijerph14101154>

## \_Exposição a arsénio na população portuguesa: resultados preliminares do estudo INSEF-ExpoQuim

### *Arsenic exposure in the Portuguese population: INSEF-ExpoQuim preliminary results*

Sónia Namorado<sup>1,2,3</sup>, Inês Delgado<sup>4</sup>, Inês Coelho<sup>4</sup>, Sandra Gueifão<sup>4</sup>, Marta Ventura<sup>4</sup>, Clara Alves Alves<sup>5</sup>, Emília Castilho<sup>6</sup>, Eugénio Cordeiro<sup>7</sup>, Ana Dinis<sup>8</sup>, Bruna Gouveia<sup>9</sup>, Tamara Prokopenko<sup>10</sup>, Patrícia Vargas<sup>11</sup>, Susana Silva<sup>1</sup>

sonia.namorado@insa.min-saude.pt

- (1) Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal  
(2) Centro de Investigação em Saúde Pública, Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal  
(3) Centro de Investigação Integrada em Saúde, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal  
(4) Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal  
(5) Departamento de Saúde Pública, Administração Regional de Saúde do Norte, Porto, Portugal  
(6) Departamento de Planeamento e Saúde Pública, Administração Regional de Saúde do Algarve, Faro, Portugal  
(7) Departamento de Saúde Pública, Administração Regional de Saúde do Centro, Coimbra, Portugal  
(8) Departamento de Saúde Pública, Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, Lisboa, Portugal  
(9) Instituto de Administração de Saúde, Secretaria Regional da Saúde, Funchal, Portugal  
(10) Departamento de Saúde Pública, Administração Regional de Saúde do Alentejo, Évora, Portugal  
(11) Direção Regional da Saúde, Secretaria Regional da Saúde, Angra do Heroísmo, Portugal

### \_Resumo

O arsénio é um elemento naturalmente presente no meio ambiente e que também pode ser libertado em resultado de atividades antropogénicas, podendo encontrar-se na forma de compostos orgânicos ou inorgânicos. O arsénio é considerado pela Organização Mundial de Saúde como um dos dez químicos de maior preocupação para a saúde pública, uma vez que o arsénio e os compostos inorgânicos de arsénio estão classificados como cancerígenos pela Agência Internacional para a Investigação do Cancro. A exposição a arsénio inorgânico ocorre principalmente por via alimentar, através do consumo de água e de alimentos contaminados. Em Portugal são escassos os dados sobre a exposição a arsénio na população geral, pelo que o objetivo do presente estudo é a caracterização da exposição da população adulta portuguesa a arsénio, utilizando amostras de urina colhidas num estudo populacional nacional (INSEF-ExpoQuim). O presente trabalho incluiu 171 participantes do estudo INSEF-ExpoQuim que forneceram uma amostra de urina para análise da concentração de arsénio total por espectrometria de massa com plasma indutivo acoplado (ICP-MS). Observou-se uma média geométrica de 47,1 µg As/L [IC95%: 41,4-53,5] e 8,8% dos indivíduos apresentavam valores de arsénio considerados elevados. Não se observaram diferenças nos níveis de arsénio por sexo, grupo etário, grau de urbanização da área de residência, nível de escolaridade e situação face ao trabalho. Os resultados preliminares obtidos apontam para a necessidade de monitorização dos níveis de arsénio na população portuguesa.

### \_Abstract

Arsenic is an element naturally present in the environment, but it can also be released as a result of anthropogenic activities. In the environment, arsenic can be found in the form of organic compounds and in the form of inorganic compounds. Arsenic is considered by the World Health Organ-

ization as one of the ten chemicals of greatest concern for public health, since arsenic and inorganic arsenic compounds are classified as carcinogenic by the International Agency for Research on Cancer. Exposure to inorganic arsenic occurs mainly through food, through consumption of contaminated water and contaminated food. In Portugal, data on arsenic exposure in the general population are scarce, so the aim of the present study is to characterize the exposure of the Portuguese adult population to arsenic, using urine samples collected in a national population study (INSEF-ExpoQuim). The present work included 171 participants in the INSEF-ExpoQuim study who provided a urine sample for analysis of total arsenic concentration by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). A geometric mean of 47.1 µg As/L [95% CI: 41.4-53.5] was observed and 8.8% of the individuals had arsenic levels considered high. No differences were observed in arsenic levels by sex, age group, degree of urbanization of the area of residence, educational level and employment situation. The obtained preliminary results point to the need of monitoring the levels of arsenic in the Portuguese population.

### \_Introdução

O arsénio é um elemento naturalmente presente no meio ambiente, mas que também pode ser libertado em resultado de atividades antropogénicas como a mineração, fundição de minério e outras atividades industriais. O arsénio é utilizado industrialmente na produção de vidro, pigmentos, têxteis, papel, adesivos metálicos, conservantes de madeira e munições. Também é utilizado no processo de



curtimento de peles e, de forma limitada, em pesticidas, aditivos para rações e produtos farmacêuticos (1,2).

No ambiente o arsénio pode encontrar-se quer na forma de compostos orgânicos quer na forma de compostos inorgânicos, sendo os compostos inorgânicos os que causam maior preocupação dada a sua toxicidade. A exposição a arsénio inorgânico ocorre principalmente através do consumo de água e de alguns alimentos, como o arroz e algumas frutas. Também é possível que a exposição ocorra através do consumo de outros alimentos, como peixe, marisco, carne, produtos lácteos e cereais. Outras vias de exposição possíveis são o consumo de tabaco, e o contacto com solo contaminado ou com madeira preservada com compostos de arsénio (1,2).

O arsénio é considerado pela Organização Mundial de Saúde como um dos dez químicos de maior preocupação para a saúde pública (2). Os primeiros sintomas da exposição crónica a arsénio inorgânico são habitualmente observados na pele e incluem alterações de pigmentação, lesões dérmicas e manchas nas palmas das mãos e solas dos pés (hiperqueratose) (2,3). O arsénio e os compostos inorgânicos de arsénio encontram-se classificados como cancerígenos (Grupo 1) pela Agência Internacional para a Investigação do Cancro (IARC) (4). Outros efeitos adversos na saúde que poderão estar associados à exposição crónica a arsénio incluem diabetes, doença pulmonar, doença cardiovascular, e alterações no desenvolvimento (2).

Assim, é importante que a exposição a arsénio seja avaliada e se necessário reduzida. Para a avaliação da exposição podem ser usados estudos de biomonitorização humana que permitem a determinação da exposição interna total a uma substância química resultante de todas as fontes e vias de exposição. Os níveis de arsénio na urina são indicativos da exposição nos dois ou três dias anteriores à colheita (5).

Vários estudos populacionais avaliaram os níveis de arsénio na urina em indivíduos não ocupacionalmente expostos. Os dois estudos mais abrangentes são o *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) (6) nos EUA e o

*Canadian Health Measures Survey* no Canadá (7). Como exemplos adicionais existem ainda estudos realizados na Coreia (KNHANES, (8)), França (Esteban (9), IMEPOGE (10)), Bélgica (FLEHS (11)) e Alemanha (GerES III (12)). Em Portugal, apenas dois estudos realizados em trabalhadores de minas da região Centro (Mina da Panasqueira) e do sul do país e que incluíram grupos de controlo sem exposição ocupacional produziram resultados sobre os níveis de arsénio na urina (13,14).

Assim, considerando a escassez de dados sobre a exposição a arsénio na população portuguesa é urgente a caracterização desta exposição por forma a permitir realizar a avaliação do risco associado e se necessário, apoiar o desenvolvimento de medidas políticas que visem minimizar a exposição a este químico e contribuir para a melhoria da saúde da população.

### **\_Objetivo**

O objetivo do presente estudo é a caracterização da exposição da população adulta portuguesa (28-39 anos de idade) a arsénio, utilizando amostras de urina colhidas no estudo INSEF-ExpoQuim.

### **\_Material e métodos**

Neste estudo utilizaram-se amostras colhidas no estudo Exposição da população portuguesa a químicos ambientais: um estudo aninhado no INSEF 2015 (INSEF-ExpoQuim) (15). O INSEF-ExpoQuim é um estudo epidemiológico transversal aninhado no Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico (INSEF 2015) (16). Dos participantes no INSEF 2015 foram selecionados 863 indivíduos potencialmente elegíveis para o estudo INSEF-ExpoQuim. Os critérios de inclusão eram residir em Portugal nos três anos anteriores à participação no estudo, não estar institucionalizado, ter entre 28 e 39 anos, ter conhecimento de português suficiente para poder responder à entrevista e ter consentido ser contactado para participação em estudos futuros. Foi enviada uma carta de convite aos indivíduos selecionados e posteriormente foi realizado um contacto telefónico para agendamento da entrevista telefónica e da colheita da



amostra de primeira urina da manhã. Na entrevista telefónica foram colhidos dados sociodemográficos e sobre condições de habitação, histórico residencial, hábitos/estilos de vida, nutrição, saúde, ocupação e informações específicas relacionadas com possíveis vias de exposição, através de entrevista telefónica assistida por computador usando o software REDCap – *Research Electronic Data Capture* (17). O trabalho de campo decorreu entre maio de 2019 e março de 2020.

O estudo INSEF-ExpoQuim foi aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, pelas Comissões de Ética para a Saúde das Administrações Regionais de Saúde, pela Comissão de Ética do Hospital da Horta e pela Comissão de Ética para a Saúde do Serviço de Saúde da Região Autónoma da Madeira.

Os teores de arsénio total foram determinados em 171 das 295 amostras de urina recolhidas no estudo INSEF-ExpoQuim, encontrando-se as restantes amostras a ser analisadas. As análises foram realizadas por espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo (ICP-MS), com um limite de quantificação (LoQ) de 1,3 µg/L. Todas as amostras analisadas tiveram concentrações acima do LoQ. As concentrações de arsénio foram ajustadas utilizando as concentrações de creatinina.

Foi realizada a análise descritiva das variáveis sociodemográficas, que incluiu o cálculo das frequências absolutas e relativas (percentagens). Foi realizada a análise descritiva (N, média geométrica e intervalo de confiança a 95%, percentis e valores mínimo e máximo) das concentrações de arsénio reportadas por volume (µg/L) e ajustadas para a creatinina (µg/g creatinina). A análise foi realizada para o total da amostra e estratificada por sexo, grupo etário, grau de urbanização da área de residência, nível de escolaridade e situação face ao trabalho. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa informático SPSS considerando um nível de significância de 5%.

## \_Resultados e discussão

Os 171 participantes do INSEF-ExpoQuim eram maioritariamente do sexo feminino (56,7%), tinham em média 35 anos de idade e a grande maioria encontrava-se empregada (90,1%) (tabela 1). Relativamente ao grau de urbanização da zona de residência, cerca de um terço (33,9%) residia em zonas rurais, 42,1% em vilas ou subúrbios e 24,0% em cidades. No que respeita ao nível de escolaridade, 16,4% dos participantes possuíam um nível reduzido de escolaridade e 46,8% um nível elevado, demonstrando uma maior participação no estudo de indivíduos com um nível de escolaridade mais elevado.

De acordo com os resultados preliminares obtidos, todas as amostras analisadas revelaram níveis detetáveis de arsénio, com uma média geométrica de 53,1 µg/L (IC95%: 46,2-61,1) e de 47,1 µg/g de creatinina (IC95%: 41,4-53,5) e um percentil 95 de 277,2 µg/L e de 258,3 µg/g de creatinina (tabela 2).

Tabela 1: Caracterização dos participantes (n=171) no estudo INSEF-ExpoQuim.

| Variável                    | N   | %    |
|-----------------------------|-----|------|
| Sexo                        |     |      |
| Masculino                   | 74  | 43,3 |
| Feminino                    | 97  | 56,7 |
| Grupo etário                |     |      |
| 28-31 anos                  | 32  | 18,7 |
| 32-35 anos                  | 60  | 35,1 |
| 36-39 anos                  | 79  | 46,2 |
| Grau de urbanização         |     |      |
| Cidade                      | 41  | 24,0 |
| Vilas ou subúrbios          | 72  | 42,1 |
| Área rural                  | 58  | 33,9 |
| Nível de escolaridade       |     |      |
| Reduzido (ISCED 0-2)        | 28  | 16,4 |
| Médio (ISCED 3-4)           | 63  | 36,8 |
| Elevado (ISCED ≥ 5)         | 80  | 46,8 |
| Situação perante o trabalho |     |      |
| Empregado                   | 146 | 90,1 |
| Outra situação              | 16  | 9,9  |



Tabela 2: Concentração de arsénio (As) total na urina em  $\mu\text{g/L}$  e em  $\mu\text{g/g}$  de creatinina.

|   | N   | MG   | IC95%     | Mín. | P50  | P90   | P95   | Máx.  |
|---|-----|------|-----------|------|------|-------|-------|-------|
| As total na urina ( $\mu\text{g/L}$ )           | 171 | 53,1 | 46,2-61,1 | 3,80 | 50,0 | 180,6 | 277,2 | 553,0 |
| As total na urina ( $\mu\text{g/g}$ creatinina) | 171 | 47,1 | 41,4-53,5 | 5,79 | 41,2 | 155,3 | 258,3 | 468,1 |

MG: média geométrica; IC95%: intervalo de confiança a 95%; Mín.: mínimo; P50: percentil 50; P90: percentil 90; P95: percentil 95; Máx.: máximo.

Os valores obtidos no presente estudo estão de acordo com os obtidos num dos dois estudos realizados em Portugal em trabalhadores de minas da região Centro (Mina da Panasqueira) e do sul do país e que incluíram grupos de controlo sem exposição ocupacional, que mostraram níveis médios de arsénio de  $60,17 \mu\text{g/g}$  de creatinina (13) e de cerca de  $4 \mu\text{g/g}$  de creatinina (14) respetivamente. No entanto estes estudos tinham um tamanho amostral pequeno ( $n=40$ ) e foram realizados em zonas geográficas circunscritas. Por outro lado, os níveis observados no presente estudo são superiores aos observados noutros estudos europeus e internacionais (tabela 3).

Os níveis de arsénio na urina foram classificados de acordo com a classificação definida pelo Centro de Controlo e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos com base nos resultados do programa *National Health*

*and Nutrition Examination Survey* (NHANES) (18), tendo-se verificado que embora cerca de metade dos indivíduos apresentassem níveis considerados normais, 8,8% apresentavam níveis considerados elevados (gráfico 1).

Os resultados obtidos evidenciaram níveis médios de arsénio superiores no sexo feminino ( $49,3 \mu\text{g/g}$  creatinina vs  $44,3 \mu\text{g/g}$  creatinina) e no grupo etário dos 36 aos 39 anos, embora as diferenças observadas não tivessem significado estatístico (gráfico 2). Relativamente ao grau de urbanização da área de residência também não se observaram diferenças significativas entre os indivíduos participantes. Observou-se um aumento nos níveis de arsénio com o grau de escolaridade e os indivíduos empregados apresentavam níveis de arsénio mais elevados, mas as diferenças observadas não tinham significado estatístico.

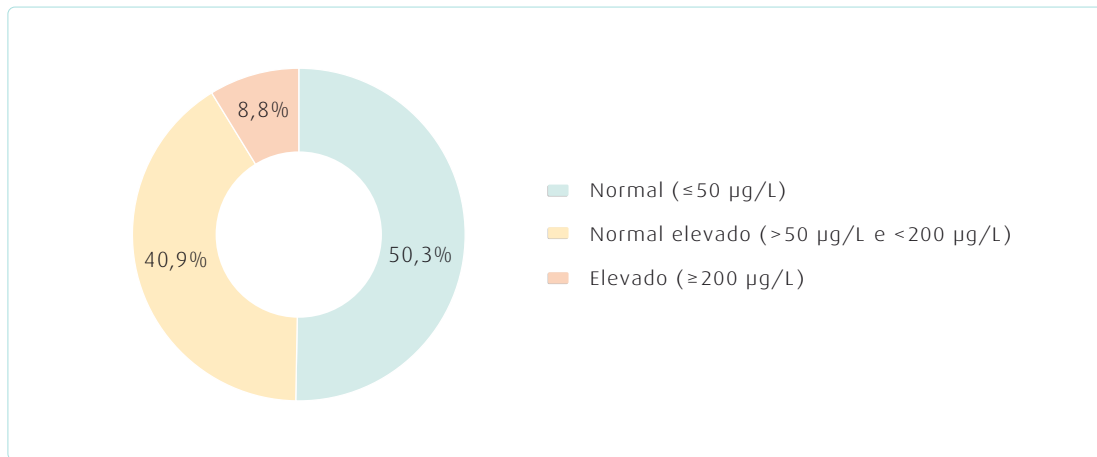
Tabela 3: Concentrações de arsénio na urina obtidas em estudos europeus e internacionais.

| Nome do estudo | País                      | Período   | N    | Média geométrica [IC95%] de arsénio na urina ( $\mu\text{g/L}$ )        |
|----------------|---------------------------|-----------|------|---|
| IMEPOGE (10)   | França                    | 2008-2010 | 1910 | 18,2 [17,4-19,1]  |
| Esteban (9)    | França                    | 2014-2016 | 2419 | 20,82 [19,38-22,37] (27,74 [25,87-29,73] $\mu\text{g/g}$ de creatinina) |
| FLESH (11)     | Bélgica                   | 2007-2011 | 194  | 17,2 [14,9-19,8]  |
| GERS III (12)  | Alemanha                  | 1998      | 4741 | 3,08 [3,00-3,16]  |
| NHANES (6)     | Estados Unidos da América | 2017-2018 | 1703 | 6,73 [5,96-7,60] (7,19 [6,23-8,29] $\mu\text{g/g}$ de creatinina)       |
| CHMS (7)       | Canadá                    | 2009-2011 | 5738 | 9,2 [7,7-11,0]  |
| KNHANES (8)    | Coreia                    | 2009-2011 | 6288 | 35,0 [33,8-36,2]  |

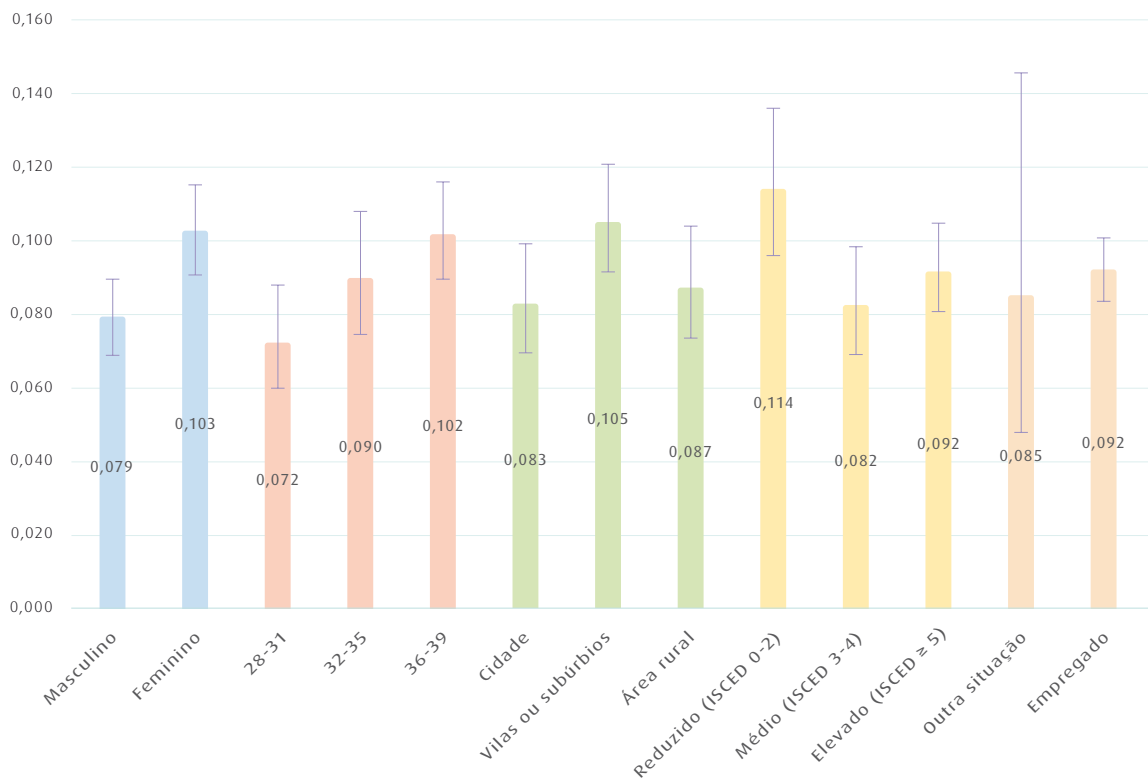
IC95%: Intervalo de confiança a 95%; NHANES: *National Health and Nutrition Examination Survey*; CHMS: *Canadian Health Measures Survey*; KNHANES: *Korean National Health and Nutrition Examination Survey*.



**Gráfico 1:** Distribuição dos níveis de arsénio na urina em  $\mu\text{g/L}$  pelas categorias definidas pelo Centro de Controlo e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos com base nos resultados do programa *National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)*.



**Gráfico 2:** Médias geométricas das concentrações de arsénio na urina em  $\mu\text{g/g}$  de creatinina estratificadas por sexo, grupo etário, grau de urbanização da área de residência, nível de escolaridade e situação face ao trabalho.





## \_Conclusão

Os resultados preliminares obtidos apontam para uma exposição a arsénio na população portuguesa mais elevada do que a observada noutros países.

Considerando que cerca de 9% dos participantes apresentavam valores elevados de exposição será importante a realização de um estudo subsequente de avaliação do risco associado a esta exposição e a realização de estudos futuros de monitorização dos níveis de exposição, assim como de estudos de especificação para identificação das espécies de arsénio presentes uma vez que neste estudo foram apenas determinados os níveis de arsénio total.

## Financiamento:

O estudo INSEF-ExpoQuim foi cofinanciado no âmbito do projeto HBM4EU, que recebeu financiamento do programa de investigação e inovação Horizonte 2020 da União Europeia, ao abrigo da convenção de subvenção n.º 733032. O INSEF foi desenvolvido como parte integrante do projeto *Improvement of epidemiological health information to support public health decision and management in Portugal Towards reduced inequalities, improved health, and bilateral cooperation*, tendo beneficiado de um apoio financeiro de 1 500 000 euros concedido pela Islândia, Liechtenstein e Noruega, através das EEA Grants.

## Agradecimentos:

Os autores agradecem a todos os participantes no estudo INSEF-ExpoQuim.

## Referências bibliográficas:

- (1) U.S. Centers for Disease Control and Prevention. National Biomonitoring Program - Arsenic factsheet [online]. [consult. 22/11/2022]. [https://www.cdc.gov/biomonitoring/Arsenic\\_FactSheet.html](https://www.cdc.gov/biomonitoring/Arsenic_FactSheet.html)
- (2) World Health Organization. Fact sheet - Arsenic [online]. (consult. 7/12/2022). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/arsenic#:~:text=In%20additio n%20to%20skin%20cancer,water%20is%20carcinogenic%20to%20humans>
- (3) United Nations Children's Fund, World Health Organization. Arsenic Primer: Guidance on the Investigation & Mitigation of Arsenic Contamination. New York: UNICEF/WHO, 2018. <https://www.unicef.org/media/91296/file/UNICEF-WHO-Arsenic-Primer.pdf>
- (4) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Arsenic, Metals, Fibres and Dusts: Arsenic and Arsenic compounds. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2012 (upload 2018);100 (Pt C-6):41-93. <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono100C-6.pdf>
- (5) Government of Western Australia. Department of Mines, Industry Regulation and Safety. Health Monitoring – Arsenic (inorganic) A Guide for Registered Medical Practitioners [online]. (consult. 24/11/2022). <https://www.commerce.wa.gov.au/worksafe/health-monitoring-arsenic-inorganic-guide-registered-medical-practitioners>
- (6) U.S. Centers for Disease Control and Prevention. National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals: Biomonitoring Data Tables for Environmental Chemicals [online]. (consult. 24/11/2022). [https://www.cdc.gov/exposurereport/data\\_tables.html#print](https://www.cdc.gov/exposurereport/data_tables.html#print)
- (7) Saravanabhavan G, Werry K, Walker M, et al. Human biomonitoring reference values for metals and trace elements in blood and urine derived from the Canadian Health Measures Survey 2007-2013. Int J Hyg Environ Health. 2017 Mar;220(2 Pt A):189-200. Epub 2016 Oct 17. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.10.006>
- (8) Park C, Hwang M, Kim H, et al. Early snapshot on exposure to environmental chemicals among Korean adults-results of the first Korean National Environmental Health Survey (2009-2011). Int J Hyg Environ Health. 2016 Jul;219(4-5):398-404. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.04.001>
- (9) Fillol C, Balicco A, Oleko A, et al. Imprégnation de la population française par l'arsenic. Programme National de Biosurveillance, Esteban 2014-2016. Saint-Maurice: Santé Publique France, 2021. <https://www.santepubliquefrance.fr/docs/impregnation-de-la-population-francaise-par-l-arsenic.-programme-national-de-biosurveillance-esteban-2014-2016>
- (10) Nisse C, Tagne-Fotso R, Howsam M; Members of Health Examination Centres of the Nord – Pas-de-Calais region network, Richeval C, Labat L, Leroyer A. Blood and urinary levels of metals and metalloids in the general adult population of Northern France: The IMEPOGE study, 2008-2010. Int J Hyg Environ Health. 2017 Apr;220(2 Pt B):341-363. Epub 2016 Oct 3. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.09.020>
- (11) Baeyens W, Vrijens J, Gao Y, et al. Trace metals in blood and urine of newborn/mother pairs, adolescents and adults of the Flemish population (2007-2011). Int J Hyg Environ Health. 2014 Nov;217(8):878-90. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2014.06.007>
- (12) Becker K, Schulz C, Kaus S, et al. German Environmental Survey 1998 (GerES III): environmental pollutants in the urine of the German population. Int J Hyg Environ Health. 2003 Jan;206(1):15-24. <https://doi.org/10.1078/1438-4639-00188>
- (13) Coelho P, Costa S, Costa C, et al. Biomonitoring of several toxic metal(loid)s in different biological matrices from environmentally and occupationally exposed populations from Panasqueira mine area, Portugal. Environ Geochem Health. 2014 Apr;36(2):255-69. Epub 2013 Aug 30. <https://doi.org/10.1007/s10653-013-9562-7>
- (14) Lopes de Andrade V, Serrazina D, Mateus ML, et al. Multi-biomarker approach to assess the magnitude of occupational exposure and effects induced by a mixture of metals. Toxicol Appl Pharmacol. 2021 Oct 15;429:115684. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2021.115684>
- (15) Gilles L, Govarts E, Rodriguez Martin L, et al. Harmonization of Human Biomonitoring Studies in Europe: Characteristics of the HBM4EU-Aligned Studies Participants. Int J Environ Res Public Health. 2022 Jun 1;19(11):6787. <https://doi.org/10.3390/ijerph19116787>
- (16) Nunes B, Barreto M, Gil AP, et al. The first Portuguese National Health Examination Survey (2015): design, planning and implementation. J Public Health (Oxf). 2019 Sep 30;41(3):511-17. <https://doi.org/10.1093/pubmed/fty150>
- (17) Harris PA, Taylor R, Thielke R, et al. Research electronic data capture (REDCap) - a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. J Biomed Inform. 2009 Apr;42(2):377-81. Epub 2008 Sep 30. <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2008.08.010>
- (18) Minnesota Department of Health. Minnesota Public Health Data Access – Biomonitoring and arsenic – Arsenic levels in the U.S. population [online]. (consult. 24/11/2022). [https://data.web.health.state.mn.us/biomonitoring\\_arsenic#:~:text=For%20NHA NES%20reporting%20purposes%2C%20urinary,High%3A%20E2%89%A5200%20mcg%2FL](https://data.web.health.state.mn.us/biomonitoring_arsenic#:~:text=For%20NHA NES%20reporting%20purposes%2C%20urinary,High%3A%20E2%89%A5200%20mcg%2FL)

## **\_Biomonitorização da exposição profissional ao crómio hexavalente: contributo para proposta de valores-limite biológicos**

### *Biomonitoring of occupational exposure to hexavalent chromium: contribution to the proposed biological limit value*

Hermínia Pinhal<sup>1</sup>, Ana Nogueira<sup>1</sup>, Sílvia Santos<sup>1</sup>, Edna Ribeiro<sup>4</sup>, Carina Ladeira<sup>2-4</sup>, Susana Viegas<sup>2,3</sup>

herminia.pinhal@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Ar e Saúde Ocupacional. Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Centro de Investigação em Saúde Pública. Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa, Portugal

(3) Comprehensive Health Research Center, Universidade NOVA de Lisboa, Portugal

(4) Health & Technology Research Center. Escola Superior de Tecnologia da Saúde, Instituto Politécnico de Lisboa, Portugal

### **\_Resumo**

O crómio hexavalente (Cr(VI)) é um agente cancerígeno para o ser humano, estando na origem de cancro no pulmão. As indústrias em que ocorre exposição ao Cr(VI) incluem a produção, utilização e soldadura de metais e ligas contendo crómio. O presente estudo tem como objetivo analisar os resultados de monitorização ambiental e biológica da exposição profissional ao Cr(VI) no âmbito da participação portuguesa na Iniciativa Europeia de Biomonitorização Humana (HBM4EU). O estudo envolveu 50 trabalhadores expostos a Cr(VI) e 27 controlos. Realizou-se monitorização ambiental, por amostragem pessoal do ar, para estudar a exposição a Cr(VI) e monitorização biológica (urina e eritrócitos). Os resultados obtidos neste estudo sugerem que os pintores são o grupo com maior exposição externa e interna ao Cr(VI). Os trabalhadores dos banhos eletrolíticos apresentam uma exposição relevante, quando comparada com o valor limite de exposição de 0,005 mg/m<sup>3</sup> apesar de consideravelmente inferior à dos pintores. Os resultados das medições de Cr-U pós-turno, quando agregados ao nível do grupo profissional apresentaram boa correlação ( $\rho=0,63$ ) com a fração respirável de Cr(VI) no ar, apoiando a utilização do Cr-U para a biomonitorização da exposição ao Cr(VI) nos locais de trabalho. A diferente cinética dos indicadores biológicos estudados pode ser a razão pela qual não se verificou uma boa correlação entre Cr-U pós-turno e Cr-RBC ( $\rho<0,5$ ), no entanto podem fornecer informação complementar relevante para a prevenção.

### **\_Abstract**

Hexavalent chromium (Cr(VI)) is a human carcinogen, causing lung cancer. Industries where exposure to Cr(VI) occurs include the production, use and welding of metals and alloys containing chromium. The present study aims to analyze the results of environmental and biological monitoring of occupational exposure to Cr(VI) as part of the Portuguese participation in the European Human Biomonitoring Initiative (HBM4EU). The study involved 50 workers exposed to Cr(VI) and 27 controls. Environmental monitoring was performed by personal air sampling to study Cr(VI) exposure and biological monitoring (urine and erythrocytes). The results obtained in this study suggest that painters are the group with the highest external and internal Cr(VI) exposure. The electrolyte

bathers have a relevant exposure compared to the exposure limit value of 0.005 mg/m<sup>3</sup>, although considerably lower than the painters. The results of the post-shift measurements of Cr-U, when aggregated at the occupational group level showed a good correlation ( $\rho=0.63$ ) with the respirable fraction of Cr(VI) in air, supporting the use of Cr-U for biomonitoring of Cr(VI) exposure in workplaces. The different kinetics of the biological indicators studied may be the reason why there was not a good correlation between post-transmission Cr-U and Cr-RBC ( $\rho<0.5$ ), however they may provide complementary information relevant for prevention.

### **\_Introdução**

O crómio (VI), também designado crómio hexavalente, é o segundo estado de oxidação mais estável do crómio. A maioria dos compostos de crómio (VI) são fabricados (produtos ou subprodutos). O crómio (VI) pode ser reduzido ao crómio (III), que é mais estável, na presença de agentes redutores como é o caso do ferro ou de matéria orgânica oxidável (1). Os compostos de crómio (VI) são habitualmente classificados de acordo com a sua solubilidade em água sendo exemplos de compostos solúveis o cromato de sódio e o cromato de potássio e de compostos insolúveis o cromato de bário e o cromato de chumbo (2).

As principais vias de exposição profissional ao crómio (VI) são a inalação de poeiras, névoas ou fumos e o contacto dérmico com produtos que contêm crómio. As indústrias e os processos em que ocorre exposição ao crómio (VI) incluem a produção, utilização e soldadura de metais e ligas contendo crómio (por exemplo, aços inoxidáveis, aços com elevado teor de crómio); galvanoplastia; produção e utilização de compostos contendo crómio, tais como



pigmentos, tintas (por exemplo, aplicação e remoção nas indústrias aeroespacial, de construção e marítima), catalisadores, ácido crómico, agentes de curtimento e pesticidas (1).

O crómio hexavalente (Cr(VI)) é um agente cancerígeno para o ser humano, estando na origem de cancro no pulmão, tendo igualmente sido observadas associações positivas entre a exposição ao Cr(VI) e os cancros do nariz e dos seios nasais. A exposição profissional ao Cr(VI) é igualmente uma causa comum de asma e dermatite alérgica, encontrando-se em estudo os possíveis efeitos na reprodução (3).

A absorção do crómio depende da especiação, da solubilidade do composto no meio biológico considerado, do tamanho da partícula do composto e da sua valência, sendo em geral os derivados trivalentes mais fracamente absorvidos que os derivados hexavalentes. Em contexto profissional, os compostos de crómio (VI) solúveis são absorvidos maioritariamente pela via respiratória, podendo também existir contributos pelas vias digestiva (<10%) e, mais fracamente, percutânea (cerca de 4%) (4).

O crómio total urinário é atualmente o indicador biológico mais utilizado para a avaliação da exposição ocupacional ao Cr(VI). Apesar de na Europa não se encontrar estabelecido um valor limite biológico para o Cr(VI), alguns estados membros definiram valores limite biológicos nacionais para a exposição profissional ao Cr(VI) medido como crómio urinário. França e Finlândia derivaram *Biological Limit Values* de 2,5 µg/L e 10 µg/L correspondentes aos seus respetivos *Occupational Exposure Limits* de 1 µg/m<sup>3</sup> e 5 µg/m<sup>3</sup> para Cr(VI) (3,5,6).

Devido à rápida redução do crómio hexavalente a crómio trivalente após a absorção, as concentrações de crómio no soro, no sangue e na urina refletem a quantidade total de crómio absorvido, não sendo específicas para exposições ocupacionais ao crómio (VI), pelo facto de incluírem as exposições ao crómio (III) e crómio metálico (4). Assim, e pelo facto do crómio VI atravessar facilmente as membranas celulares, o crómio nos glóbulos vermelhos é um indicador biológico específico de exposição ao crómio hexavalente durante a vida celular (120 dias) (4).

Em Portugal, a proteção dos trabalhadores contra riscos ligados à exposição a agentes cancerígenos ou mutagénicos durante o trabalho é regulada pelo Decreto-Lei n.º 301/2000, de 18 de novembro, com as alterações introduzidas pelos Decreto-Lei n.º 88/2015, de 28 de maio, Decreto-Lei n.º 35/2020, de 13 de julho e Decreto-Lei n.º 102-A/2020, de 9 de dezembro (7). Este último diploma fixa, no seu anexo III, os valores-limite de exposição profissional, indicando para a fração total/inalável dos Compostos de crómio (VI) o valor de 0,005 mg/m<sup>3</sup>, com as medidas transitórias de um valor limite de 0,010 mg/m<sup>3</sup> até 17 de janeiro de 2025, e um valor limite de 0,025 mg/m<sup>3</sup> para processos de soldadura ou corte por plasma, ou processos similares que produzam fumos, a considerar até 17 de janeiro de 2025.

A norma portuguesa NP 1796:2014 (Segurança e saúde do Trabalho – Valores-limite de exposição e Índices biológicos de exposição a agentes químicos), que adota os valores publicados pela *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH), estabelece o Índice biológico de exposição de 10 µg/L para o crómio urinário medido durante um turno e 25 µg/L no final do último turno da semana de trabalho.

Portugal participou na Iniciativa Europeia em Biomonitorização Humana (HBM4EU), que decorreu entre 2017 e 2022, no âmbito da qual se identificou vários produtos químicos prioritários, entre eles o Cr(VI). O objetivo geral do estudo ocupacional do crómio hexavalente no HBM4EU foi contribuir para a construção de uma base científica sólida e válida para propor valores-limite biológicos para a exposição ocupacional ao crómio hexavalente.

## **\_Objetivo**

O presente estudo tem como objetivo analisar resultados de monitorização ambiental e biológica da exposição profissional ao crómio hexavalente, obtidos numa empresa portuguesa, no âmbito da participação na Iniciativa Europeia de Biomonitorização Humana (HBM4EU).



## **\_Material e métodos**

Foi selecionada uma amostra de trabalhadores potencialmente expostos a Cr(VI) pelas atividades desenvolvidas, nomeadamente a utilização de banhos de tratamentos eletrolíticos, na aplicação e/ou lixagem de tintas cromadas, na maquinação e soldadura de peças em aço inoxidável e no laboratório de controlo de qualidade. A empresa onde foram realizadas as atividades estudadas foi convidada a participar neste estudo.

Foram também selecionados indivíduos não expostos, fora da empresa, na mesma área geográfica cuja atividade não estava associada à exposição ao Cr (VI).

A empresa recebeu um folheto informativo com os objetivos do estudo, e o que era espetável com a sua participação. Os trabalhadores envolvidos nas atividades de interesse foram abordados para expressar o seu interesse em participar. Foi distribuído um folheto informativo aos trabalhadores e discutido durante o primeiro contacto com os mesmos. Os trabalhadores que decidiram participar preencheram um certificado de consentimento livre e esclarecido. Foi seguida a mesma abordagem para os indivíduos controlo.

O protocolo de estudo teve a aprovação da Comissão de Ética da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa e da Comissão de Ética do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

A generalidade dos postos de trabalho estudados dispunha de meios de extração geral e localizada dos gases, vapores, fumos e partículas libertadas pela execução das atividades. Os trabalhadores dispunham de equipamentos de proteção individual, na generalidade adequados à proteção contra os agentes químicos presentes no posto de trabalho.

Em cada posto de trabalho estudado, foram colhidas 4 amostras de ar pessoais, fora do equipamento de proteção respiratória (EPI), duas para determinação da fração inalável e duas para a determinação da fração respirável de crómio hexavalente, com duração entre 2 e 5 horas e meia, consideradas representativas da exposição ambiental do grupo de trabalhadores desse posto. As colheitas foram

realizadas em filtros de PVC, com poro de 5µm e diâmetro de 25mm. Para a fração inalável utilizaram-se ciclones tipo IOM e bombas de amostragem pessoais ajustadas a 2 L/min, para um volume de ar amostrado entre 270 e 680 Litros. Para a fração respirável utilizaram-se ciclones tipo *Higgins-Dewell* e bombas de amostragem pessoais ajustadas a 3 L/min, para um volume de ar amostrado entre 400 e 1000 Litros. Cada uma das amostras de ambas as frações foi analisada por espectrofotometria de UV-Vis para determinar a massa de compostos de crómio hexavalente solúveis e insolúveis, conforme é descrito no método NIOSH 7600 (NIOSH, 2015). A determinação de crómio hexavalente total em cada uma das frações colhidas foi obtida pela adição da massa obtida de compostos de Cr (VI) solúveis e insolúveis. A concentração dos compostos no ar foi determinada considerando a massa determinada e o volume de ar amostrado.

Foram recolhidas duas amostras de urina dos trabalhadores expostos, a primeira antes do início do turno, no início da semana de trabalho, e a segunda no final do turno e no final da semana de trabalho (normalmente na quinta ou sexta-feira) para determinação de crómio (Cr-U). Foi recolhida uma amostra de urina dos indivíduos controlo em qualquer altura da semana de trabalho. Depois das colheitas, as amostras de urina foram homogeneizadas, alíquotadas e armazenadas a -20°C. Determinaram-se as concentrações de creatinina urinária e os resultados de Crómio urinário foram normalizados para a creatinina.

As colheitas de sangue para determinação de crómio nos eritrócitos (Cr-RBC) realizaram-se entre o terceiro e o quinto dia da semana de trabalho. Para o efeito utilizaram-se tubos com Etilenodiamina tetra-acético de potássio (K-EDTA), apropriados para análises de elementos vestigiais de cada participante (exposto ou não exposto) que foram mantidos a +4°C até à análise. Para evitar hemólise, separou-se o plasma e os eritrócitos, no prazo máximo de 24 h após a colheita, seguindo o método descrito por Devoy, *et al.* (8).

As amostras de sangue foram centrifugadas (10 min a 1000 – 2000 x g) e as células sanguíneas, contendo os eritrócitos, foram submetidas a três etapas de lavagem com solu-



ção de Cloreto de sódio 0,9% (com um volume correspondente ao volume inicial de sangue recolhido), para eliminar os resíduos de plasma/Cr interferentes. Os valores do hematócrito (HT) (medido antes (HT1) e após a lavagem (HT2)) foram medidos por forma a determinar a perda de eritrócitos durante as etapas de lavagem e os resultados finais foram corrigidos para HT2.

Após a última etapa de lavagem, ao tubo contendo os eritrócitos foi adicionado Triton X-100 1% em água desionizada/HNO<sub>3</sub> 0,2% até ao volume inicial. Os eritrócitos foram posteriormente armazenados à temperatura de -20°C por um prazo máximo de 3 meses.

As análises das amostras biológicas para determinação de crómio urinário e de crómio nos eritrócitos realizaram-se pela técnica de espectrofotometria de absorção atómica com câmara de grafite. O Laboratório foi certificado pelo *Interlaboratory Comparison Investigations* (ICI) pelo seu desempenho bem-sucedido na participação no Programa HBM4EU Garantia de Qualidade (QA), que resultou na sua qualificação como Laboratório do HBM4EU para a análise de Crómio na urina, plasma e sangue <sup>(9)</sup>.

Na análise de resultados, a massa das amostras abaixo do limite de quantificação (LQ) foi substituída por LQ/2.

## \_Resultados

Foram estudados um total de 77 trabalhadores, incluindo 50 trabalhadores expostos e 27 controlos, que deram o seu consentimento informado para participar no estudo.

Os trabalhadores foram categorizados de acordo com a sua atividade profissional: trabalhadores dos banhos eletrolíticos/de cromagem, pintores (aplicação de tintas manual ou à pistola e/ou lixagem de tintas contendo cromatos), trabalhadores da maquinaria, soldadores, trabalhadores do laboratório.

A **tabela 1** apresenta a distribuição dos trabalhadores em grupos, o número de amostras de ar (ambientais) e o número de amostras biológicas realizadas em cada atividade de trabalho. Os controlos foram trabalhadores de outro local de trabalho, não expostos a crómio.

**Tabela 1:** Distribuição dos grupos de trabalhadores no estudo e número de amostras recolhidas para cada atividade.

|  | N.º total de trabalhadores | Cr-U /antes do turno (n) | Cr-U /após o turno (n) | Cr-RBC (n) | Fração Respirável de Cr(VI), fora do EPI (n) | Fração Inalável de Cr(VI), fora do EPI (n) |
|--|----------------------------|--------------------------|------------------------|------------|--|--|
| Trabalhadores dos Banhos eletrolíticos | 5                          | 5                        | 5                      | 5          | 3  | 3  |
| Pintores                               | 26                         | 26                       | 26                     | 26         | 8  | 8  |
| Trabalhadores da Maquinação            | 5                          | 5                        | 5                      | 5          | 1  | 1  |
| Soldadores                             | 4                          | 4                        | 4                      | 4          | 2  | 2  |
| Trabalhadores do Laboratório           | 5                          | 5                        | 5                      | 5          | 1  | 1  |
| Total de trabalhadores expostos        | 45                         | 45                       | 45                     | 45         | 15   | 15   |
| Controlos                              | 27                         | 27                       | —                      | 27         | —  | —  |
| Total de trabalhadores participantes   | 72                         | 72                       | 72                     | 72         | 15   | 15   |



Os níveis de crómio urinário e de crómio nos eritrócitos na população controlo apresentam-se na **tabela 2**. Da análise dos resultados verifica-se que os níveis dos controlos de Cr-U e Cr-RBC mostram pequenas diferenças relativamente aos dados já existentes de estudos anteriores.

O **gráfico 1** apresenta as concentrações de crómio urinário no grupo controlo e nos trabalhadores expostos para os grupos estudados. Para os trabalhadores expostos, são apresentados os níveis de Cr-U pré-turno e Cr-U pós-turno. As medianas de Cr-U pré-turno de todos os grupos de trabalhadores foram mais elevadas do que a mediana apresentada pelo grupo controlo. Em comparação com o grupo controlo todos os grupos de trabalhadores mostraram um aumento significativo dos níveis de Cr-U pós-turno. Os níveis de exposição mais elevados foram observados nos pintores, tanto para a concentração de Cr-U pré-turno (mediana de 0,52 µg/g creatinina e P95 2,38 µg/g creatinina), como para a concentração de Cr-U pós-turno (mediana de 0,82 µg/g creatinina e P95 3,42 µg/g creatinina). Dentro do grupo total dos trabalhadores expostos, o Cr-U pós-turno foi mais elevado do que o Cr-U pré-turno, exceto para os trabalhadores do laboratório. Em saúde ocupacio-

nal, os valores de referência que se definem a partir do percentil 95 dos níveis de populações não expostas profissionalmente são, em regra, utilizados para distinguir a exposição profissional da exposição de fundo.

Apresenta-se na **tabela 3** a comparação dos resultados de Cr-U pós-turno dos diferentes grupos de trabalhadores com o nível P95 de Cr-U obtido para o grupo controlo (0,27 µg/g creatinina) e com o Biological Limit Value (BLV) para o crómio urinário recomendado em França (1,8 µg/g creatinina).

Observa-se que 73% dos trabalhadores que aplicam tintas com cromatos, 60% dos trabalhadores da maquinaria e 40% dos trabalhadores dos banhos eletrolíticos apresentam níveis de Cr-U pós-turno superiores ao nível P95 do grupo controlo de 0,27 µg/g creatinina. Para os restantes trabalhadores as proporções variaram entre 20% e 25%.

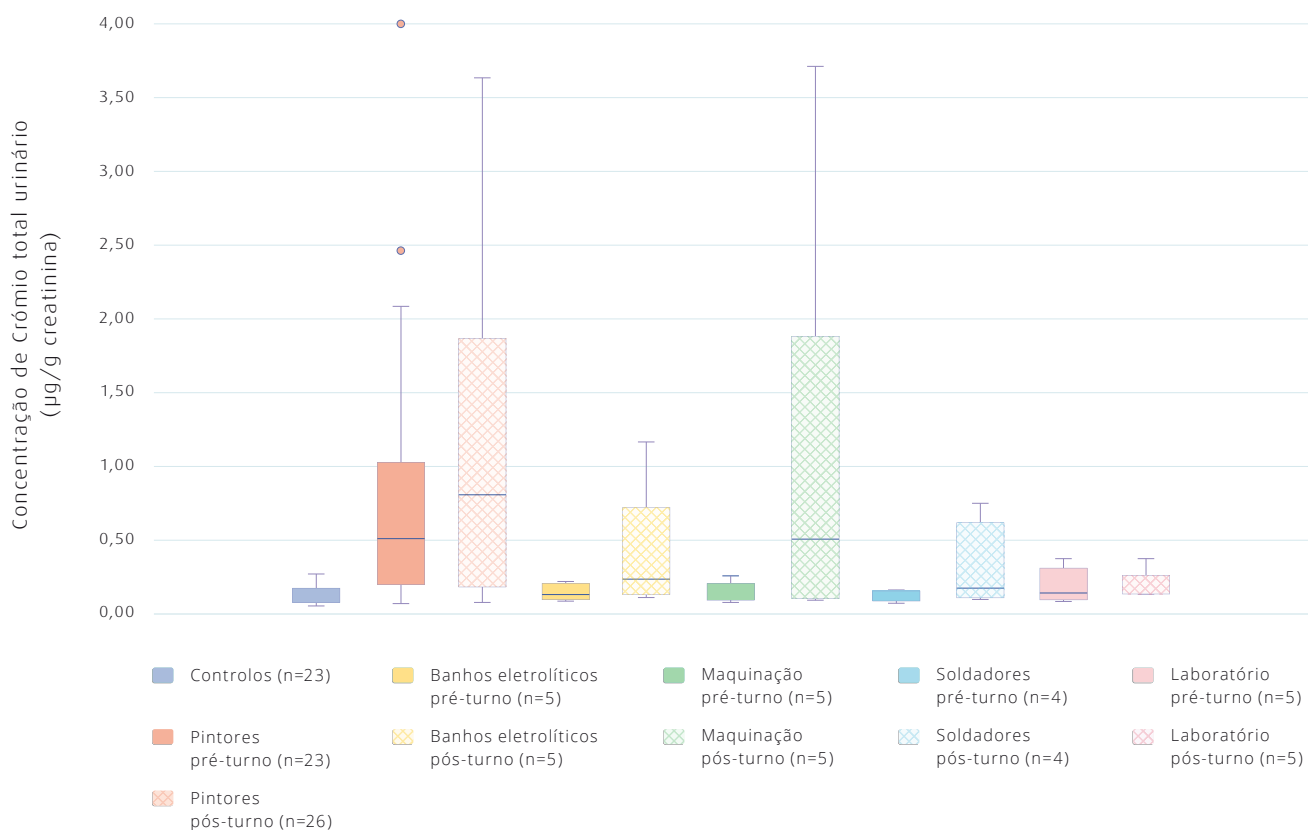
O BLV francês de 1,8 µg/g creatinina é excedido pelos níveis de Cr-U pós-turno em 27% dos trabalhadores que aplicam tintas com cromatos e pelo trabalhador da maquinaria. Para os restantes trabalhadores não foram observadas excedências do referido BLV.

**Tabela 2:** Níveis de crómio urinário em indivíduos controlo de estudos realizados no Reino Unido e União Europeia.

|                                    | Mediana de Cr-U, P95<br>µg/g creatinina | Mediana de Cr-RBC, P95<br>µg/L |
|------------------------------------|---|--------------------------------|
| Controlos                          | 0,13; 0,42 (n=27)                       | 0,65; 3,10 (n=27)              |
| Morton <i>et al.</i> , 2014 (UK)   | 0,14; 1,31 (n=132)                      | —                              |
| Santonen <i>et al.</i> , 2022 (EU) | 0,11; 0,44 (n=41)                       | 1,02; 3,12 (n=41)              |



Gráfico 1: Distribuição das concentrações de crómio urinário no grupo controlo e nos trabalhadores expostos (pré-turno e pós-turno).



Representação caixa de bigodes (mediana, P25-P75).

As extremidades inferior e superior dos bigodes são o percentil 5 e 95, respetivamente.

Tabela 3: Comparação do nível de Cr-U pós-turno com o nível P95 do grupo controlo e com o BLV de França.

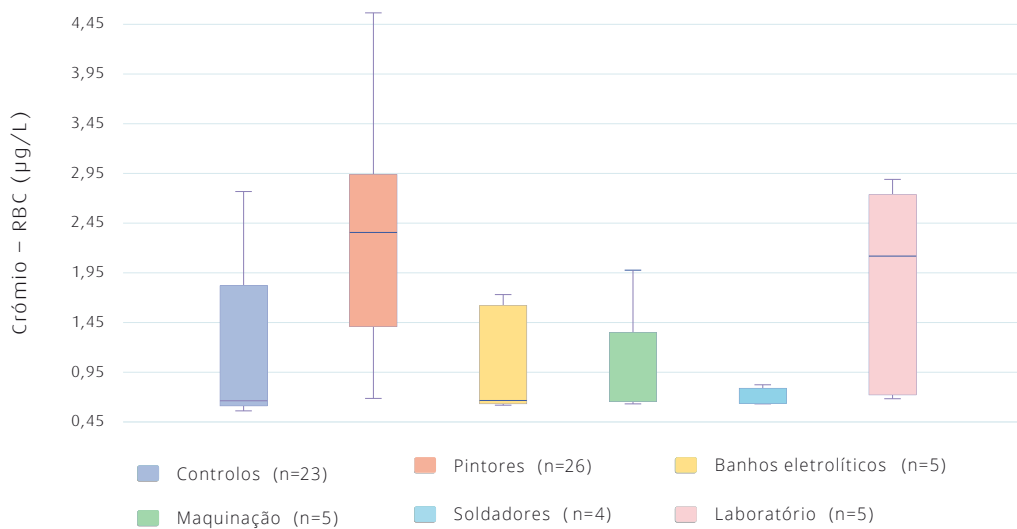
| Grupos de trabalhadores                      | Nível P95 do grupo controlo (0,27 µg/g creatinina)                    | Biological Limit Value francês (1,8 µg/g creatinina) |
|--|---|--|
|  | N.º de amostras pós-turno de Cr-U e % que excede o nível especificado |  |
| Trabalhadores dos Banhos eletrolíticos (n=5) | 2 (40%)   | 0 (0)  |
| Pintores (n=26)                              | 19 (73%)  | 7 (27%)  |
| Trabalhadores da Maquinação (n=5)            | 3 (60%)   | 1 (20%)  |
| Soldadores (n=4)                             | 1 (25%)   | 0 (0)  |
| Trabalhadores do Laboratório (n=5)           | 1 (20%)   | 0 (0)  |



O gráfico 2 mostra os resultados das concentrações de crómio nos eritrócitos nos grupos de trabalhadores estudados e no grupo controlo. Os pintores apresentaram os níveis mais elevados de Cr-RBC, com uma mediana de 2,35 µg/L e um nível P95 de 3,55 µg/L, seguindo-se os trabalhadores do Laboratório, com mediana de 2,11 µg/L e P95 2,83 µg/L, em ambos os casos níveis superiores ao grupo controlo, com mediana de 0,64 µg/L e P95 2,60 µg/L. Os trabalhadores dos banhos eletrolíticos, da maquinação e os soldados apresentaram medianas de Cr-RBC ligeiramente superiores ao grupo controlo, não evidenciando uma maior exposição ao crómio hexavalente.

Na tabela 4 apresentam-se os resultados das medições das frações inalável e respirável de Cr(VI) no ar, obtidos nos postos de trabalho dos cinco grupos de trabalhadores. Apresenta-se o intervalo de variação das concentrações obtidas e o nível do percentil 95. Os níveis de exposição mais elevados foram observados nos pintores, com uma variação de 0,62 µg/m<sup>3</sup> a 360 µg/m<sup>3</sup> e um nível P95 288 µg/m<sup>3</sup>. O número de amostras de ar foi insuficiente para permitir um tratamento estatístico adequado.

**Gráfico 2:** Resultados de crómio nos eritrócitos, após ajuste para o valor do hematócrito 2, no grupo controlo e nos diferentes grupos de trabalhadores.



Representação caixa de bigodes (mediana, P25-P75).  
As extremidades inferior e superior dos bigodes são o percentil 5 e 95, respetivamente.

**Tabela 4:** Resumo das concentrações obtidas nas amostras de ar de Cr(VI) em µg/m<sup>3</sup> (medições pessoais, fora do equipamento de proteção respiratória).

| Grupos de trabalhadores | Fração inalável da concentração de Cr(VI) – µg/m <sup>3</sup> , Variação; P95 (n) | Fração respirável da concentração de Cr(VI) – µg/m <sup>3</sup> , Variação; P95 (n) |
|-------------------------|---|---|
| Banhos eletrolíticos    | 0,38 – 9,05; 8,19 (n=3)   | 0,25 – 0,29; 0,29 (n=3)   |
| Pintores                | 0,62 – 360; 288 (n=8)   | 0,42 – 67; 46,8 (n=8)   |
| Soldadores              | 0,38 – 0,42 (n=2)   | 0,25 – 0,60 (n=2)   |
| Maquinação              | 0,41; (n=1)   | 0,28; (n=1)   |
| Laboratório             | 0,37; (n=1)   | 0,25; (1)   |



## \_Discussão e conclusões

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que os pintores, trabalhadores que executam tarefas diversas, desde pintura manual, pintura à pistola e lixagem de tintas com diferentes conteúdos de Cr(VI), são o grupo com maior exposição externa e interna ao crómio hexavalente. As amostras ambientais revelam as concentrações mais elevadas, não obstante a sua variabilidade, associada, possivelmente, à variabilidade das próprias tarefas (**tabela 4**). Estes trabalhadores mostram, na sua maioria, níveis elevados de crómio urinário pós-turno (mediana de 0,82 µg/g creatinina e P95 3,42 µg/g creatinina) e de crómio nos eritrócitos (mediana de 2,35 µg/L e P95 3,55 µg/L), quando comparados com os níveis obtidos para o grupo controlo (Cr-U – mediana de 0,11 µg/g creatinina e P95 0,27 µg/g creatinina e Cr-RBC – mediana de 0,64 µg/L e P95 2,60 µg/L). O grupo revela, quando comparado com o grupo controlo, níveis elevados de Cr-U pré-turno e os resultados de crómio nos eritrócitos sugerem a maior exposição interna dos pintores, quando comparados com os outros grupos de trabalhadores.

Os trabalhadores dos banhos eletrolíticos apresentam uma exposição ambiental a Cr(VI) relevante, quando comparada com o valor limite de exposição de 0,005 mg/m<sup>3</sup> indicado na legislação atualmente em vigor para a fração total/inalável, apesar de consideravelmente inferior à dos pintores. Considerando os níveis obtidos para o Cr-U (mediana de 0,25 µg/g creatinina e P95 1,00 µg/g creatinina) e Cr-RBC (mediana de 0,65 µg/L e P95 1,68 µg/L), verifica-se que os resultados da exposição interna não acompanham os da exposição ambiental, o que pode ser justificado pela adequada utilização de proteção respiratória.

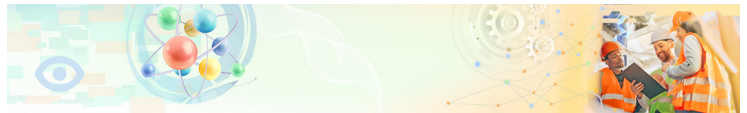
Os soldadores, os trabalhadores da maquinaria e os trabalhadores do laboratório apresentam uma exposição externa ao Cr(VI) muito semelhante (ver **tabela 4**). No entanto, a exposição interna ao crómio, medida como Cr-U, é mais elevada nos trabalhadores estudados na maquinaria (mediana de Cr-U de 0,52 µg/g creatinina) do que nos soldadores e trabalhadores do laboratório

(medianas de Cr-U de 0,19 µg/g creatinina e 0,16 µg/g creatinina, respetivamente). Os níveis de crómio nos eritrócitos dos soldadores apresentam uma mediana de 0,65 µg/L e P75 0,70 µg/L, resultados inferiores aos relatados no estudo de Weiss, *et al.* (10) realizado em 16 soldadores, com um nível médio de Cr-RBC de 1,95 µg/L e P75 de 2,37 µg/L.

O risco mais significativo a estes níveis de exposição é a carcinogenicidade para o trato respiratório, relacionado maioritariamente com a quantidade de crómio inalado. A concentrações no ar de 1-5 µg Cr(VI)/m<sup>3</sup> o risco de cancro do pulmão encontra-se no intervalo de 4-20 cancros extra/1000 trabalhadores (11,12).

Neste estudo utilizaram-se dois indicadores biológicos de exposição ao crómio – o crómio urinário e o crómio nos eritrócitos. O crómio urinário é o indicador de referência utilizado nos locais de trabalho para medir a exposição interna ao crómio. Sendo um indicador biológico não específico para o Cr(VI), a exposição a Cr (III) pode ter impacto nos níveis de Cr-U. O Cr-RBC reflete especificamente a exposição ao Cr(VI) durante todo o período de vida do glóbulo vermelho (120 dias). Por outro lado, o Cr-U, de acordo com estudos publicados (13) reflete a exposição passada e recente, com um processo de eliminação em três fases com tempos de semi-vida de 7 horas, 15-30 dias e 3-5 anos. A diferente cinética dos dois indicadores pode ser a razão pela qual não se verificou uma boa correlação entre os dados do Cr-U pós-turno e os dados do Cr-RBC ( $\rho < 0,5$ ), no entanto podem fornecer informação complementar para uma melhoria das medidas de prevenção implementadas.

Os resultados obtidos nas amostras de urina para a medição de Crómio urinário (amostras pré-turno e pós-turno) permitiram calcular a sua variação nos trabalhadores. O aumento demonstrado nas medições de Cr-U pós-turno, quando agregados ao nível do grupo profissional apresentaram boa correlação ( $\rho = 0,63$ ) com a fração respirável de Cr(VI) no ar, apoiando a utilização do Cr-U para a biomonitorização da exposição ao Cr(VI) nos locais de trabalho.



O biomarcador crómio urinário, não sendo específico para a exposição ao crómio hexavalente mostrou ser um indicador adequado para avaliação da exposição interna total.

Foram obtidos alguns resultados de Cr-U em amostras pré- turno elevados, que reforçam o conhecimento de que o crómio tem uma eliminação lenta. Assim, pode concluir-se que devem ser utilizadas duas amostras emparelhadas, pré- turno no início da semana de trabalho e pós- turno no final da semana de trabalho, para ser possível obter informação sobre a exposição recente.

Estudos de biomonitorização ocupacional em moldes semelhantes para outras substâncias químicas podem fornecer informações relevantes e úteis para apoiar nas decisões políticas para reduzir a exposição profissional a produtos químicos.

#### Agradecimentos:

Os autores agradecem à Doutora Maria João Silva, coordenadora do Estudo “*HBM4EU chromates study group*” no INSA. É também devido um agradecimento à indústria e a todos os voluntários que participaram no estudo.

#### Financiamento:

Este projeto recebeu financiamento do programa de investigação e inovação Horizonte 2020 da União Europeia sob o acordo de subvenção n.º 733032 e recebeu cofinanciamento das organizações dos autores.

#### Referências bibliográficas:

- (1) Occupational Safety and Health Administration, Department of Labor. Occupational exposure to hexavalent chromium. Final rule. Fed Regist. 2006 Feb 28;71(39):10099-385. <https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2006-02-28/pdf/06-1589.pdf>
- (2) Lide DR (ed). CRC Handbook of Chemistry and Physics. 88th ed. New York, NY: CRC Press, 2008, pp. 4-50.
- (3) Santonen T, Porras SP, Bocca B, et al.; HBM4EU chromates study team. HBM4EU chromates study – Overall results and recommendations for the biomonitoring of occupational exposure to hexavalent chromium. Environ Res. 2022 Mar;204(Pt A) 111984. Epub 2021 Sep 4. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111984>
- (4) Institut National de la Recherche Scientifique. BIOTOX - Guide biotoxicologique pour les médecins du travail [online]. <https://www.inrs.fr/publications/bdd/biotox.html>
- (5) Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail. Valeurs limites d'exposition en milieu professionnel: valuation des indicateurs biologiques d'exposition et recommandation de valeurs biologiques pour le chrome VI et ses composés: Rapport d'expertise collective. France: ANSES, 2017. <https://www.anses.fr/fr/system/files/VLEP2007SA0430Ra.pdf>
- (6) Sosiaal- ja Terveysministeriö. HTP-ARVOT 2020 - Haitallisiksi tunnetut pitoisuu- det. Helsinki: STM, 2020. [https://julkaisut.valtioneuvosto.fi/bitstream/handle/10024/162457/STM\\_2020\\_24\\_J.pdf](https://julkaisut.valtioneuvosto.fi/bitstream/handle/10024/162457/STM_2020_24_J.pdf)
- (7) Decreto-Lei n.º 301/2000, de 18 de novembro. DR n.º 267/2000, Série I-A de 2000- -11-18. Regula a proteção dos trabalhadores contra os riscos ligados à exposição a agentes cancerígenos ou mutagénicos durante o trabalho. <https://data.dre.pt/eli/dec-lei/301/2000/p/cons/20201209/pt/html>
- (8) Devoy J, Géhin A, Müller S, et al. Evaluation of chromium in red blood cells as an indicator of exposure to hexavalent chromium: An in vitro study. Toxicol Lett. 2016 Jul 25; 255:63-70. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.05.008>
- (9) European Interlaboratory Comparison Investigations. Certificado de participação no HBM4EU QA/QC programm for Department of Environmental Health, Air Unit and Occupational Health. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2019. (National Institute of Health has participated in the HBM4EU QA/QC programme and its successful performance has resulted in its qualification as HBM4EU laboratory for the analysis of: Chromium in human urine, serum and blood, organizado pelo Department of Environmental Sciences Jožef Stefan Institute; Institute and Outpatient Clinic of Occupational, Social and Environmental Medicine).
- (10) Weiss T, Pesch B, Lotz A, et al.; WELDOX Group. Levels and predictors of airborne and internal exposure to chromium and nickel among welders-results of the WELDOX study. Int J Hyg Environ Health. 2013 Mar; 216(2):175-83. Epub 2012 Aug 25. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2012.07.003>
- (11) ECHA Committee for Risk Assessment RAC. Application for authorisation: Establishing a reference dose response relationship for carcinogenicity of hexavalent chromium. European Chemicals Agency. 2013. [https://echa.europa.eu/documents/10162/13579/rac\\_carcinogenicity\\_dose\\_response\\_crvl\\_en.pdf/facc881f-cf3e-40ac-8339-c9d9c1832c32](https://echa.europa.eu/documents/10162/13579/rac_carcinogenicity_dose_response_crvl_en.pdf/facc881f-cf3e-40ac-8339-c9d9c1832c32)
- (12) European Commission. Scientific Committee on Occupational Exposure Limits. SCOEL/REC/386 Chromium VI compounds: Recommendation. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2017. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/75d27056-893f-11e7-b5c6-01aa75ed71a1>
- (13) U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Toxicological profile for chromium. Atlanta, Georgia: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2012. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp7.pdf>

## Caracterização de biomarcadores de genotoxicidade em trabalhadores expostos a crómio hexavalente: um estudo no âmbito da Iniciativa Europeia em Biomonitorização Humana

### Genotoxicity biomarkers in workers exposed to hexavalent chromium: a study under the European Human Biomonitoring Initiative

Ana Tavares<sup>1</sup>, Kukka Aimonen<sup>2</sup>, Sophie Ndaw<sup>3</sup>, Aleksandra Fučić<sup>4</sup>, Julia Catalán<sup>2,5</sup>, Radu Corneliu Duca<sup>6,7</sup>, Lode Godderis<sup>6,8</sup>, Bruno C Gomes<sup>1,9</sup>, Beata Janasik<sup>10</sup>, Carina Ladeira<sup>11</sup>, Henriqueta Louro<sup>1,9</sup>, Sónia Namorado<sup>12-14</sup>, An Van Nieuwenhuysse<sup>6,7</sup>, Hannu Norppa<sup>2</sup>, Paul T.J. Scheepers<sup>15</sup>, Célia Ventura<sup>1,9</sup>, Jelle Verdonck<sup>6</sup>, Susana Viegas<sup>13,16</sup>, Wojciech Wasowicz<sup>10</sup>, Tiina Santonen<sup>2</sup>, Maria João Silva<sup>1,9</sup>

m.joao.silva@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Finnish Institute of Occupational Health, Helsinki, Finland

(3) French National Research and Safety Institute, Vandœuvre-lès-Nancy, France

(4) Institute for Medical Research and Occupational Health, Zagreb, Croatia

(5) Department of Anatomy Embryology and Genetics, University of Zaragoza, 50.013 Zaragoza, Spain

(6) Centre for Environment and Health, Department of Public Health and Primary Care, University of Leuven, Leuven, Belgium

(7) Department of Health Protection, Laboratoire National de Santé (LNS), Dudelange, Luxembourg

(8) IDEWE, External Service for Prevention and Protection at Work, Heverlee, Belgium

(9) Centro de Toxicogenómica e Saúde Humana. NOVA Medical School, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa

(10) Department of Environmental and Biological Monitoring, Nofer Institute of Occupational Medicine, Lodz, Poland

(11) Health & Technology Research Center, Escola Superior de Tecnologia da Saúde, Instituto Politécnico de Lisboa, Portugal

(12) Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(13) Centro de Investigação em Saúde Pública. Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa Portugal

(14) Comprehensive Health Research Center, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

(15) Radboud Institute for Health Sciences, Radboudumc, Nijmegen, The Netherlands

(16) Comprehensive Health Research Center, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

### \_Resumo

No âmbito da Iniciativa Europeia em Biomonitorização Humana (HBM4EU) realizou-se um estudo ocupacional, envolvendo trabalhadores com potencial exposição a crómio hexavalente [Cr(VI)], um reconhecido agente carcinogénico. No presente estudo são apresentados os resultados de biomarcadores de genotoxicidade, incluindo a análise de lesão no DNA e de alterações cromossómicas em células sanguíneas. O estudo foi realizado em vários Países Europeus e abrangeu trabalhadores de diversos setores industriais e atividades, bem como um grupo de controlo constituído por trabalhadores administrativos das mesmas empresas (controlo interno) e de outras não relacionadas com produção/aplicação de Cr(VI) (controlo externo). Os resultados mostraram níveis de alterações cromossómicas (ensaio do micronúcleo) e de lesão no DNA (ensaio do cometa) significativamente aumentados nos trabalhadores expostos comparativamente aos controlos externos ( $p=0,03$ ;  $p<0,001$ , respetivamente). Estes resultados sugerem que mesmo um baixo nível de exposição ao Cr(VI) representa um risco acrescido para a saúde dos trabalhadores e, principalmente, para os que realizam cromagem em banho. O grupo controlo interno apresentou níveis médios de lesões no DNA e nos cromossomas comparáveis aos do grupo exposto, salientando a relevância de se considerarem também em risco. O uso de biomarcadores de efeito demonstrou

ser crucial para a deteção precoce de efeitos biológicos decorrentes de baixos níveis de exposição ao Cr(VI), contribuindo para a identificação de subgrupos em maior risco. O presente estudo vem apoiar a necessidade de uma reavaliação do limite de exposição ocupacional a Cr(VI), bem como da implementação de medidas de gestão de risco conducentes a uma melhor proteção da saúde dos trabalhadores.

### \_Abstract

An occupational study was carried out within the scope of the European Initiative on Human Biomonitoring (HBM4EU), involving workers with potential exposure to hexavalent chromium [Cr(VI)], a recognized carcinogenic agent. In the present study, the results of biomarkers of genotoxicity are presented, including the analysis of DNA damage and chromosomal alterations in blood cells. The study was carried out in several countries and included workers from different industrial sectors and activities, as well as a control group including administrative workers from the same companies (internal control) and from others not related to the production/application of Cr(VI) (external control). Results showed significantly increased levels of chromosomal alterations (micronucleus assay) and DNA damage (comet assay) in exposed workers compared to external controls ( $p=0.03$ ;  $p<0.001$ , respectively).



*These results suggest that even a low level of exposure to Cr(VI) represents an increased risk for the health of workers and, mainly, for those who perform chromium bath plating. The internal control group displayed DNA and chromosomal damage levels comparable to those of the exposed group, highlighting the importance of also being considered as potentially at risk. The use of effect biomarkers proved to be crucial for the early detection of biological effects resulting from low levels of exposure to Cr(VI), contributing to the identification of subgroups at a higher risk. The present study supports the need for a reassessment of the occupational exposure limit to Cr(VI), as well as the implementation of risk management measures leading to a better protection of workers' health.*

## **\_Introdução**

A exposição ocupacional a compostos de crómio hexavalente [Cr(VI)] ocorre em vários processos industriais de soldadura com metais e ligas metálicas contendo Cr, cromagem em banho eletrolítico e outros processos de tratamento de superfície (1,2,3). Apesar dos reconhecidos efeitos nefastos na saúde e das medidas regulatórias rigorosas para gerir a exposição ao Cr(VI) nos locais de trabalho, incluindo a necessidade de autorização para o uso continuado de compostos de Cr(VI) na União Europeia (Anexo XIV do regulamento REACH), esta substância é ainda muito utilizada no setor metalúrgico devido à falta de substitutos adequados para algumas das suas aplicações industriais.

A inalação de poeiras, névoas ou fumos de produtos contendo Cr constitui a principal via de exposição ocupacional (4) e o trato respiratório, principalmente o pulmão, é o principal alvo dos efeitos adversos do Cr(VI) para a saúde humana (1,5,6), sendo o Cr(VI) considerado cancerígeno para o homem (3).

No âmbito da Iniciativa Europeia em Biomonitorização Humana (HBM4EU, [www.hbm4eu.eu](http://www.hbm4eu.eu)) foi realizado um estudo transversal multicêntrico em vários países europeus, envolvendo trabalhadores de diferentes setores e atividades industriais com potencial exposição a cromatos. O referido estudo teve o objetivo de produzir novos dados harmonizados sobre a atual exposição a Cr(VI), incluindo a caracterização de um conjunto de biomarcadores de efeitos biológicos precoces.

## **\_Objetivo**

No presente estudo apresenta-se a caracterização de biomarcadores de genotoxicidade num subconjunto dos trabalhadores incluídos no estudo mais amplo, compreendendo a análise de micronúcleos (MN) em linfócitos e de lesão no DNA (ensaio do cometa) em leucócitos de sangue periférico.

## **\_Materiais e métodos**

Os trabalhadores potencialmente expostos a Cr(VI) foram selecionados em várias empresas onde se realizavam atividades de soldadura, cromagem em banho, tratamento de superfície com tintas contendo cromato ou pulverização térmica com Cr metálico aquecido (com possível formação de fumos de Cr(VI) ou maquinação de aço). Selecionaram-se como controlos indivíduos com funções administrativas dentro das mesmas empresas (controlos internos) e indivíduos externos a essas empresas (controlos externos). O estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge e, também, por uma comissão de ética em cada um dos Países participantes. Cada potencial participante recebeu informação sobre o estudo e assinou um consentimento informado para a colheita e utilização de amostras biológicas. Procedeu-se também à recolha de informação contextual, incluindo dados sociodemográficos, dados sobre estilo de vida e histórico profissional e clínico através de um questionário. Pode encontrar-se informação mais detalhada sobre o desenho geral do estudo numa publicação prévia (7).

No estudo incluíram-se adultos saudáveis (18-70 anos) de ambos os sexos de cinco países, nomeadamente, Bélgica, Finlândia, Países Baixos, Polónia e Portugal. Colheu-se de cada participante uma amostra de sangue por punção venosa que foi enviada ao laboratório para análise de biomarcadores de efeito, respeitando as condições de transporte previamente estabelecidas. Todas as amostras foram pseudo-anonimizadas após colheita e chegaram já codificadas ao laboratório.



O ensaio de MN em linfócitos humanos foi realizado como descrito anteriormente (8). Para cada indivíduo, analisaram-se pelo menos 2.000 linfócitos com bloqueio da citocinese (células binucleadas, CB) para determinação da frequência de CB com micronúcleo (células micronucleadas, CBMN), de acordo com critérios publicados (9,10). Os resultados da quantificação de células binucleadas micronucleadas, entre outros parâmetros analisados, foram expressos como frequências por 1000 CB. Utilizou-se a versão alcalina do ensaio do cometa para quantificar a lesão no DNA em leucócitos dos participantes, conforme descrito anteriormente (8). As lâminas, após coloração com um fluorocromo, foram observadas em microscópio de fluorescência com auxílio de *software* específico de análise de imagem (*Comet Assay IV, Perceptive Instruments*, Reino Unido). Em cada amostra analisaram-se 100 nucleóides e as lesões no DNA foram quantificadas através da intensidade de fluorescência na “cauda” do cometa (11).

Na análise estatística dos resultados aplicaram-se testes não paramétricos de Kruskal-Wallis (KW) e Mann-Whitney (MW), dado que os resultados dos biomarcadores de efeito analisados não apresentaram uma distribuição normal. A influência de potenciais variáveis de confundimento nos resultados foi analisada através de análises de regressão linear múltipla. Em qualquer das análises considerou-se estatisticamente significativo um valor de  $p$  inferior a 0,05.

## **\_Resultados e discussão**

Analisou-se a frequência de micronúcleos e a percentagem de lesão no DNA em grupos de, respetivamente, 284 e 117 participantes do estudo. As características sociodemográficas e de estilo de vida do total de participantes e após a sua distribuição em grupos “exposto” e “controlo” por biomarcador de efeito, são apresentadas na [tabela 1](#).

Os resultados dos biomarcadores de genotoxicidade analisados em células sanguíneas dos trabalhadores expostos a Cr(VI) e dos controlos estão representados nos [gráficos 1 e 2](#).

A análise estatística da frequência média de CBMN não revelou diferenças estatisticamente significativas entre o grupo de todos os trabalhadores expostos e o de todos os controlos. No entanto, a comparação do mesmo parâmetro entre o grupo exposto e o grupo de controlo externo mostrou uma frequência média de CBMN significativamente aumentada no grupo exposto ( $p=0,033$ ). Em relação aos resultados do ensaio do cometa, o grupo exposto apresentou um nível significativamente aumentado de lesão no DNA, em comparação com os grupos controlo total e controlo externo ( $p=0,014$  e  $p<0,001$ , respetivamente). Estes resultados estão de acordo com outros estudos em trabalhadores expostos a Cr(VI) (12,13), mostrando que apesar dos níveis atuais de exposição serem baixos, ainda se identificam efeitos genotóxicos em células sanguíneas, indicando um efeito sistémico.

Para além disso, observaram-se diferenças estatisticamente significativas na frequência de CBMN e na percentagem de lesão no DNA entre os subgrupos de controlo interno e externo relativamente os parâmetros analisados ( $p<0,001$ ). É de notar que os controlos externos foram recrutados apenas em Portugal e Finlândia. Por outro lado, os controlos externos portugueses ( $n=18$ ) apresentaram níveis significativamente mais baixos de CBMN ( $p<0,001$ ) do que os controlos finlandeses ( $n=15$ ), situando-se no intervalo de valores previamente descrito em meta-análises (14,15).

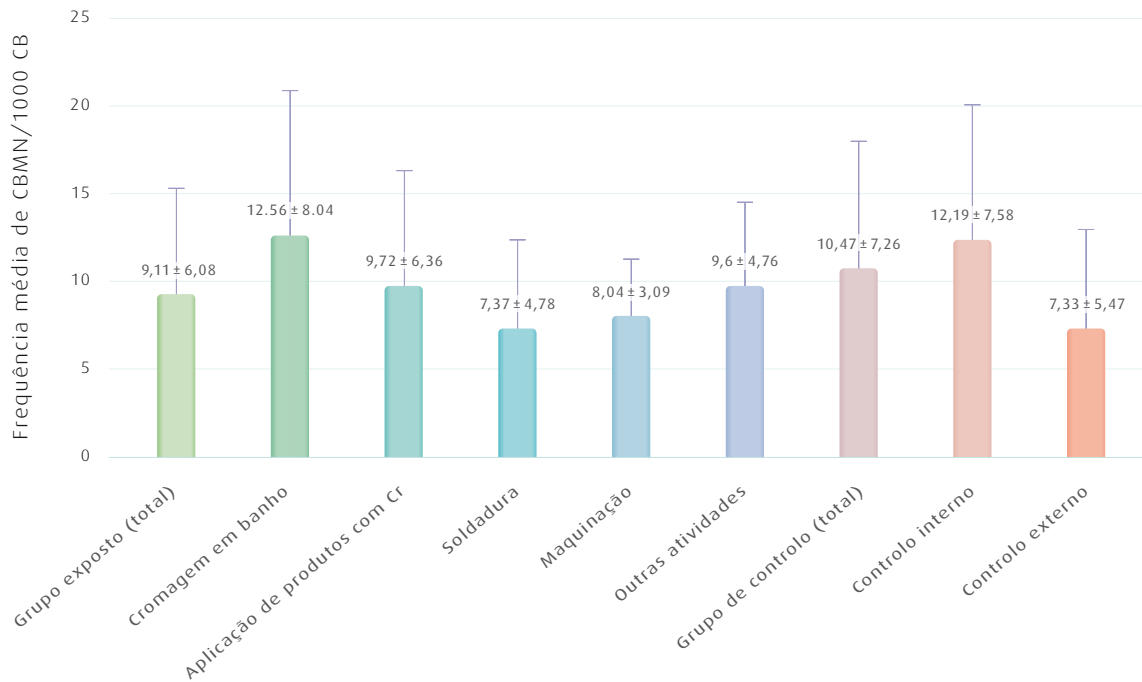


Tabela 1: Características sociodemográficas dos participantes no estudo.

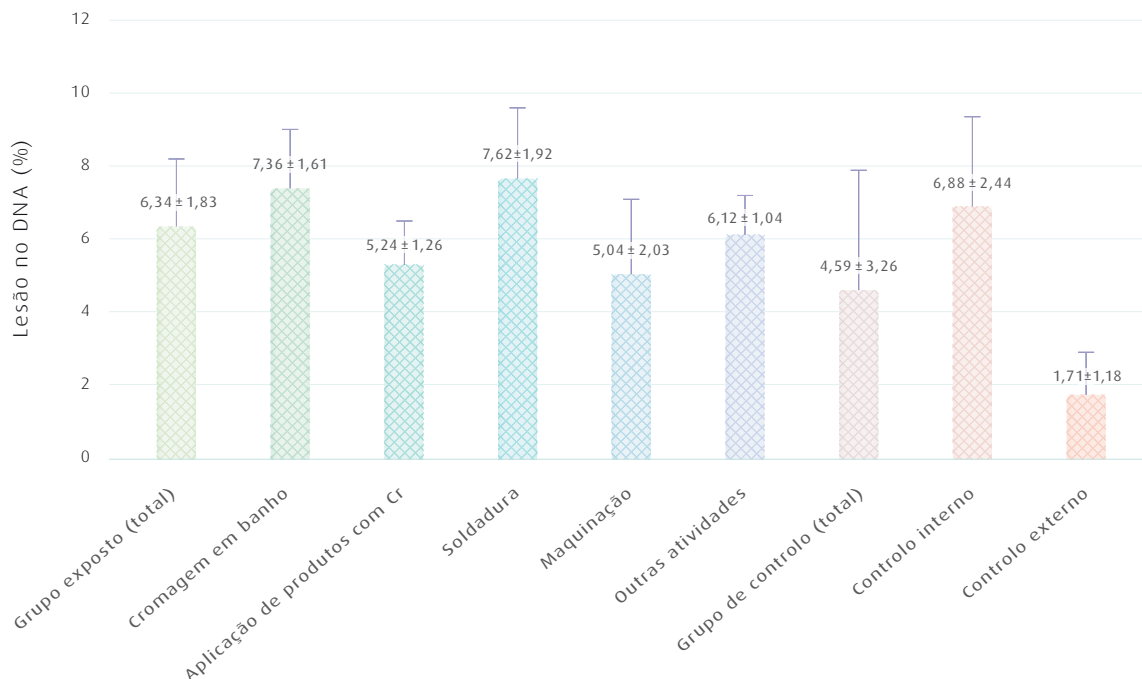
| Variáveis independentes                           | Participantes com dados de micronúcleos em linfócitos n (%) |                        |                    | Participantes com dados de lesões no DNA (ensaio cometa) n (%) |                        |                    |
|---|---|------------------------|--------------------|--|------------------------|--------------------|
|   | Total de participantes                                      | Total de trabalhadores | Total de controlos | Total de participantes   | Total de trabalhadores | Total de controlos |
| N   | 284   | 191 (67,3)             | 93 (32,7)          | 117  | 74 (63,2)              | 43 (36,8)          |
| <b>País de origem</b>                             |   |                        |                    |  |                        |                    |
| Bélgica   | 69 (24,3)   | 48 (25,1)              | 21 (22,6)          | 29 (24,8)  | 16 (21,6)              | 13 (30,2)          |
| Finlândia   | 56 (19,7)   | 33 (17,3)              | 23 (24,7)          | 20 (17,1)  | 14 (18,9)              | 6 (14,0)           |
| Países Baixos                                     | 30 (10,6)   | 20 (10,5)              | 10 (10,8)          |  |                        |                    |
| Polónia   | 71 (25,0)   | 52 (27,2)              | 19 (20,4)          | 8 (6,8)  | 5 (6,8)                | 3 (7,0)            |
| Portugal  | 58 (20,4)   | 38 (19,9)              | 20 (21,5)          | 60 (51,3)  | 39 (52,7)              | 21 (48,8)          |
| <b>Género</b>                                     |   |                        |                    |  |                        |                    |
| Feminino  | 35 (12,3)   | 7 (3,7)                | 28 (30,1)          | 15 (12,8)  | 5 (6,8)                | 10 (23,3)          |
| Masculino   | 249 (87,7)  | 184 (96,3)             | 65 (69,9)          | 102 (87,2)   | 69 (93,2)              | 33 (76,7)          |
| <b>Idade</b>                                      |   |                        |                    |  |                        |                    |
| Média ± DP  | 42,0 ± 10,4   | 41,1 ± 11,0            | 43,6 ± 8,9         | 43,5 ± 9,9   | 42,8 ± 11,0            | 44,6 ± 7,9         |
| Min-max   | 20-68   | 20-68                  | 23-63              | 20-64  | 20-64                  | 30-60              |
| <b>Hábitos tabágicos</b>                          | 279   |                        |                    | 112  |                        |                    |
| Fumador   | 78 (28,0)   | 69 (36,9)              | 12 (13,0)          | 29 (25,9)  | 22 (31,4)              | 7 (16,7)           |
| Ex-fumador  | 35 (12,5)   | 46 (24,6)              | 13 (14,1)          | 24 (21,4)  | 18 (25,7)              | 6 (14,3)           |
| Fumador   | 166 (59,5)  | 72 (38,5)              | 67 (72,8)          | 59 (52,7)  | 30 (42,9)              | 29 (69,0)          |
| <b>Consumo de álcool</b>                          | 279   |                        |                    | 112  |                        |                    |
| Sem consumo                                       | 51 (18,3)   | 34 (18,2)              | 17 (18,5)          | 30 (26,8)  | 21 (30,0)              | 9 (21,4)           |
| Baixo   | 114 (40,9)  | 79 (42,2)              | 35 (38,0)          | 30 (26,8)  | 13 (18,6)              | 17 (40,5)          |
| Elevado   | 114 (40,9)  | 74 (36,9)              | 40 (43,5)          | 52 (46,4)  | 36 (51,4)              | 16 (38,1)          |
| <b>Tipologia de área de residência</b>            | 279   |                        |                    | 112  |                        |                    |
| Urbana  | 199 (71,3)  | 130 (69,5)             | 69 (75,0)          | 84 (75,0)  | 55 (78,6)              | 29 (69,0)          |
| Rural   | 80 (28,7)   | 57 (30,5)              | 23 (25,0)          | 28 (25,0)  | 15 (21,4)              | 13 (31,0)          |
| <b>Residência em área industrial</b>              | 275   |                        |                    | 112  |                        |                    |
| Não   | 206 (74,9)  | 134 (73,2)             | 72 (78,3)          | 89 (79,5)  | 54 (77,1)              | 35 (83,3)          |
| Sim   | 69 (25,1)   | 49 (26,8)              | 20 (21,7)          | 23 (20,5)  | 16 (22,9)              | 7 (16,7)           |
| <b>Densidade de tráfego na área de residência</b> | 279   |                        |                    | 109  |                        |                    |
| Baixa   | 139 (49,8)  | 96 (51,3)              | 43 (46,7)          | 59 (52,7)  | 37 (52,9)              | 22 (52,4)          |
| Média   | 113 (40,5)  | 70 (37,4)              | 43 (46,7)          | 42 (37,5)  | 25 (35,7)              | 17 (40,5)          |
| Elevada   | 27 (9,7)  | 21 (11,2)              | 6 (6,5)            | 11 (9,8)   | 8 (11,4)               | 3 (7,1)            |



**Gráfico 1** ▾ **Frequência média de células binucleadas micronucleadas por 1000 células binucleadas (CBMN/1000 CB) em trabalhadores expostos a Cr(VI) e em controlos, estratificados de acordo com as suas atividades.**



**Gráfico 2** ▾ **Percentagem de lesão no DNA avaliada pelo ensaio do cometa em leucócitos sanguíneos de trabalhadores expostos a Cr(VI) e controlos, estratificados de acordo com as suas atividades.**





Após a desagregação dos participantes por atividade realizada, detetaram-se diferenças estatisticamente significativas na frequência de CBMN ([gráfico 1](#)) e na percentagem de lesão no DNA entre os vários subgrupos de trabalhadores ( $p \leq 0,001$ , teste KW). Uma análise estatística emparelhada mostrou que os trabalhadores envolvidos na cromagem em banho, apresentaram a frequência mais elevada de CBMN e um elevado nível de lesão no DNA, indicando instabilidade genética. Estes resultados estão em concordância com o nível de exposição a Cr(VI) mais elevado nestes trabalhadores, tal como foi previamente descrito ([16](#)). Por sua vez, os soldadores apresentaram os níveis mais elevados de lesão no DNA. Avaliou-se ainda uma possível influência do nível de crómio urinário (U-Cr) em cada biomarcador de efeito. Para tal calculou-se o valor médio de CBMN e a percentagem de lesão no DNA em três grupos de trabalhadores estratificados por tercís do nível de U-Cr. Ao considerar todos os participantes, a frequência média de CBMN apresentou uma associação significativa com a concentração de U-Cr ( $7,90 \pm 5,24$ ,  $8,54 \pm 5,38$  e  $11,1 \pm 7,09$  estimados para o 1º, 2º e 3º tercís de U-Cr, respetivamente;  $p=0,001$ ). O U-Cr afetou também o nível de lesão no DNA ( $4,71 \pm 2,89$ ,  $5,55 \pm 2,35$  e  $6,76 \pm 1,61$  para o 1º, 2º e 3º tercís de U-Cr, respetivamente;  $p=0,002$ ).

Os resultados dos diferentes biomarcadores de efeito foram explorados à luz das informações sobre fatores sociodemográficos e de estilo de vida, para avaliar a influência das diferentes variáveis independentes (por exemplo, país, idade, sexo, consumo de tabaco ou álcool) nas variáveis dependentes avaliadas, ou seja, CBMN e percentagem de lesão no DNA. Os resultados da análise mostraram que o género, faixa etária e consumo de álcool afetaram significativamente os resultados de CBMN, sendo que se verificou uma frequência superior nas mulheres relativamente aos homens ( $p=0,004$ ), no grupo acima de 50 anos relativamente ao grupo mais jovem ( $p=0,014$ ) e no subgrupo que referiu elevado consumo de álcool em comparação com os subgrupos de baixo consumo e sem consumo ( $p < 0,001$ ).

## **\_Conclusões**

No presente estudo, os biomarcadores de efeito contribuíram para a interpretação dos dados dos biomarcadores de exposição e foram mais além, auxiliando na identificação de grupos de risco que não haviam sido capturados pela análise dos biomarcadores de exposição. Um exemplo paradigmático foi fornecido pelos controlos internos (recrutados entre os funcionários administrativos das indústrias envolvidas no estudo) que apresentaram níveis de alterações genéticas nas células sanguíneas acima do esperado para um grupo “controlo”. Esta descoberta não só suporta a sua exposição a baixos níveis de Cr(VI), como também sugere que este tipo de exposição tem efeitos biológicos adversos e, portanto, pode resultar no desenvolvimento de doença a mais longo termo. Embora seja necessário prosseguir a investigação para confirmar esse achado e averiguar os fatores que podem explicá-lo, deverão ser implementadas medidas de intervenção com vista à proteção da saúde desses trabalhadores.

O facto de se terem identificado alterações genéticas em células sanguíneas dos trabalhadores expostos a Cr(VI) e, particularmente, dos trabalhadores envolvidos na cromagem em banho, sugere que os baixos níveis de Cr(VI) a que se encontram expostos ainda poderão representar um risco para a sua saúde. Assim, este estudo reforça a necessidade de uma reavaliação do limite de exposição ocupacional, bem como das medidas de gestão de risco conducentes a uma melhor proteção da saúde dos trabalhadores.

## **Agradecimentos:**

Os autores agradecem a todo o grupo internacional envolvido no estudo ocupacional de exposição a cromatos *HBM4EU chromates study group*. É também devido um agradecimento às indústrias e a todos os voluntários que participaram no estudo.

## **Financiamento:**

Este projeto recebeu financiamento do programa de investigação e inovação Horizonte 2020 da União Europeia sob o acordo de subvenção nº 733032 e recebeu cofinanciamento das organizações dos autores.



### Referências bibliográficas:

- (1) Annangi B, Bonassi S, Marcos R, et al. Biomonitoring of humans exposed to arsenic, chromium, nickel, vanadium, and complex mixtures of metals by using the micronucleus test in lymphocytes. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2016 Oct-Dec;770 (Pt A): 140-161. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.03.003>
- (2) European Commission. Scientific Committee on Occupational Exposure Limits. SCOEL/REC/386 Chromium VI compounds: Recommendation. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2017. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/75d27056-893f-11e7-b5c6-01aa75ed71a1>
- (3) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Arsenic, Metals, Fibres and Dusts: Chromium (VI) compounds. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 2012 (v. 2018);100 (Pt C):147-67. <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono100C-9.pdf>
- (4) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Chemical agents and related occupations. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 2012 (v.2018);100(Pt F):9-562. <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono100F.pdf>
- (5) Ventura C, Gomes BC, Oberemm A, et al. Biomarkers of effect as determined in human biomonitoring studies on hexavalent chromium and cadmium in the period 2008-2020. *Environ Res*. 2021 Jun;197:110998. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110998>
- (6) Alvarez CC, Bravo Gómez ME, Hernández Zavala A. Hexavalent chromium: Regulation and health effects. *J Trace Elem Med Biol*. 2021 May;65:126729. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126729>
- (7) Santonen T, Alimonti A, Bocca B, et al. Setting up a collaborative European human biological monitoring study on occupational exposure to hexavalent chromium. *Environ Res*. 2019 Oct;177:108583. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108583>
- (8) Vital N, Antunes S, Louro H, et al. Environmental Tobacco Smoke in Occupational Settings: Effect and Susceptibility Biomarkers in Workers From Lisbon Restaurants and Bars. *Front Public Health*. 2021 Jun 4;9:674142. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.674142>
- (9) Fenech M, Chang WP, Kirsch-Volders M, et al; HUMAN Micronucleus project. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat Res*. 2003 Jan 10;534(1-2):65-75. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(02\)00249-8](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(02)00249-8)
- (10) Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc*. 2007;2(5): 1084-104. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.77>
- (11) Collins AR. Measuring oxidative damage to DNA and its repair with the comet assay. *Biochim Biophys Acta*. 2014 Feb;1840(2):794-800. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.04.022>. Epub 2013 Apr 22.
- (12) Junaid M, Hashmi MZ, Malik RN, et al. Toxicity and oxidative stress induced by chromium in workers exposed from different occupational settings around the globe: A review. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2016 Oct;23(20):20151-20167. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7463-x>
- (13) Sudha S, Kripa SK, Shibily P, et al. Elevated Frequencies of Micronuclei and other Nuclear Abnormalities of Chrome Plating Workers Occupationally Exposed to Hexavalent Chromium. *Iran J Cancer Prev*. 2011 Summer;4(3):119-24. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4551294/>
- (14) Fenech M, Holland N, Zeiger E, et al. The HUMN and HUMNxL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells-past, present and future. *Mutagenesis*. 2011 Jan;26(1):239-45. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq051>
- (15) Milić M, Ceppi M, Bruzzone M, et al. The hCOMET project: International database comparison of results with the comet assay in human biomonitoring. Baseline frequency of DNA damage and effect of main confounders. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2021 Jan-Jun;787:108371. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2021.108371>
- (16) Santonen T, Porras SP, Bocca B, et al.; HBM4EU chromates study team. HBM4EU chromates study – Overall results and recommendations for the biomonitoring of occupational exposure to hexavalent chromium. *Environ Res*. 2022 Mar;204 (Pt A):111984. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111984>. Epub 2021 Sep 4.

## Avaliação do risco da mistura de crómio hexavalente, níquel e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos a partir de dados de exposição ocupacional extraídos da literatura

*Risk assessment of the mixture of hexavalent chromium, nickel and polycyclic aromatic hydrocarbons using occupational exposure data extracted from the literature*

Ana Maria Tavares<sup>1,2</sup>, Susana Viegas<sup>3</sup>, Henriqueta Louro<sup>1,2</sup>, Thomas Goen<sup>4</sup>, Tiina Santonen<sup>5</sup>, Mirjam Luijten<sup>6</sup>, Andreas Kortenkamp<sup>7</sup>, Maria João Silva<sup>1,2</sup>

m.joao.silva@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Centro de Toxicogenómica e Saúde Humana. NOVA Medical School, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

(3) Centro de Investigação em Saúde Pública. Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa, Portugal

(4) Institute of Occupational, Social and Environmental Medicine, University Erlangen-Nürnberg, Germany

(5) Finnish Institute of Occupational Health, Helsinki, Finland

(6) Centre for Health Protection, National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands

(7) Centre for Pollution Research and Policy. College of Health, Medicine and Life Sciences, Brunel University London, UK

### \_Resumo

Na maioria dos contextos laborais ocorre, em geral, exposição a misturas de substâncias químicas. Este estudo, inserido na iniciativa HBM4EU, visou avaliar o risco de exposição a misturas de crómio hexavalente [Cr(VI)], níquel (Ni) e/ou hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) a partir de dados de exposição reportados em estudos realizados em várias indústrias na Europa. Para a avaliação do risco de misturas binárias (Cr e Ni) e ternárias (Cr, Ni e HAPs) calcularam-se os Quocientes de Risco (QR) e a Soma dos Quocientes de Risco (SQR) a partir dos dados de biomonitorização humana (BMH) e de medições dessas substâncias no ar. É geralmente aceite que um valor de QR ou SQR superior a 1 indica um risco acrescido para a saúde. Para a maioria das medições de exposição a partir de biomarcadores urinários obtiveram-se valores médios de SQR > 1, sendo que os respetivos QR calculados para cada uma das substâncias individuais por vezes não excederam os valores limite (QR < 1). Estes resultados mostram não só que existe um risco acrescido para a saúde decorrente da coexposição a estas substâncias em contexto ocupacional, como também que esse risco é frequentemente subestimado no processo clássico de avaliação de risco substância a substância. Com este estudo demonstrou-se a relevância de avaliar o risco decorrente da exposição a misturas, particularmente com base em dados de BMH, sendo esta uma abordagem mais realista do contexto ocupacional e que permite uma melhor caracterização do risco com vista a uma proteção mais eficaz da saúde dos trabalhadores.

### \_Abstract

In most occupational settings exposure to chemical mixtures generally occurs. This study, developed under the HBM4EU Initiative, aimed to assess the risk from occupational exposure to mixtures of hexavalent chromium [Cr(VI)], nickel (Ni) and/or polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), based on exposure data collected from studies carried out in various European industries. To assess the risk of binary (Cr and Ni) and

ternary (Cr, Ni and PAHs) mixtures, Risk Quotients (RQ) and Sum of Risk Quotients (SQR) were calculated from human biomonitoring data (HBM) and measurements of these substances in the air. A QR or SQR value greater than 1 has been considered to indicate an increased health risk. For most exposure measurements from urinary biomarkers, mean values of SQR > 1 were obtained, with the respective QR calculated for each of the individual substances sometimes not exceeding the threshold values (QR < 1). These results show not only that there is an increased health risk arising from co-exposure to these substances in an occupational context, but also that this risk is often underestimated in the classic substance-by-substance risk assessment process. This study demonstrated the relevance of applying a mixture risk assessment, particularly based on HBM data, which is a more realistic approach to the occupational context and allows for a better risk characterization with a view to more effective protection of workers' health.

### \_Introdução

A exposição ocupacional a misturas de crómio hexavalente [Cr(VI)], níquel (Ni), e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) pode ocorrer em diversos contextos industriais, nomeadamente na produção de alumínio, nas indústrias de fundição e em siderurgia (1,2). É de salientar que o Cr, o Ni e o benzo(a)pireno, entre outros HAPs, foram das principais substâncias a que os trabalhadores de soldadura e de corte por chama estiveram expostos entre 2007 e 2009, na Finlândia (3). Para além disso, a exposição combinada ao Cr(VI) e ao Ni pode ocorrer em atividades de solda-



dura (4,5) e, ainda, em atividades como a pintura e aplicação de ligas metálicas. Estas últimas podem também resultar numa exposição combinada ao Cr(VI) e HAPs (1).

A exposição ocupacional a estas substâncias ocorre, sobretudo, por via inalatória (6-8). A exposição ao Cr(VI) tem sido associada ao aparecimento de cancro do pulmão e das vias respiratórias (9) enquanto a exposição ao Ni tem sido associada a fibrose pulmonar e cancro, assim como a displasia epitelial e asma (6,10,11). Do mesmo modo, também a exposição prolongada a HAPs, nomeadamente ao benzo(a)pireno, aumenta o risco de cancro do pulmão (8,12). Estes efeitos na saúde levaram à classificação do Cr(VI), do Ni e do benzo(a)pireno como cancerígenos para o homem (IARC, grupo I) (7,13). Apesar das evidências existentes sobre a coexposição a Cr(VI), Ni e HAPs em ambiente ocupacional, os estudos sobre os seus possíveis efeitos combinados na saúde humana são ainda escassos. Alguns estudos *in vitro* têm descrito que a exposição de células a misturas de metais pesados produz efeitos tóxicos superiores aos esperados do somatório dos seus efeitos individuais, sugerindo um efeito sinérgico (14-16). Relativamente aos mecanismos celulares e moleculares, qualquer destas substâncias tem a capacidade de causar, direta ou indiretamente, quebras no DNA e alterações cromossómicas, tais como quebras cromossómicas e formação de micronúcleos (8,12). Para além disso, ambos os metais pesados podem ainda interferir nos mecanismos de reparação do DNA (6,17,18). Assim, também numa perspetiva mecanística é plausível que ocorram interações aos níveis do organismo, celular ou molecular que poderão determinar efeitos biológicos e/ou patológicos nos trabalhadores expostos, difíceis de prever a partir dos efeitos de cada uma das substâncias.

No que respeita à regulamentação, a mesma continua a basear-se fundamentalmente numa avaliação de risco suportada na toxicidade de cada substância individual (19,20), não considerando, portanto, um possível efeito combinado decorrente da coexposição a Cr(VI), Ni e HAPs.

O presente estudo foi desenvolvido no âmbito da iniciativa europeia em Biomonitorização Humana (HBM4EU) que visou desenvolver e harmonizar atividades de biomonitorização humana (BMH) na União Europeia, com vista a suportar futuras políticas de segurança de compostos químicos e suas misturas (<https://www.hbm4eu.eu/about-hbm4eu>).

### **\_Objetivo**

O estudo teve como objetivo realizar uma avaliação de risco da mistura de Cr(VI), Ni e/ou HAPs em vários contextos ocupacionais na Europa, baseando-se em dados de exposição externa e de biomonitorização humana extraídos da literatura.

### **\_Métodos**

#### *Pesquisa bibliográfica*

A pesquisa realizou-se entre maio e junho de 2020 através da organização de palavras-chave como “*human biomonitoring*”, “*Cr(VI)*”, “*nickel*” e “*PAHs*” em expressões de pesquisa que, posteriormente, se aplicaram na base de dados Pubmed® (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>). Definiram-se os seguintes critérios de inclusão:

- 1) Estudos contendo dados sobre biomarcadores de exposição ao Cr, Ni e/ou HAPs;
- 2) BMH realizada em ambiente ocupacional;
- 3) Estudos realizados em países da União Europeia.

Apenas se consideraram os artigos científicos com dados em humanos, redigidos em inglês, português, espanhol ou francês, e publicados entre 2000 e 2020. Extraíram-se, no total, 356 artigos e, após remoção dos duplicados, analisaram-se 293. Numa primeira fase, analisaram-se apenas títulos e resumos, sendo que os artigos que cumpriam os critérios de inclusão passaram a uma segunda fase (n=60), em foram analisados na sua totalidade. Pesquisaram-se ainda outros artigos em listas de referências, resultando na inclusão de mais um artigo. No final, a pesquisa resultou na seleção de 22 artigos, dos quais se extraíram dados de biomarcadores na urina e dados de exposição externa (medições no ar).



### Avaliação do risco da exposição a misturas

Os valores de exposição extraídos a partir dos artigos selecionados foram utilizados para calcular a Soma dos Quocientes de Risco (SQR), tal como descrito na equação 1:

$$SQR = \sum_{i=1}^n \frac{NE_i}{VR_i} \quad (\text{Equação 1})$$

O Quociente de Risco (QR) é definido pelo quociente entre o nível de exposição (NE<sub>i</sub>) e os valores de referência (VR<sub>i</sub>), e foi calculado para cada uma das substâncias presentes na mistura. O valor de SQR — somatório dos QR de todas as substâncias presentes na mistura — indica se a mistura excederá o nível de risco considerado aceitável, isto é, um SQR=1. Desta forma foi possível inferir para cada estudo se a mistura representaria ou não um risco para a saúde dos trabalhadores.

Para o cálculo dos QR e SQR utilizaram-se valores de referência no ar, assim como os seus equivalentes de exposição na urina, os quais são apresentados na [tabela 1](#).

### \_Resultados e discussão

Em 19 dos 22 artigos selecionados eram apresentados dados de biomarcadores de exposição na urina, [eram ainda apresentados biomarcadores no sangue (n=5), no ar exalado (n=5) e no cabelo e saliva (n=1)], dos quais 15 mediram níveis de Cr e Ni (U-Cr e U-Ni), e dois mediram U-Cr, U-Ni e 1-hidroxipireno na urina (U-1-OHP).

As atividades de soldadura foram as mais frequentemente estudadas (n=9), seguindo-se estudos em incineradoras de resíduos perigosos (n=4). Todos os estudos em trabalhadores de soldadura mediram níveis de U-Cr e U-Ni. No [gráfico 1](#) estão representados os valores médios de QR e SQR obtidos para cada tipo de soldadura baseados em medições no ar e na urina. Os valores de SQR calculados com base em medições no ar variaram entre 0,12 e 31,7 enquanto os calculados a partir dos valores medidos na urina variaram entre 0,56 e 10,9.

Os valores de SQR no ar foram excedidos na maioria dos estudos focados em atividades de soldadura, obtendo-se valores médios de SQR > 1 para todos tipos de soldadura ([gráfico 1a](#)). No que respeita às medições de U-Cr e U-Ni, foram também obtidos valores médios de SQR>1 para a maioria dos tipos de soldadura, apesar de nalguns casos os valores de QR não excederem o valor de 1, pelo menos para um dos metais ([gráfico 1b](#)). Estes dados mos-

**Tabela 1:** Valores toleráveis de risco e valores-limite utilizados nos cálculos da avaliação de risco de misturas.

| Substâncias    | Valores toleráveis no ar <sup>a</sup> (µg/m <sup>3</sup> ) | Valores-limite na urina          |                                  |
|----------------|--|----------------------------------|----------------------------------|
|                |  | µg/g creatinina                  | µg/L                             |
| Cr(VI)         | 1,0  | 1,20 <sup>b</sup>                | 1,63 <sup>c</sup>                |
| Níquel         | 6,0  | 2,21 <sup>c</sup>                | 3,00 <sup>d</sup>                |
| Benzo(a)pireno | 0,07   | 1,03 <sup>d</sup> (para o 1-OHP) | 1,40 <sup>e</sup> (para o 1-OHP) |

<sup>a</sup> *Technical Rules for Hazardous Substances*, AGS, 2021 <sup>(21)</sup>.

<sup>b</sup> Baseado na equação de regressão apresentada por Viegas, et al. (2022):  $y=0.647+0.541x$  <sup>(22)</sup>.

<sup>c</sup> Conversão de µg/g creatinina para µg/L e de µg/L para µg/g creatinina através do valor-padrão da creatinina (~1.36 g/L de urina).

<sup>d</sup> Valor recomendado pelo SCOEL como valor biológico de referência (*Biological Guidance Value – BGV*) para o níquel <sup>(23)</sup>.

<sup>e</sup> Calculado a partir da relação dose-resposta entre a concentração de Benzo(a)pireno no ar e o 1-hidroxipireno (1-OHP) na urina; *RAC note*, ECHA, 2018 <sup>(24)</sup>.



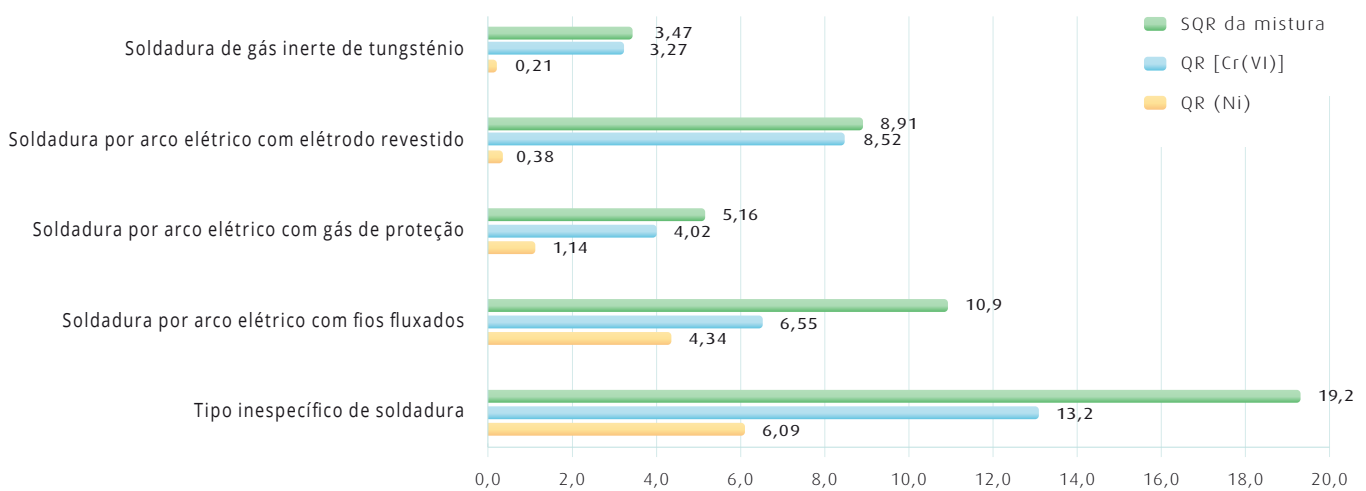
artigos breves\_ n. 7

tram que, apenas medindo a exposição a uma das substâncias individualmente, em alguns casos, não teria sido estimado um risco para a saúde humana, o que destaca a importância de considerar todas as substâncias envolvidas na mistura de modo a realizar uma avaliação do risco mais realista.

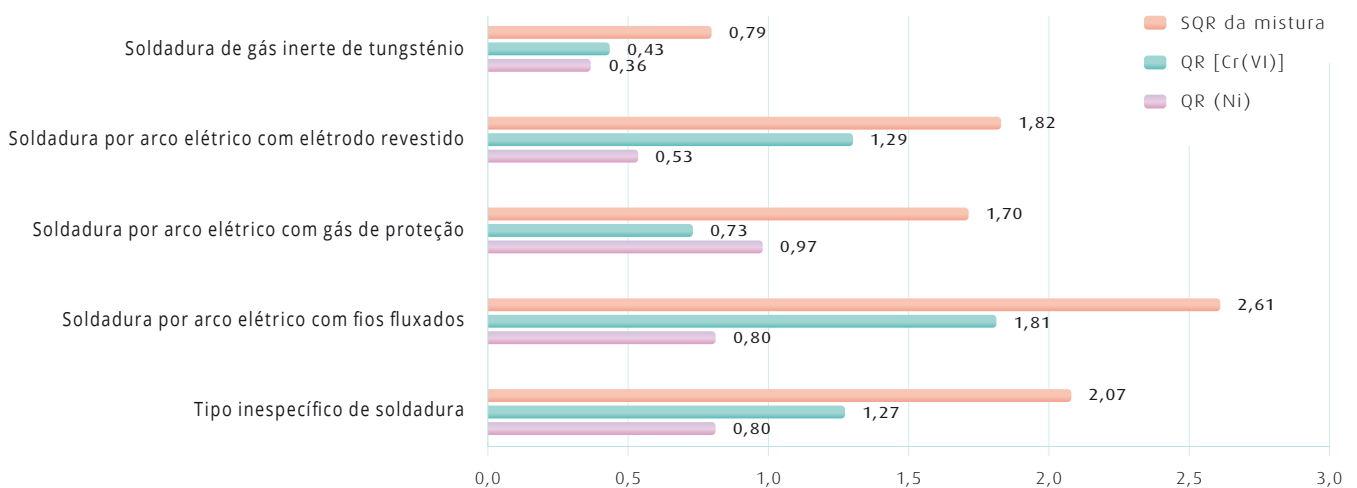
Estes resultados são preocupantes, uma vez que o Cr(VI) e o Ni são cancerígenos e ambos têm o pulmão como órgão alvo (7,18). O facto de possuírem modos de ação semelhantes aumenta ainda a possibilidade de ocorrerem efeitos interativos entre ambas as substâncias ao nível celular. Apesar disso, os seus efeitos combinados não são habi-

**Gráfico 1 (a,b)** Avaliação de risco em misturas por tipo de soldadura, baseados nos níveis de Cr e Ni: medidos no ar (exposição externa) e medidos na urina (exposição interna).

A – Exposição externa



B – Exposição interna



Um QR ou SQR > 1 indica risco de efeitos na saúde.



tualmente considerados em atividades de rotina de avaliação do risco ocupacional.

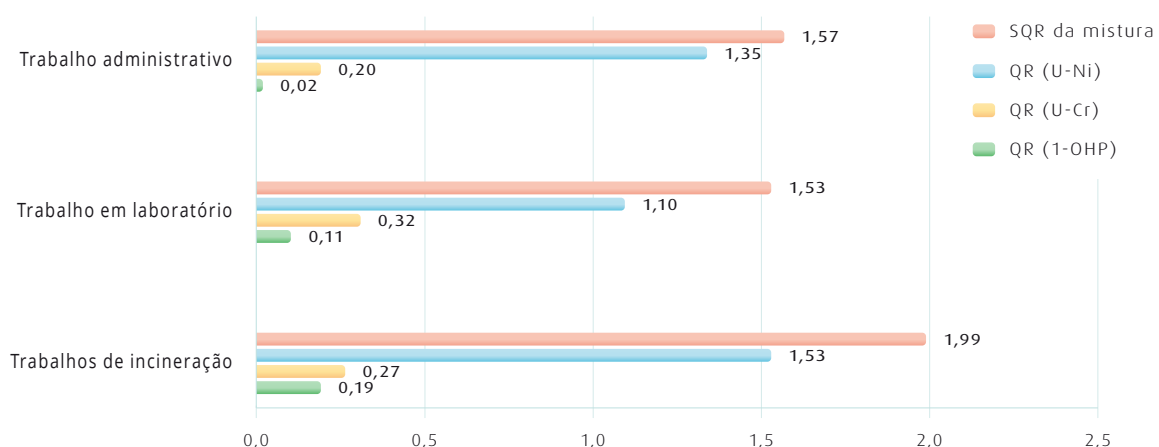
Comparando o **gráfico 1a** e **1b** podemos observar que os valores de SQR foram mais elevados quando calculados a partir das medições no ar do que a partir de medições na urina (**gráfico 1**). Este facto pode dever-se ao uso de equipamento de proteção individual por parte dos trabalhadores, levando a uma menor exposição interna a estas substâncias, relativamente ao esperado a partir dos dados de exposição externa. Contudo, é também importante salientar que a avaliação da exposição baseada unicamente na exposição externa poderá ser insuficiente para detetar potenciais riscos para a saúde. Considerar a BMH na avaliação de risco é vantajoso uma vez que a mesma é representativa de todas as vias de exposição, traduzindo-se numa fiável avaliação do nível de exposição atingindo no organismo.

De entre os estudos analisados apenas dois reportaram valores de exposição na urina para as três substâncias em estudo: Cr, Ni e HAPs (medidos através do metabólito urinário do pireno, o 1-OHP), ambos realizados em incineradoras de resíduos perigosos. No entanto, já tem sido demonstrada a coexposição a estas substâncias em diversos outros contextos ocupacionais, nomeadamen-

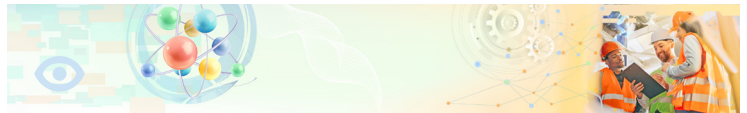
te em centros de reparação e pintura automóvel, laboratórios de análise química, siderurgias, e indústria aeronáutica (**1,2,3,25**). Deste modo, constata-se que são ainda escassos os estudos sobre a exposição ocupacional a misturas de forma geral, e em particular destas substâncias. No **gráfico 2** estão representados os valores médios de QR e SQR obtidos para cada atividade.

Como se pode verificar, obtiveram-se valores de SQR > 1 em todos os cenários de exposição, inclusive em atividades laborais consideradas de baixa exposição (ex.: funções administrativas), apesar dos valores de QR < 1 observados para o Cr e HAPs. O facto destes trabalhadores administrativos apresentarem valores de exposição a estas misturas que se revelaram preocupantes, pode dever-se aos mesmos exercerem as suas funções nas mesmas instalações industriais, embora em espaços diferentes. Os trabalhadores administrativos não utilizam, em geral, qualquer equipamento de proteção individual, contrariamente aos restantes trabalhadores que têm informação sobre a necessidade de se protegerem. Os resultados apresentados evidenciam também o risco acrescido em que incorrem esses trabalhadores nas indústrias visadas bem como a necessidade de os incluir em iniciativas de vigilância e/ou intervenção ao nível da saúde ocupacional.

**Gráfico 2** Resultados da avaliação de risco em misturas por tipo de atividade, baseados nos níveis de Cr, Ni e 1-OHP medidos na urina dos trabalhadores (exposição interna).



Um QR ou SQR > 1 indica risco de efeitos na saúde.



## Conclusões

Os resultados deste estudo salientam que uma avaliação de risco unicamente baseada na exposição a substâncias individuais e seus efeitos poderá ser insuficiente, por não considerar potenciais interações resultantes da exposição combinada e/ou cumulativa a essas substâncias. A aplicação de uma abordagem de avaliação de risco de misturas a dados de BMH obtidos nestes ou noutros contextos laborais, assim como a colaboração entre diferentes disciplinas – toxicologia, epidemiologia e avaliação de risco, entre outras – permitirão uma melhor caracterização do risco dos trabalhadores. Esta constituirá uma abordagem mais realista do contexto ocupacional, fornecerá evidência científica de suporte à atuação das autoridades competentes e permitirá uma proteção mais eficaz da saúde dos trabalhadores.

## Financiamento:

Este estudo recebeu financiamento do programa de investigação e inovação Horizonte 2020 da União Europeia, sob o acordo de subvenção n.º 733032 (Projeto HBM4EU) e recebeu cofinanciamento das organizações dos autores.

## Referências bibliográficas:

- (1) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Chemical agents and related occupations. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2012;100(Pt F). <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono100F.pdf>
- (2) Wang T, Feng W, Kuang D, et al. The effects of heavy metals and their interactions with polycyclic aromatic hydrocarbons on the oxidative stress among coke-oven workers. *Environ Res*. 2015 Jul;140:405-13. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.04.013>
- (3) European Agency for Safety and Health at Work. Exposure to carcinogens and work-related cancer: A review of assessment methods: European Risk Observatory Report. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2014. <https://osha.europa.eu/sites/default/files/616-SoaR-work-related-cancer-with-executive-summary.pdf>
- (4) Pesch B, Lehnert M, Weiss T, et al. Exposure to hexavalent chromium in welders: Results of the WELDOX II field study. *Ann Work Expo Heal*. 2018;62(3):351-61. <https://doi.org/10.1093/annweh/wxy004>
- (5) Weiss T, Pesch B, Lotz A, et al. Levels and predictors of airborne and internal exposure to chromium and nickel among welders-Results of the WELDOX study. *Int J Hyg Environ Health*. 2013;216(2):175-83. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2012.07.003>
- (6) Annangi B, Bonassi S, Marcos R, et al. Biomonitoring of humans exposed to arsenic, chromium, nickel, vanadium, and complex mixtures of metals by using the micronucleus test in lymphocytes. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2016 Oct-Dec;770(Pt A):140-61. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.03.003>
- (7) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Arsenic, Metals, Fibres and Dusts: Nickel and Nickel Compounds. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2012;100 (Pt C):169-218. <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono100C.pdf>
- (8) Kim KH, Jahan SA, Kabir E, et al. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environ Int*. 2013 Oct;60:71-80. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.07.019>
- (9) U.S. National Institute for Occupational Safety and Health. Criteria for a Recommended Standard. Occupational exposure to hexavalent chromium. Washington, 2013. [https://www.cdc.gov/niosh/docs/2013-128/pdfs/2013\\_128.pdf?id=10.26616/NIOSHPUB2013128](https://www.cdc.gov/niosh/docs/2013-128/pdfs/2013_128.pdf?id=10.26616/NIOSHPUB2013128)
- (10) Barchowsky A, O'Hara KA. Metal-induced cell signaling and gene activation in lung diseases. *Free Radic Biol Med*. 2003;34(9):1130-5. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(03\)00059-5](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(03)00059-5)
- (11) Grimsrud TK, Berge SR, Haldorsen T, et al. Exposure to different forms of nickel and risk of lung cancer. *Am J Epidemiol*. 2002;156(12):1123-32. <https://doi.org/10.1093/aje/kwf165>
- (12) European Commission. Scientific Committee on Occupational Exposure Limits. SCOEL/REC/404 Polycyclic Aromatic Hydrocarbon mixtures containing benzo[a]pyrene (PAH): Recommendation. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2016. <https://op.europa.eu/pt/publication-detail/-/publication/cfde0907-c67f-11e6-a6db-01aa75ed71a1>
- (13) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Benzo[a]pyrene. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2014;100 (Pt F):111-144. <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono100F-14.pdf>
- (14) Feng Z, Hu W, Rom WN, et al. Chromium(VI) exposure enhances polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA binding at the p53 gene in human lung cells. *Carcinogenesis*. 2003;24(4):771-8. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgg012>
- (15) Peng C, Muthusamy S, Xia Q, et al. Micronucleus formation by single and mixed heavy metals/loids and PAH compounds in HepG2 cells. *Mutagenesis*. 2015;30(5):593-602. <https://doi.org/10.1093/mutage/gev021>
- (16) Sánchez-Martín FJ, Fan Y, Carreira V, Ovesen JL, et al. Long-term coexposure to hexavalent chromium and B[a]P causes tissue-specific differential biological effects in liver and gastrointestinal tract of mice. *Toxicol Sci*. 2015;146(1):52-64. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfv070>
- (17) Das KK, Reddy RC, Bagoji IB, et al. Primary concept of nickel toxicity – An overview. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2019;30(2):141-52. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2017-0171>
- (18) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Arsenic, Metals, Fibres and Dusts: Chromium (VI) compounds. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2012;100 (Pt C):147-67. <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono100C-9.pdf>
- (19) Kortenkamp A, Faust M. Regulate to reduce chemical mixture risk. *Science*. 2018 Jul 20;361(6399):224-6. <https://doi.org/10.1126/science.aat9219>
- (20) Rotter S, Beronius A, Boobis AR, et al. Overview on legislation and scientific approaches for risk assessment of combined exposure to multiple chemicals: the potential EuroMix contribution. *Crit Rev Toxicol*. 2018;48(9):796-814. <https://doi.org/10.1080/10408444.2018.1541964>
- (21) Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Ausschuss für Gefahrstoffe. Technische Regeln für Gefahrstoffe: Risikobezogenes Maßnahmenkonzept für Tätigkeiten mit krebserzeugenden Gefahrstoffen (TRGS 910, Fassung 1.7.2022). [https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRGS/pdf/TRGS-910.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=17](https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRGS/pdf/TRGS-910.pdf?__blob=publicationFile&v=17)
- (22) Viegas S, Martins C, Bocca B, et al. HBM4EU Chromates Study: Determinants of Exposure to Hexavalent Chromium in Plating, Welding and Other Occupational Settings. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Mar 19;19(6):3683. <https://doi.org/10.3390/ijerph19063683>
- (23) ECHA Committee for Risk Assessment RAC. Opinion on scientific evaluation of occupational exposure limits for Nickel and its compounds. Helsinki: European Chemicals Agency. 2018. <https://echa.europa.eu/documents/10162/9e050da5-b45c-c8e5-9e5e-ata2ce908335>



artigos breves\_ n. 7

- (24) ECHA Committee for Risk Assessment RAC. Note on reference dose-response relationship for the carcinogenicity of pitch, coal tar, high temperature and on PBT and vPvB properties. Helsinki: European Chemicals Agency. 2018.  
[https://echa.europa.eu/documents/10162/17229/ctpht\\_rac\\_note\\_en.pdf](https://echa.europa.eu/documents/10162/17229/ctpht_rac_note_en.pdf)
- (25) Colman Lerner JE, Elordi ML, Orte MA, et al. Exposure and risk analysis to particulate matter, metals, and polycyclic aromatic hydrocarbon at different workplaces in Argentina. *Environ Sci Pollut Res.* 2018;25(9):8487-96.  
<https://doi.org/10.1007/s11356-017-1101-0>

## **Aplicação da biomonitorização humana para avaliação da exposição ocupacional a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos na Europa: uma revisão da literatura**

### *Application of human biomonitoring to assess occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Europe: a literature review*

Henriqueta Louro<sup>1,2</sup>, Bruno Costa Gomes<sup>1,2</sup>, Anne Thoustrup Saber<sup>3</sup>, Anna Laura Iamiceli<sup>4</sup>, Thomas Göen<sup>5</sup>, Kate Jones<sup>6</sup>, Andromachi Katsonouri<sup>7</sup>, Christiana Neophytou<sup>7,8</sup>, Ulla Vogel<sup>3,8</sup>, Célia Ventura<sup>1,2</sup>, Axel Oberemm<sup>9</sup>, Radu Corneliu Duca<sup>10,11</sup>, Mariana F. Fernandez<sup>12-14</sup>, Nicolas Olea<sup>12,13</sup>, Tiina Santonen<sup>15</sup>, Susana Viegas<sup>16,17</sup>, Maria João Silva<sup>1,2</sup>

henriqueta.louro@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Centro de Toxicogenómica e Saúde Humana. NOVA Medical School, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

(3) National Research Centre for the Working Environment, Copenhagen, Denmark

(4) Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy

(5) Institute and Outpatient Clinic of Occupational, Social and Environmental Medicine, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Germany

(6) Health and Safety Executive, Harpur Hill, United Kingdom

(7) Cyprus State General Laboratory, Ministry of Health, Cyprus

(8) DTU National Food Institute, Denmark

(9) German Federal Institute for Risk Assessment, Berlin, Germany

(10) Unit Environmental Hygiene and Human Biological Monitoring. Department of Health Protection, Laboratoire National de Santé, Dudelange, Luxembourg

(11) Centre for Environment and Health. Department of Public Health and Primary Care, Katholieke Universiteit Leuven, Leuven, Belgium

(12) Centre of Biomedical Research. University of Granada, Granada, Spain

(13) Biosanitary Research Institute of Granada, Granada, Spain

(14) Consorcio de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública, Madrid, Spain

(15) Finnish Institute of Occupational Health, Työterveyslaitos, Finland

(16) Centro de investigação em Saúde Pública. Escola Nacional de saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

(17) Comprehensive Health Research Center, Lisboa, Portugal

### **\_Resumo**

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) são produtos químicos com impacto em saúde ocupacional, pelo que a avaliação da exposição humana através de estudos de biomonitorização tem aumentado nos últimos anos. No entanto, os dados obtidos são ainda insuficientes para os reguladores e decisores políticos. Este trabalho, no contexto da Iniciativa Europeia em Biomonitorização Humana (HBM4EU), descreve uma revisão da literatura sobre a exposição ocupacional aos HAPs na Europa, entre 2008 e 2022, com o objetivo de identificar as vantagens e limitações dos vários biomarcadores de exposição e/ou de efeito, bem como o conhecimento em falta para melhorar a regulamentação. Os resultados da análise dos 42 artigos elegíveis para inclusão nesta revisão demonstram que o biomarcador de exposição mais utilizado é o 1-hidroxipireno urinário, sendo os biomarcadores de efeito mais comuns, biomarcadores de stresse oxidativo e genotoxicidade. Globalmente, verificou-se a necessidade de desenvolver novas abordagens de recolha de dados e amostras, bem como a seleção apropriada de biomarcadores de forma a obter dados fiáveis e comparáveis em diferentes setores industriais. Além disso, a aplicação de biomarcadores de efeito contribui para a identificação de ambientes de trabalho ou atividades de alto risco, possibilitando medidas de mitigação e gestão de risco.

### **\_Abstract**

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are chemicals with impact on occupational health, therefore the assessment of human exposure using biomonitoring has increased in recent years. However, the data obtained are still insufficient to be useful to regulators and policy makers. This work, in the context of the Human Biomonitoring for Europe Initiative (HBM4EU), describes a review of the literature on occupational exposure to PAHs in Europe, between 2008 and 2022, with the aim of identifying the advantages and limitations of the various biomarkers of exposure and/or effect, as well as the missing knowledge to improve regulation in occupational settings. The results of the analysis of the 42 articles eligible for inclusion in this review demonstrate that the most used biomarker of exposure is urinary 1-hydroxypyrene, with the most common biomarkers of effect being the measurement of oxidative stress and genotoxicity. Overall, it was noted the need to develop new approaches to samples and data collection, as well as the appropriate selection of biomarkers in order to obtain reliable and comparable data in different industrial sectors. In addition, the application of effect biomarkers contributes to the identification of high-risk work environments or activities, enabling measures of risk mitigation and management.



## \_Introdução

A exposição ocupacional aos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) ocorre principalmente em setores industriais como indústria do carvão, impregnação, processos com alcatrão, creosoto e betume, produção e fundição de alumínio, indústria de asfalto, mineração, metalurgia, refinação de petróleo e também em setores não industriais como o combate a incêndios (1). Os trabalhadores encontram-se expostos aos HAPs por inalação, ingestão e absorção dérmica (2), sendo a inalação e o contato dérmico as principais vias de exposição (3,4).

De um modo geral, os HAPs são reconhecidamente perigosos para a saúde humana, sendo o seu principal efeito o cancro do pulmão e da pele e, em menor grau, a toxicidade cardiovascular (5-7) e dérmica (8). Podem também atuar como desreguladores endócrinos (9).

A monitorização dos HAPs é geralmente realizada por meio de amostragem de ar no local de trabalho, o que permite caracterizar a exposição externa e estimar a exposição dos trabalhadores por inalação. Por outro lado, os biomarcadores de exposição aos HAPs, medidos na urina ou no sangue, permitem a avaliação do nível de exposição interna, resultado da exposição que ocorre por via inalatória, dérmica e ingestão. Os métodos disponíveis para monitorização do ar permitem a medição dos 16 HAPs prioritários. O Comité Científico sobre Exposição Ocupacional Limites (SCOEL, na sigla em inglês) concluiu, que o 1-hidroxipireno (1-OH-PYR) representa o principal metabolito do pireno em mamíferos, sendo aceite como um marcador de exposição a HAPs para o qual estão disponíveis métodos analíticos confiáveis e robustos (5).

## \_Objetivos

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sistemática da literatura publicada entre 2008 e 2022 sobre a exposição ocupacional a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos na Europa, com utilização de biomarcadores de exposição e/ou efeito. Adicionalmente, identificaram-se possíveis lacunas no conhecimento sobre a utilização de biomonitorização humana em contexto ocupacional e analisaram-se quais os biomarcadores de exposição e de efeito mais comuns e adequados para avaliar os efeitos biológicos precoces.

## \_Material e métodos

Foi conduzida uma pesquisa da literatura sobre o uso de biomonitorização humana na exposição ocupacional aos HAPs, conforme apresentado na [tabela 1](#) (10), recorrendo à metodologia PRISMA (11).

Após a eliminação de duplicados, os títulos e resumos foram selecionados de forma independente por quatro membros da equipa, utilizando critérios de inclusão previamente estabelecidos: i) data de publicação entre janeiro de 2008 e março de 2022; ii) inglês; iii) dados europeus; iv) estudos com dados quantitativos de exposição ocupacional a HAPs. Os artigos que não cumpriam os critérios de inclusão foram excluídos das análises posteriores ([figura 1](#)). Os dados sobre os biomarcadores de efeito usados, bem como os resultados obtidos, foram igualmente recolhidos na pesquisa.

Tabela 1: Termos utilizados para a pesquisa bibliográfica.

| Fonte                 | Palavras-chave  | Filtros  |
|-----------------------|---|--|
| <i>Pubmed</i>         | HAPs; hidrocarbonetos aromáticos policíclicos; monitorização ambiental; biomonitorização; exposição ocupacional | Texto integral; 01/2008 a 03/2022; inglês; humanos |
| <i>Web of Science</i> | HAPs; hidrocarbonetos aromáticos policíclicos; biomonitorização; exposição ocupacional                          | Todas as bases de dados; 01/2008 a 03/2022; inglês |
| <i>Scopus</i>         | hidrocarbonetos aromáticos policíclicos; biomonitorização; exposição ocupacional                                | Todas as bases de dados; 01/2008 a 03/2022; inglês |



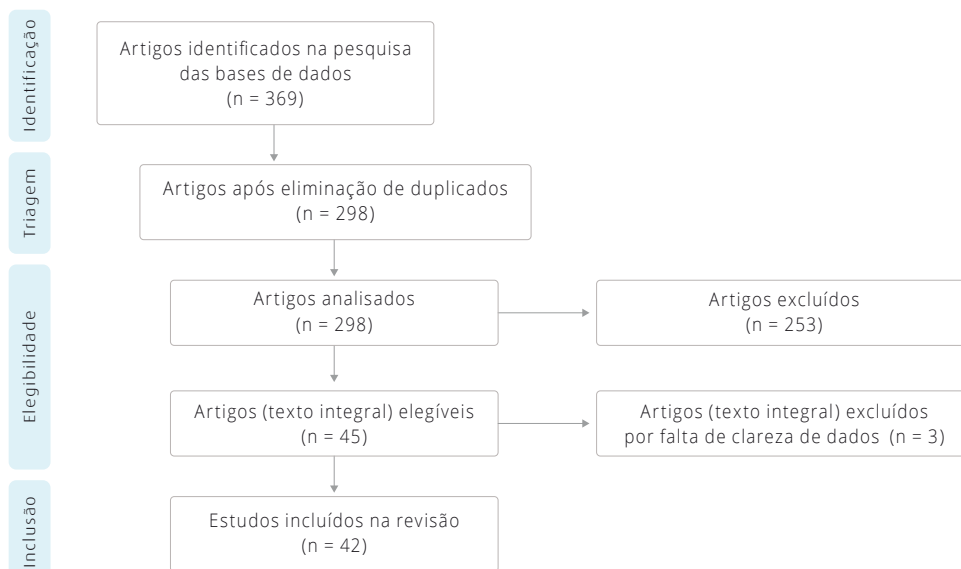
## \_Resultados e discussão

Foram identificados inicialmente 369 artigos (10). Entre esses, 42 foram considerados elegíveis de acordo com os critérios de inclusão (figura 1).

Entre os 42 artigos elegíveis neste estudo, as principais atividades ocupacionais descritas foram combate a incêndios, indústria de carvão, asfalto/betume/pavimentação, indústrias metalúrgicas e de elétrodos, produção de alumínio, incineração de resíduos, trabalhadores de restaurantes, polícias, motoristas, e enfermeiros envolvidos na aplicação tópica de pomada de alcatrão (11). Adicionalmente, trabalhadores da força aérea, de espaços verdes e telhados, trabalhadores da marinha, bem como profissionais de saúde, foram também referidos. Os biomarcadores mais utilizados foram o 1-OH-PYR(32/42 estudos), seguido do 3-hidroxibenzo-(a)-pireno(3-OH-BaP) (7/42 estudos). Além disso, outros biomarcadores têm sido usados, como 1-hidroxinaftaleno(1-naftol,1-OH-NAP), 2-hidroxinaftaleno, 2-hidroxifluoreno, 9-hidroxifluoreno(9-OH-FLU), 1-hidroxifenantreno(1-OH-PHE), 2-hidroxifenantreno(2-OH-PHE), 3-hidroxifenantreno(3-OH-PHE), 4-hidroxifenantreno(4-OH-PHE), 9-hidroxifenantreno(9-OH-PHE) e 6-hidroxicriseno (6-OH-CHR).

Em relação à exposição externa, os níveis individuais de exposição a HAPs presentes no ar variam de acordo com o setor da indústria, sendo que nem todos os estudos elegíveis para esta revisão analisaram as possíveis associações entre medições no ar e biomarcadores de exposição. Os HAPs mais detetados nas indústrias metalúrgicas francesas foram Pyr, BaP, Nap, Flu e Phe (12,13). Nesses estudos, o 1-OH-PYR correlacionou-se com o pireno gasoso ou em partícula, enquanto o 3-OH-BaP não se correlacionou com os níveis de BaP medidos no ar (12,13). Noutro estudo, os mesmos autores relataram uma fraca correlação de 1-OH-NAP, 2-OH-NAP, 1-OH-PHE e 3-OH-PHE com os níveis medidos no local de trabalho dos HAPs e uma forte correlação de 2-OH-FLU, 3-OH-FLU e 2-OH-PHE com níveis de ar dos HAPs (13). Adicionalmente, três estudos mostraram uma correlação entre os HAPs presente em amostras de ar e os seus metabolitos na urina (15-16). Em relação às indústrias de asfalto, a maioria dos estudos que usam a concentração de HAPs no ar e biomarcadores foram realizados na Alemanha (17-19) e mediram os 16 HAPs considerados prioritários e, como biomarcadores de exposição, os autores utilizaram 1-OH-PYR,  $\Sigma$ OH-PHE e  $\Sigma$ OH-NAP. Os autores não observaram correlação entre as concentra-

Figura 1: Diagrama apresentando as várias fases da seleção de estudos de biomonitorização humana, de acordo com a metodologia PRISMA.





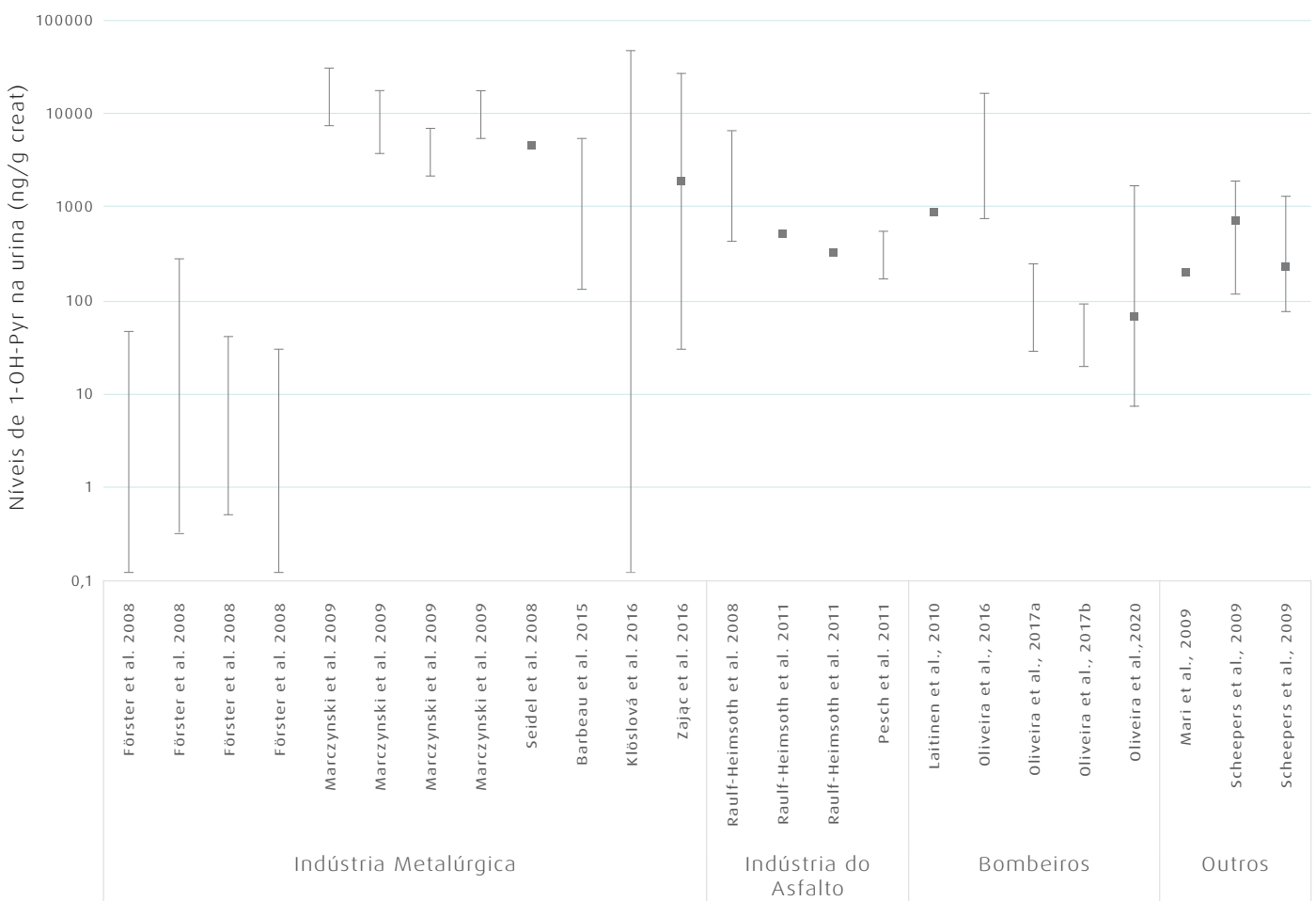
ções no ar e os biomarcadores urinários. Noutras indústrias, como fornos de carvão (20) e produção de alumínio (21) os marcadores de HAPs usados para monitorização do ar foram  $\Sigma$ HAPs e BaP. Um grupo demonstrou a correlação entre 1-OH-PYR,  $\Sigma$ HAPs e BaP, podendo o 1-OH-PYR ser um substituto para BaP e HAPs (58). Além disso, os níveis de 1-OH-PYR medidos na urina apresentaram uma distribuição alargada nos diferentes estudos (gráfico 1), refletindo amplas variações de exposição.

Este facto pode estar relacionado com a exposição ter sido por via inalatória ou por outras vias, como por absorção dérmica, sugerindo que a internalização de HAPs pela via dérmica pode ser significativa. Por esse motivo, o uso de

dados de biomonitorização para a avaliação da exposição de trabalhadores é importante.

Entre os 42 estudos selecionados para a presente revisão, onze relataram o uso de biomarcadores de efeito na avaliação da exposição ocupacional aos HAPs (4,22,18,23-24,25-31). Estes incluem principalmente marcadores de genotoxicidade/stresse oxidativo (nove estudos) e efeitos cardiovasculares (seis estudos). Nove estudos focaram-se em lesões no DNA: lesão oxidativa do DNA ou RNA, quebras de cadeias de DNA e/ou micronúcleos. Por exemplo, foram descritos níveis aumentados de 8-oxo-dG e quebras na cadeia de DNA em trabalhadores de fornos de carvão, fornos refratários, elétrodo de grafite e trabalhadores do

Gráfico 1 Distribuição dos níveis de 1-OH-PYR urinários nas várias indústrias encontradas na literatura.



Creat = creatinina. São apresentados os valores mínimo e máximo juntamente com a mediana/média (quadrado branco), quando disponível.



conversor (22) e de 8-oxo-dGua e quebras no DNA em trabalhadores da construção expostos ao betume (24), bem como em trabalhadores portugueses de restaurantes expostos ao fumo de tabaco ambiental (31), não sendo observada nenhuma associação clara entre a exposição ocupacional ao fumo passivo e a indução de genotoxicidade. No entanto, os leucócitos dos indivíduos expostos apresentavam níveis mais baixos de lesões *ex vivo* em resposta a um desafio genotóxico, em comparação com os não expostos, sugerindo uma possível resposta adaptativa (32). Seis estudos também incluíram biomarcadores de efeitos cardiovasculares.

## Conclusões

Esta revisão de literatura revelou que a maioria dos estudos utiliza o BaP como marcador para exposição geral ao HAP no ar, justificado principalmente por razões práticas (33). No entanto, para alguns ambientes ocupacionais, o BaP pode não ser o indicador apropriado de exposição. Além disso, existem cenários ocupacionais em que a exposição a HAPs de menor número de anéis, como naftaleno, antraceno, e fenantreno é predominante (34). Seria, portanto, preferível monitorizar um amplo espectro de metabolitos ou, pelo menos, a exposição total de HAPs, uma vez que a abundância relativa de outros HAPs com efeitos adversos na saúde humana pode variar dependendo do ambiente ocupacional. Quando o conteúdo da mistura de HAPs é desconhecido, deve avaliar-se a exposição aos 16 HAPs prioritários.

Conclui-se que é fundamental desenvolver novos estudos ocupacionais com abordagens harmonizadas, aplicando um conjunto de biomarcadores de exposição relacionáveis com a mistura de HAPs presente no cenário estudado, ao invés de focar apenas no BaP. O desenvolvimento futuro de uma proposta de estratégia de biomonitorização humana da exposição a HAPs em contextos ocupacionais, incluindo um fluxograma específico que considere a especificidade dos cenários de exposição, pode ser definida com base no conhecimento aqui reunido. A abordagem harmonizada proposta em artigos anteriores para outros produtos químicos de interesse (35-37) são bons exemplos a ser considerados

para a biomonitorização de HAPs. Conclui-se também que os biomarcadores de efeito, por exemplo, indicadores de efeitos genotóxicos e carcinogénicos ou cardiovasculares, podem ajudar a identificar alterações biológicas precoces e, portanto, contribuir para a prevenção de doença através de medidas de mitigação e de gestão de risco, protegendo a saúde dos trabalhadores.

## Financiamento:

Este estudo recebeu financiamento do programa de investigação e inovação Horizonte 2020 da União Europeia sob o acordo de subvenção n.º 733032 e recebeu cofinanciamento das organizações dos autores.

## Referências bibliográficas:

- (1) Kamal A, Cincinelli A, Martellini T, et al. A review of PAH exposure from the combustion of biomass fuel and their less surveyed effect on the blood parameters. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2015;22(6):4076-98. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3748-0>
- (2) Hartwig, A. Polycyclic aromatic hydrocarbons, carcinogenic (PAH) [MAK Value Documentation, 2012]. In: *The MAK-Collection for Occupational Health and Safety*; Wiley-VCH: Hoboken, NJ, USA, 2013. <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb0223orge0027b>
- (3) Jongeneelen, FJ. A guidance value of 1-hydroxypyrene in urine in view of acceptable occupational exposure to poly-cyclic aromatic hydrocarbons. *Toxicol Lett.* 2014;231(2):239-48. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.05.001>
- (4) Andersen MHG, Saber AT, Pedersen JE, et al. Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon exposure, lung function, systemic inflammation, and genotoxicity in peripheral blood mononuclear cells from firefighters before and after a work shift. *Environ Mol Mutagen.* 2018;59(6):539-48. <https://doi.org/10.1002/em.22193>
- (5) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Chemical agents and related occupations. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum.* 2012;100(Pt F). <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono100F.pdf>
- (6) Alhamedow A, Lindh C, Albin M, et al. Early markers of cardiovascular disease are associated with occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Sci Rep.* 2017;7(1):9426. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09956-x>
- (7) Alshaarawy O, Zhu M, Ducatman A, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon biomarkers and serum markers of inflammation. A positive association that is more evident in men. *Environ Res.* 2013;126:98-104. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2013.07.006>
- (8) Elovaara E, Heikkilä P, Pyy L, et al. Significance of dermal and respiratory uptake in creosote workers: exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and urinary excretion of 1-hydroxypyrene. *Occup Environ Med.* 1995;52(3):196-203. <https://doi.org/10.1136/oem.52.3.196>
- (9) Lee S, Hong S, Liu X, et al. Endocrine disrupting potential of PAHs and their alkylated analogues associated with oil spills. *Environ Sci Process Impacts.* 2017;19(9):1117-25. <https://doi.org/10.1039/c7em00125h>
- (10) Louro H, Gomes BC, Saber AT, et al. The Use of Human Biomonitoring to Assess Occupational Exposure to PAHs in Europe: A Comprehensive Review. *Toxics.* 2022;10(8):480. <https://doi.org/10.3390/toxics10080480>
- (11) Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, et al.; PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med.* 2009;6(7):e1000097. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>



- (12) Barbeau D, Lutier S, Choisnard L, et al. Urinary trans-anti-7,8,9,10-tetrahydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo(a)pyrene as the most relevant biomarker for assessing carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons exposure. *Environ Int.* 2018;112:147-55. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.12.012>
- (13) Barbeau D, Lutier S, Marques M, et al. Comparison of gaseous polycyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage by industry: A nationwide study in Germany. *Arch Toxicol.* 2009 Oct;83(10):947-57. <https://doi.org/10.1007/s00204-009-0444-9>
- (14) Förster K, Preuss R, Rossbach B, et al. 3-Hydroxybenzo[a]pyrene in the urine of workers with occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in different industries. *Occup Environ Med.* 2008;65(4):224-29. <https://doi.org/10.1136/oem.2006.030809>
- (15) Marczynski B, Pesch B, Wilhelm M, et al. Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage by industry: A nationwide study in Germany. *Arch Toxicol.* 2009 Oct;83(10):947-57. <https://doi.org/10.1007/s00204-009-0444-9>
- (16) Seidel A, Spickenheuer A, Straif K, et al. New biomarkers of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Toxicol Environ Health A.* 2008;71(11-12):734-45. <https://doi.org/10.1080/15287390801985265>
- (17) Raulf-Heimsoth M, Angerer J, Pesch B, et al. Biological monitoring as a useful tool for the detection of a coal-tar contamination in bitumen-exposed workers. *J Toxicol Environ Health A.* 2008;71(11-12):746-50. <https://doi.org/10.1080/15287390801985315>
- (18) Raulf-Heimsoth M, Marczynski B, Spickenheuer A, et al. Bitumen workers handling mastic versus rolled asphalt in a tunnel: assessment of exposure and bi-omarkers of irritation and genotoxicity. *Arch Toxicol.* 2011 Jun;85 Suppl 1:S81-7. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0685-2>
- (19) Pesch B, Spickenheuer A, Kendzia B, et al. Urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in workers exposed to vapours and aerosols of bitumen. *Arch Toxicol.* 2011 Jun;85 Suppl 1:S29-39. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0680-7>
- (20) Zając J, Gomółka E, Maziarz B, et al. Occupational Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Polish Coke Plant Workers. *Ann Occup Hyg.* 2016 Nov;60(9):1062-1071. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mew049>
- (21) Klöšlová, Z., Drímal, M., Balog, K., Koppová, K., and Dubajová, J. (2016). The Relations between Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Exposure and 1-OH-PYR Levels as a Biomarker of the Exposure. *Cent. Eur. J. Public Health* 24, 302-307. DOI: 10.21101/cejph.a4179
- (22) Shimada T. Xenobiotic-metabolizing enzymes involved in activation and detoxification of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2006 Aug;21(4):257-76. <https://doi.org/10.2133/dmpk.21.257>
- (23) Rihs H-P, Spickenheuer A, Heinze E, et al. Modulation of urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites by enzyme polymorphisms in workers of the German Human Bitumen Study. *Arch Toxicol.* 2011 Jun;85 Suppl 1:S73-9. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0684-3>
- (24) Marczynski B, Raulf-Heimsoth M, Spickenheuer A, et al. DNA adducts and strand breaks in workers exposed to vapours and aerosols of bitumen: Associations between exposure and effect. *Arch Toxicol.* 2011 Jun;85 Suppl 1:S53-64. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0682-5>
- (25) Andersen MHG, Saber AT, Pedersen PB, et al. Cardiovascular health effects following exposure of human volunteers during fire extinction exercises. *Environ Health.* 2017;16(1):96. <https://doi.org/10.1186/s12940-017-0303-8>
- (26) Andersen MHG, Saber AT, Clausen PA, et al. Association between polycyclic aromatic hydrocarbon exposure and peripheral blood mononuclear cell DNA damage in human volunteers during fire extinction exercises. *Mutagenesis.* 2018;33(1):105-15. <https://doi.org/10.1093/mutage/gex021>
- (27) Sancini A, Caciari T, Sinibaldi F, et al. Blood pressure changes and polycyclic aromatic hydrocarbons in outdoor workers. *Clin Ter.* 2014;165(4):e295-303. <https://doi.org/10.7417/CT.2014.1746>
- (28) Rossner P, Svecova V, Milcova A, et al. Seasonal variability of oxidative stress markers in city bus drivers. Part I. Oxidative damage to DNA. *Mutat Res.* 2008 Jul 3;642(1-2):14-20. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2008.03.003
- (29) Andersen MHG, Saber AT, Frederiksen M, et al. Occupational exposure and markers of genetic damage, systemic inflammation and lung function: a Danish cross-sectional study among air force personnel. *Sci Rep.* 2021 Sep 9;11(1):17998. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97382-5>
- (30) Guilbert A, De Cremer K, Heene B, et al. Personal exposure to traffic-related air pollutants and relationships with respiratory symptoms and oxidative stress: A pilot cross-sectional study among urban green space workers. *Sci Total Environ.* 2019 Feb 1;649:620-28. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.338>
- (31) Pacheco SA, Torres VM, Louro H, et al. Effects of occupational exposure to tobacco smoke: Is there a link between environmental exposure and disease? *J Toxicol Environ Health A.* 2013;76(4-5):311-27. <https://doi.org/10.1080/15287394.2013.757269>
- (32) Vital N, Antunes S, Louro H, et al. Environmental Tobacco Smoke in Occupational Settings: Effect and Susceptibility Biomarkers in Workers From Lisbon Restaurants and Bars. *Front Public Health.* 2021 Jun 4;9:674142. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.674142>
- (33) European Commission. Scientific Committee on Occupational Exposure Limits. SCOEL/REC/404 Polycyclic Aromatic Hydrocarbon mixtures containing benzo[a]pyrene (PAH): Recommendation. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2016. <https://op.europa.eu/pt/publication-detail/-/publication/cfde0907-c67f-11e6-a6d-b-01aa75ed71a1>
- (34) Petit P, Bicout DJ, Persoons R, et al. Constructing a Database of Similar Exposure Groups: The Application of the Exporisq-HAP Database from 1995 to 2015. *Ann Work Expo Health.* 2017;61(4):440-56. <https://doi.org/10.1093/annweh/wxx017>
- (35) Santonen T, Alimonti A, Bocca B, et al. Setting up a collaborative European human biological monitoring study on occupational exposure to hexavalent chromium. *Environ Res.* 2019 Oct;177:108583. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108583>
- (36) Scheepers PTJ, Duca RC, Galea KS, et al. ; Hbm Eu E-Waste Study Team. HBM4EU Occupational Biomonitoring Study on e-Waste-Study Protocol. *Int J Environ Res Public Health.* 2021 Dec 9;18(24):12987. <https://doi.org/10.3390/ijerph182412987>
- (37) Jones K, Galea KS, Scholten B, et al. ; Hbm Eu Diisocyanates Study Team. HBM4EU Diisocyanates Study-Research Protocol for a Collaborative European Human Biological Monitoring Study on Occupational Exposure. *Int J Environ Res Public Health.* 2022 Jul 20;19(14):8811. <https://doi.org/10.3390/ijerph19148811>

## O treino intensivo pode levar ao aumento de dano oxidativo no ADN em bailarinos profissionais?

*Can intensive physical exercise increase DNA oxidative damage among professional dancers?*

Filipa Esteves<sup>1,2,3</sup>, Eduardo Teixeira<sup>4</sup>, Tânia Amorim<sup>4</sup>, Carla Costa<sup>1,2,3</sup>, Joana Madureira<sup>1,2,3</sup>, João Paulo Teixeira<sup>1,2,3</sup>, Solange Costa<sup>1,2,3</sup>

filipa.esteves@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Porto, Portugal

(2) Unidade de Investigação em Epidemiologia. Instituto de Saúde Pública, Universidade do Porto, Porto, Portugal

(3) Laboratório para a Investigação Integrativa e Translacional em Saúde Populacional, Universidade do Porto, Porto, Portugal

(4) Centro de Investigação em Actividade Física, Saúde e Lazer. Faculdade de Desporto, Universidade do Porto, Porto, Portugal

### \_Resumo

A prática de exercício físico é imprescindível para a manutenção de um estilo de vida saudável. No entanto, quando praticado acima de uma determinada intensidade e duração, este pode levar à produção excessiva de espécies reativas de oxigénio e consequentemente à indução de *stress* oxidativo; este, por sua vez, pode desencadear alterações em diversas estruturas biológicas. O objetivo deste estudo foi avaliar o dano oxidativo no ADN em bailarinos da Companhia Nacional de Bailado antes e depois da temporada de bailado (setembro a julho). A população de estudo consistiu num total de 28 participantes: 14 bailarinos profissionais e 14 indivíduos da população geral (grupo controlo). O dano primário e o dano oxidativo no ADN foram avaliados em amostras de sangue total através do teste do cometa. Os resultados obtidos revelam um aumento significativo do dano oxidativo no ADN após a temporada de bailado ( $p < 0.001$ ;  $1.1 \pm 0.2$  para  $4.7 \pm 0.7$ ). Os níveis de dano oxidativo no ADN avaliados antes do início da temporada de bailado não mostraram diferenças significativas em relação ao grupo controlo ( $p > 0.05$ ;  $1.1 \pm 0.2$  vs  $2.2 \pm 0.5$ , respetivamente). Os resultados deste estudo reforçam a necessidade da implementação de medidas por forma a mitigar o risco ocupacional afeto à prática de exercício físico intensivo nestes profissionais.

### \_Abstract

Despite the numerous health benefits of physical activity, some studies reported that increased intensity and duration may induce oxidative stress in several cellular components. The aim of this study was to evaluate the DNA oxidative damage among a group of professional dancers from the National Ballet Company of Portugal, before and after a ballet season (September to July). The study population consisted of a total of 28 subjects: 14 professional dancers and 14 control subjects from the general population. To quantify the DNA damage among ballet dancers, blood samples were taken before and after the dancing season. The technique used in the present study to investigate the primary DNA damage and the oxidative DNA damage was the comet assay. The levels of oxidative DNA damage in dancers were significantly increased after the ballet season ( $p < 0.001$ ;  $1.1 \pm 0.2$  to  $4.7 \pm 0.7$ ). Pre-season levels of

oxidative DNA damage did not significantly differ from obtained in the general population ( $p > 0.05$ ;  $1.1 \pm 0.2$  vs  $2.2 \pm 0.5$ , respectively). Results of the present biomonitoring study indicate the need for more effective measures to protect ballet dancers from potential occupational health risks related to regular intensive physical exercise.

### \_Introdução

É consensual que a prática de exercício físico acarreta múltiplos benefícios para a saúde. Porém, o exercício físico – acima de uma determinada intensidade e duração – favorece a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) que, ao não serem neutralizadas pelo sistema antioxidante, resultam em *stress* oxidativo (1). Este, por sua vez, pode induzir danos em diversas macromoléculas tais como proteínas, lípidos e ADN (2). Estudos referem que o *stress* oxidativo está associado a várias patologias como a diabetes, doenças neurodegenerativas, cardiovasculares e cancro (2). Neste sentido, vários trabalhos têm avaliado indicadores de *stress* oxidativo em atletas de diversas modalidades (ex., atletismo, andebol, futebol, basquetebol) (3-5), avaliando o impacto de um treino (3-6) ou até mesmo de uma temporada desportiva (6).

Os bailarinos profissionais, além de artistas, são considerados atletas (7) devido ao elevado grau de exigência física da sua atividade (8,9). No contexto de saúde ocupacional, encontram-se, fundamentalmente, estudos que relacionam esta atividade com o risco de lesões músculo-esqueléticas (9), mas poucos analisaram o impacto do *stress* oxida-



tivo associado à prática de *ballet* (10), e até à data nenhum avaliou o efeito de uma temporada de bailado nos níveis de dano primário e oxidativo do ADN.

### \_Objetivo

O presente estudo teve como principal objetivo avaliar os efeitos do *stress* oxidativo – associado à prática de bailado - no ADN de bailarinos profissionais da Companhia Nacional de Bailado de Portugal. Para tal, analisou-se o dano no ADN, primário e oxidativo, antes e após uma temporada de bailado, comparando os níveis de dano com um grupo controlo.

### \_Métodos

A população de estudo consistiu num total de 28 indivíduos composta por bailarinos profissionais da Companhia Nacional de Bailado (CNB) (n=14) e uma população controlo (n=14), constituída por indivíduos saudáveis com características sociodemográficas semelhantes ao grupo em estudo, trabalhadores do sector terciário (tabela 1). As categorias referentes ao Índice de Massa Corporal (IMC) apresentam-se de acordo com as classes definidas pela Organização Mundial de Saúde (11).

A avaliação decorreu na temporada de bailado 2014/2015 que teve a duração de 10 meses, com treinos de 5 dias/semana e 8 horas/dia e espetáculos durante o fim-de-semana. O tipo de dança destes profissionais recai sobre dança clássica e contemporânea.

Todos os indivíduos que aceitaram participar neste estudo foram informados dos objetivos do mesmo. Após manifestado o seu consentimento informado por escrito, responderam a um questionário autoadministrado visando a avaliação de fatores demográficos e estilos de vida. O estudo foi submetido à Comissão de Ética e desenvolvido de acordo com a Declaração de Helsínquia e a Convenção de Oviedo.

No que respeita aos hábitos tabágicos, 24 participantes reportaram ser não fumadores; os restantes (n=4, pertencentes ao grupo dos bailarinos) referiram ter cessado há mais de três anos e foram considerados ex-fumadores (resultados não apresentados). Nos bailarinos, as colheitas de sangue foram realizadas antes (setembro 2014) e imediatamente após o término da temporada de bailado (julho 2015); as amostras de sangue dos indivíduos controlo foram colhidas ao longo da temporada de bailado. Após colheita, as amostras de sangue foram imediatamente transportadas até ao laboratório (30 min – 1h) nas

Tabela 1: Caracterização geral da população de estudo.

|   | Controlo (n=14)          | Bailarinos (n=14)         |
|---|--------------------------|---------------------------|
| Sexo  |                          |                           |
| Feminino                                      | 11 (78,6%)               | 11 (78,6%)                |
| Masculino                                     | 3 (21,4%)                | 3 (21,4%)                 |
| Idade (anos) <sup>a</sup>                     | 39.4 ± 8.6 (24.0 – 57.0) | 32.5 ± 6.34 (22.0 – 42.0) |
| IMC (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>         | 25.2 ± 4.4 (19.0 – 33.0) | 19.3 ± 2.8 (15.0 – 26.0)* |
| Baixo peso (>18.5 kg/m <sup>2</sup> )         | –                        | 5 (35,7%)                 |
| Peso normal (18.5 – 24.9 kg/m <sup>2</sup> )  | 9 (64,3%)                | 8 (57,1%)                 |
| Excesso peso (25.5 – 29.9 kg/m <sup>2</sup> ) | 3 (21,4%)                | 1 (7,1%)                  |
| Obeso (>30.0 kg/m <sup>2</sup> )              | 2 (14,3%)                | –                         |
| Anos de prática <sup>a</sup>                  | –                        | 21.2 ± 8.2 (2.0 – 33.0)   |

<sup>a</sup> média ± desvio padrão (min. – max.); IMC – índice de Massa Corporal.

\*  $p < 0.05$ , Teste t-Student.



devidas condições de refrigeração (4°C). Para efeitos de criopreservação do sangue, adicionou-se uma solução de Roswell Park Memorial Institute (RPMI) a 80% (pH 7.2) e dimetilsulfóxido (DMSO) a 20%. As amostras de sangue total com solução de criopreservação foram armazenadas a -80°C para posterior análise.

O dano genético, primário e oxidativo, foi avaliado através do teste do cometa realizado de acordo com Singh, *et al.* (12) com algumas alterações (13). Os níveis de dano oxidativo no ADN foram obtidos via incubação com a endonuclease formamidopirimidina-ADN glicosilase (FPG) para a deteção de purinas oxidadas (14). A quantificação do dano foi efetuada através do programa *Comet Assay IV – Instem*; o parâmetro usado foi a percentagem de ADN na cauda (% TDNA). A descrição geral da população do estudo foi realizada através de análise univariada. As variáveis dependentes (dano primário e dano oxidativo no ADN) não seguiram uma distribuição normal e por isso utilizaram-se testes não paramétricos, nomeadamente o teste de Wilcoxon (amostras emparelhadas; antes vs após temporada de bailado) e Man-Whitney (amostras independentes; grupo controlo vs bailarinos).

Para verificar a associação entre os biomarcadores e as outras variáveis contínuas foi utilizada a correlação de Spearman. Na análise estatística dos resultados foi utilizado o IBM SPSS *Statistics 22 software*® e estipulado um nível de significância de 0.05.

## \_Resultados

Pela análise dos resultados (tabela 2) é possível observar que, no que concerne ao dano primário no ADN, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os indivíduos do grupo controlo e os bailarinos, quer antes ou após a temporada. O mesmo resultado foi observado no grupo dos bailarinos, quando comparados os valores obtidos antes e após a temporada de bailado.

No entanto, foi observado um aumento significativo nos níveis de dano oxidativo entre o grupo controlo e os valores obtidos nos bailarinos após temporada.

Os níveis de dano oxidativo após temporada de bailado também se revelaram superiores aos níveis avaliados no período antes da temporada. Em contrapartida, não se verificou qualquer diferença entre os níveis de dano oxidativo avaliados antes da temporada (período de pausa) e o grupo controlo.

Nos bailarinos, embora não se tenha verificado qualquer correlação entre o número de anos de prática de *ballet* e o dano no ADN (tanto primário como oxidativo), observou-se uma correlação negativa ( $r = -0.6$ ) estatisticamente significativa ( $p = 0.04$ ) entre a idade e o dano primário no ADN avaliado após o término da temporada (resultados não apresentados). Não foi observado efeito do sexo e hábitos tabágicos (bailarinos não fumadores vs bailarinos ex-fumadores) nos níveis dos de dano genético determinados.

**Tabela 2:** Valores médios (± erro padrão) dos níveis de dano primário e oxidativo no ADN, encontrados no grupo controlo e bailarinos (antes e após a temporada).

|                         | Controlo |                        | Bailarinos      |                        |                         |
|-------------------------|----------|------------------------|-----------------|------------------------|-------------------------|
|                         | N        | Média ± EP             | Antes Temporada |                        | Após Temporada          |
|                         |          |                        | N               | Média ± EP             | Média ± EP              |
| Dano primário (% TDNA)  | 14       | 5.2 ± 0.3              | 14              | 6.1 ± 0.5              | 6.5 ± 0.6               |
| Dano oxidativo (% TDNA) | 14       | 2.2 ± 0.5 <sup>a</sup> | 14              | 1.1 ± 0.2 <sup>b</sup> | 4.7 ± 0.7 <sup>ab</sup> |

EP = Erro Padrão; <sup>a</sup> Significativamente diferente dos valores médios do grupo controlo; teste Man-Whitney.

<sup>b</sup> Significativamente diferente dos valores médios antes da temporada; teste de Wilcoxon. \*  $p < 0.05$



## \_Discussão

Os dados deste estudo revelam que os bailarinos profissionais da CNB apresentaram um aumento do dano oxidativo no ADN após a temporada de bailado 2014/2015. Estes resultados estão em linha com outros estudos que avaliaram o impacto de uma temporada desportiva nos níveis de *stress* oxidativo de atletas (4-5). Silva, *et al.* (5), por exemplo, observou um aumento significativo nos níveis urinários de malondialdeído (MDA), indicador de *stress* oxidativo, num grupo de jogadores de futebol durante e imediatamente após a temporada. Os mesmos autores verificaram ainda que estes valores diminuíram no período de férias (antes do início da nova temporada). Esta tendência para um equilíbrio redox após um período de pausa também se verificou no presente estudo, uma vez que os níveis de dano oxidativo avaliados antes da temporada de bailado não diferiram significativamente do grupo controlo. Além destes resultados, verificou-se ainda uma associação negativa entre o dano primário no ADN (após a temporada de bailado) dos bailarinos e a idade, no entanto a influência da idade nos indicadores do teste do cometa ainda não é consensual. Apesar de alguns autores terem observado um aumento do dano primário no ADN com a idade (15), outros não verificaram qualquer influência deste parâmetro (16).

A diferença do IMC observada entre bailarinos vs grupo controlo ( $p < 0.05$ ) pode ser explicada pela prática de exercício físico regular (17). De acordo com Santos, *et al.* (18) os bailarinos tendem a procurar diminuir o seu peso corporal de forma a facilitar determinados movimentos de dança.

Este estudo teve algumas limitações, nomeadamente no número limitado de participantes e a falta de outras informações, como a dieta. De referir, no entanto, que foi estudada cerca de 30% da população de bailarinos profissionais da CNB e que este estudo é pioneiro no que refere à avaliação de uma temporada de bailado nos níveis de dano primário e oxidativo no ADN.

## \_Conclusão

Os bailarinos profissionais são considerados atletas e artistas com elevadas exigências físicas. No presente estudo verificou-se um aumento significativo dos níveis de dano oxidativo no ADN em bailarinos profissionais após a temporada de bailado comparativamente aos níveis de dano avaliados antes da mesma.

Sabe-se que, o principal mecanismo de proteção contra o *stress* oxidativo recai sobre a ação do sistema antioxidante que atua em prol de um estado de homeostasia. Através deste trabalho, constatou-se que os níveis de dano oxidativo no ADN antes da época de bailado não diferiram significativamente dos níveis avaliados no grupo-controlo (população geral), apontando para um declínio dos níveis de dano oxidativo após o período de descanso destes profissionais (~2 meses).

Os resultados aqui obtidos reforçam a necessidade de estudos futuros e da implementação de medidas preventivas que visem mitigar os impactos negativos afetos à prática desta atividade.

## Referências bibliográficas:

- (1) Pingitore A, Lima GP, Mastorci F, et al. Exercise and oxidative stress: potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. *Nutrition*. 2015 Jul-Aug;31(7-8):916-22. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2015.02.005>
- (2) Valko M, Leibfriz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44-84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- (3) Rowlands DS, Pearce E, Aboud A, et al. Oxidative stress, inflammation, and muscle soreness in an 894-km relay trail run. *Eur J Appl Physiol*. 2012 May;112(5):1839-48. <https://doi.org/10.1007/s00421-011-2163-1>. Epub 2011 Sep 16
- (4) Marin DP, Bolin AP, Campoio TR, et al. Oxidative stress and antioxidant status response of handball athletes: implications for sport training monitoring. *Int Immunopharmacol*. 2013 Oct;17(2):462-70. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.07.009>
- (5) Silva JR, Rebelo A, Marques F, et al. Biochemical impact of soccer: an analysis of hormonal, muscle damage, and redox markers during the season. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2014 Apr;39(4):432-8. <https://doi.org/10.1139/apnm-2013-0180>. Epub 2013 Oct 28.
- (6) Chatzinikolaou A, Draganidis D, Avloniti A, et al. The microcycle of inflammation and performance changes after a basketball match. *J Sports Sci*. 2014;32(9):870-82. <https://doi.org/10.1080/02640414.2013.865251>
- (7) Rodrigues-Krause J, Krause M, Cunha Gdos S, et al. Ballet dancers cardiorespiratory, oxidative and muscle damage responses to classes and rehearsals. *Eur J Sport Sci*. 2014;14(3):199-208. <https://doi.org/10.1080/17461391.2013.777796>. Epub 2013 May 17.
- (8) Allen N, Nevill A, Brooks J, et al. Ballet injuries: injury incidence and severity over 1 year. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2012 Sep;42(9):781-90. <https://doi.org/10.2519/jospt.2012.3893>



artigos breves\_ n. 9

- (9) Azevedo A, Oliveira R, Fonseca J. Lesões no sistema músculo-esquelético em bailarinos profissionais em Portugal, na temporada 2004/2005. *Rev Port Fisioterapia no Desporto*. 2007;1(1):32-7.
- (10) Borges Lda S, Bortolon JR, Santos VC, et al. Chronic inflammation and neutrophil activation as possible causes of joint diseases in ballet dancers. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:846021. <https://doi.org/10.1155/2014/846021>
- (11) World Health Organization. A healthy lifestyle - WHO recommendations: Body mass index - BMI [online]. [consult. 20/10/2022]. <https://www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/a-healthy-lifestyle---who-recommendations>
- (12) Singh NP, McCoy MT, Tice RR, et al. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res*. 1988 Mar;175(1):184-91. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0)
- (13) Costa S, Coelho P, Costa C, et al. Genotoxic damage in pathology anatomy laboratory workers exposed to formaldehyde. *Toxicology*. 2008 Oct 30;252(1-3):40-8. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.07.056>
- (14) Azqueta A, Collins AR. The Comet Assay: High Throughput Use of FPG. In: Sierra L, Gaivão I (eds). *Genotoxicity and DNA Repair. Methods in Pharmacology and Toxicology*. New York NY, Humana Press, 2014. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1068-7\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1068-7_12)
- (15) Møller P. Assessment of reference values for DNA damage detected by the comet assay in human blood cell DNA. *Mutat Res*. 2006 Mar;612(2):84-104. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2005.10.001>. Epub 2005 Nov 28.
- (16) Londoño-Velasco E, Martínez-Perafán F, Carvajal-Varona S, et al. Assessment of DNA damage in car spray painters exposed to organic solvents by the high-throughput comet assay. *Toxicol Mech Methods*. 2016 May;26(4):238-42. <https://doi.org/10.3109/15376516.2016.1158892>
- (17) Koutedakis Y, Jamurtas A. The dancer as a performing athlete: physiological considerations. *Sports Med*. 2004;34(10):651-61. <https://doi.org/10.2165/00007256-200434100-00003>
- (18) Santos JA, Amorim T. Desafios nutricionais de bailarinos profissionais. *Rev Port Ciências do Desporto*. 2014;14(1). [https://rpcd.fade.up.pt/\\_arquivo/artigos\\_soltos/2014-1/07.pdf](https://rpcd.fade.up.pt/_arquivo/artigos_soltos/2014-1/07.pdf)

## \_ Matrizes de exposição ocupacional e biomonitorização humana

### Job exposure matrices and human biomonitoring

Mariana Neto, Sónia Namorado, Helena Krippahl

mariana.neto@insa.min-saude.pt

Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

#### \_Resumo

Em epidemiologia ocupacional é importante conhecer e caracterizar a exposição aos fatores de risco e estabelecer o nexo de causalidade com as alterações na saúde. De entre as várias formas de avaliar a exposição no local de trabalho, contam-se as matrizes de exposição ocupacional (MEO). Uma MEO consiste num sistema de classificação da exposição, para uma ou mais substâncias ou agentes, em distintas ocupações e por ramos específicos de atividade. As MEO requerem estimativas qualificadas, sistemáticas e detalhadas das potenciais exposições e podem ser construídas com informação primária ou secundária. No essencial, trata-se de reconstruir, com o rigor possível, a exposição a que os trabalhadores estiveram sujeitos durante a sua vida profissional. Embora os dados da biomonitorização humana (BMH) sejam frequentemente usados para efeitos de validação de MEO, podem igualmente ser usados para o seu desenvolvimento. Este trabalho pretende descrever a abordagem baseada em matrizes de exposição ocupacional na avaliação da exposição ocupacional e o contributo dos dados de biomonitorização humana nessa avaliação. As MEO constituem, sem dúvida, um importante instrumento a ser utilizado quer em estudos populacionais, quer em Saúde Ocupacional, potenciando vários estudos e monitorizações, com destaque para a biomonitorização humana.

#### \_Abstract

In occupational epidemiology, it is important to know and characterize exposure to risk factors and establish the causal link with changes in health. Among the various ways of assessing exposure in the workplace are job exposure matrices (JEM). A JEM consists of an exposure classification system, for one or more substances or agents, in different occupations and by specific branches of activity. A JEM requires qualified, systematic and detailed estimates of potential exposures and can be constructed with primary or secondary information. Essentially, it is a question of reconstructing, as rigorously as possible, the exposure to which workers were subjected during their professional lives. Although human biomonitoring (HBM) data are often used for JEM validation purposes, they can also be used for the development of JEM. This work intends to describe the technical development of occupational exposure matrices, as an exposure assessment tool, and the role that human biomonitoring can play in this development. JEM are undoubtedly an important instrument to be used both in population studies and in occupational health, enhancing several studies and monitoring, especially human biomonitoring.

#### \_Introdução

O local de trabalho envolve a exposição a diversos fatores de risco de forma continuada e por longos períodos de tempo <sup>(1)</sup>, consistindo habitualmente em exposições múltiplas e complexas <sup>(2)</sup>.

Em epidemiologia ocupacional é importante conhecer e caracterizar a exposição aos fatores de risco e estabelecer o nexo de causalidade com as alterações na saúde. De entre as várias formas de avaliar a exposição no local de trabalho, contam-se as matrizes de exposição ocupacional (MEO), as quais, de acordo com Ge, *et al.* <sup>(3)</sup>, foram incluídas em cerca de um quarto dos estudos sobre cancro.

Uma MEO consiste num sistema de classificação da exposição, para uma ou mais substâncias ou agentes, em distintas ocupações e por ramos específicos de atividade <sup>(4)</sup>. As MEO requerem estimativas qualificadas, sistemáticas e detalhadas das potenciais exposições e podem ser construídas com informação primária ou secundária <sup>(5)</sup>.

No essencial, trata-se de reconstruir, com o rigor possível, a exposição a que os trabalhadores estiveram sujeitos durante a sua vida profissional.

A primeira MEO foi publicada em 1941, e a primeira a abranger de forma sistemática um conjunto de substâncias foi desenvolvida e descrita por Hoar em 1984 <sup>(6)</sup>.

#### \_Objetivo

Este trabalho pretende descrever o desenvolvimento técnico das matrizes de exposição ocupacional, enquanto instrumento de avaliação da exposição, e o papel que a biomonitorização humana pode ter nesse desenvolvimento.



## Matrizes de exposição ocupacional (MEO)

Basicamente, as MEO podem ter a seguinte classificação:

*Base populacional* – Todas as ocupações específicas que podem ocorrer numa população estão representadas, recorrendo normalmente a uma classificação padronizada (ISCO – Classificação Internacional das Profissões);

*Específicas de indústria* – Classificam as exposições apenas para um grupo limitado de ocupações e tarefas dentro de determinado setor e geralmente incluem definições mais detalhadas sobre o eixo da exposição, podendo ainda ser específicas de exposição ou específicas de tarefa (*task exposure matrix*).

AS MEO podem ser de natureza qualitativa, em que os fatores de risco são registados como estando presentes ou ausentes (sim/não); semi-quantitativa, em que as frequências, intensidade, etc., são estimadas por peritos ou pelos trabalhadores; e quantitativa, quando são baseadas em medições pré-existentes resultantes de medições ambientais/individuais ou de vigilância da saúde.

Tipicamente, uma MEO consiste numa tabela em que um dos eixos representa o posto de trabalho, função ou ocupação e o outro a exposição (**figura 1**).

A exposição é então classificada em categorias de exposição, por exemplo como ausente, pouco provável e muito provável ou como baixa, média e elevada.

A maior vantagem das MEO é a possibilidade de conversão da história profissional numa exposição específica de uma forma sistemática e não enviesada (8), constituindo um instrumento padronizado que permite a comparabilidade dos resultados dos estudos em que é aplicado. Uma vez desenvolvida, uma MEO é fácil de aplicar e é uma metodologia mais económica do que as avaliações por peritos (9).

As MEO são particularmente úteis quando os elementos de medição da exposição não são fidedignos ou estão ausentes e quando os custos das medições são muito onerosos. Têm sido usadas em vários tipos de estudos epidemiológicos, nomeadamente estudos de coorte e de caso-controlo.

Nas MEO específicas de indústria é importante recolher a história da empresa, nomeadamente no que respeita aos processos de fabrico e aos produtos utilizados, pois estes são elementos importantes para a reconstrução das histórias profissionais dos trabalhadores, documentando alterações e mudanças na produção e nos produtos finais.

Ribeiro, *et al.* (5) descreveram o desenvolvimento de uma MEO de exposição à sílica em quatro etapas: a) codificação da variável ocupação; b) codificação da variável setor económico; c) classificação da exposição por consenso entre os investigadores e; d) estimativa do número de trabalhadores registados para cada nível de exposição.

**Figura 1:** Exemplo de uma matriz de exposição ocupacional com exposições qualitativas, semi-quantitativas e quantitativas.

| Exposição<br>Trabalho | Exposição 1<br>Qualitativa<br>(Sim/Não) | Exposição 2<br>Semi-quantitativa<br>(score) | Exposição 3<br>Quantitativa |
|-----------------------|---|---|-----------------------------|
| Trabalho 1            | Sim                                     | 1   | 5 mg/m <sup>3</sup>         |
| Trabalho 2            | Não                                     | 0   | 0,00001 mg/m <sup>3</sup>   |
| Trabalho 3            | Sim                                     | 3   | 15 mg/m <sup>3</sup>        |

Duração do trabalho: Trabalho 1: 10 anos; Trabalho 2: 25 anos; Trabalho 3: 5 anos  
Exposição acumulada: Exposição 2:  $1 \times 10 + 0 + 3 \times 5 = 25$ ; Exposição 3:  $5 \times 10 + 0 + 15 \times 5 = 125$  mg/m<sup>3</sup> ano  
Duração da exposição acumulada  $10 + 5 = 15$  anos

Adaptado de: Guseva Canu (7) e Seixas e Checkoway (8)



Seixas e Checkoway (8) ressaltaram a importância da definição das dimensões e escalas que constituem a matriz. Estas podem variar em número de acordo com o estudo em causa e com a informação disponível, podendo esta última contribuir para definir o perfil de exposição a partir de dados de biomonitorização humana ou de exposição externa.

O passo seguinte está relacionado com a definição das escalas para cada uma das dimensões, podendo ser contínuas ou em categorias ordenadas. Os indivíduos são agrupados de acordo com um determinado fator, que se assume ser preditivo da exposição, constituindo zonas de exposição homogénea. É ainda de referir que as MEO poderão ser simples, com apenas uma dimensão, ou complexas e multidimensionais com fatores aninhados e conjugar exposições de natureza qualitativa e quantitativa.

No entanto, Guseva Canu, *et al.* (10) descreveram o processo de desenvolvimento de uma MEO de forma mais esquemática (figura 2).

As MEO atribuem a mesma estimativa de exposição a todos os trabalhadores com o mesmo título profissional (população) ou área de trabalho (indústria) – zonas de exposição homogéneas (8). Assim as MEO refletem a “exposição média” numa dada ocupação ou área de trabalho, o que constitui uma das principais limitações das MEO (11). Ou seja, a variabilidade inter-individual da exposição pode não ser integralmente respeitada. Isto pode levar à necessidade de introduzir melhoramentos, habitualmente a adição de uma nova dimensão ao sistema binário trabalho/fator de risco (tempo, sexo, região, etc.). A exposição pode igualmente variar ao longo do tempo para cada trabalhador (intra-individual) (9), pelo que as MEO são úteis em

Figura 2: Desenvolvimento de uma matriz de exposição ocupacional (MEO).



Adaptado de: de Guseva Canu *et al.* (10)



exposições crónicas e continuadas, mas não para exposições agudas.

Embora os dados da biomonitorização humana (BMH) sejam frequentemente usados para efeitos de validação de MEO, podem igualmente ser usados para o seu desenvolvimento.

Por exemplo, Toreyin e Godderis (12) desenvolveram em 2020 uma MEO para avaliação da exposição ao crómio recorrendo a uma base de dados com o registo dos níveis de crómio na urina de uma população de trabalhadores em combinação com uma base de dados originada em peritos.

Outro exemplo é a MEO desenvolvida por Kreckmann, *et al.* (13), que teve por base os valores séricos de ácido perfluorooctanoico, metabolito do perfluorooctanoato de amónia, produto usado como surfatante na indústria dos polímeros. Com base nos valores séricos e nas histórias profissionais foram criadas três categorias de exposição relativa: baixa, média e elevada. As áreas sem exposição foram consideradas na categoria de exposição baixa e as restantes foram atribuídas de acordo com a função desempenhada pelos trabalhadores. Funções idênticas foram agrupadas na mesma categoria de exposição.

Riddel, *et al.* (14) desenvolveram uma MEO a partir de uma base de dados de monitorização dos trabalhadores da empresa *Sellafield Plutonium* referente a 485 000 resultados de análises de urina recolhidas no período 1952 a 2006 pela *Public Health England*. Foram também usadas as histórias profissionais, complementadas com elementos retirados dos processos clínicos. Este estudo tinha como objetivo a análise dos efeitos na saúde da exposição interna ao plutónio.

Garlantézec, *et al.* (7), numa amostra aleatória de 451 grávidas usaram uma MEO específica para estimar a exposição ocupacional global a solventes clorados e ésteres glicólicos através da combinação de dois códigos: Classificação Internacional das Profissões (ISCO) e Classificação das Atividades Económicas (CAE). O estudo incluiu também a determinação de metabolitos destes produtos na urina e a sua relação com a exposição ocupacional a

solventes, estimada através da autoapreciação das grávidas e da MEO (expostas/não expostas). O estudo revelou a presença de metabolitos na urina das grávidas classificadas como expostas, validando assim a MEO.

## **\_Conclusão**

As matrizes de exposição ocupacional (MEO) constituem, sem dúvida, um importante instrumento a ser utilizado quer em estudos populacionais, quer em Saúde Ocupacional, potenciando vários estudos e monitorizações, com destaque para a biomonitorização humana.

Por último, uma utilização interessante e importante das MEO, neste caso populacionais, é a sua aplicação ao sistema de compensação das doenças profissionais e na vigilância da saúde da população trabalhadora (15), apoiando a tomada de decisão, o cálculo da carga global de doenças profissionais e potenciando a intervenção dos médicos do trabalho (16).

## **Referências bibliográficas:**

- (1) Hoar S. Job exposure matrix methodology. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1983;21(1-2):9-26. <https://doi.org/10.3109/15563658308990408>
- (2) Ribeiro FS, Wünsch Filho V. Avaliação retrospectiva da exposição ocupacional a cancerígenos: abordagem epidemiológica e aplicação em vigilância em saúde. *Cad Saude Publica*. 2004;20(4):881-90. <https://doi.org/10.1590/s0102-311x2004000400002>
- (3) Ge CB, Friesen MC, Kromhout H, *et al.* Use and Reliability of Exposure Assessment Methods in Occupational Case-Control Studies in the General Population: Past, Present, and Future. *Ann Work Expo Health*. 2018 Nov 12;62(9):1047-1063. <https://doi.org/10.1093/annweh/wxy080>
- (4) Kauppinen TP. Assessment of exposure in occupational epidemiology. *Scand J Work Environ Health*. 1994;20 Spec No:19-29. <https://www.sjweh.fi/article/1444>
- (5) Neto Ribeiro FS, de Camargo EA, Wünsch Filho V. Delineamento e validação de matriz de exposição ocupacional à sílica. *Rev Saude Publica*. 2005 Feb;39(1):18-26. <https://doi.org/10.1590/s0034-89102005000100003>
- (6) Goldberg M, Kromhout H, Guénel P, *et al.* Job exposure matrices in industry. *Int J Epidemiol*. 1993;22(Suppl 2):S10-5. [https://doi.org/10.1093/ije/22.supplement\\_2.s10](https://doi.org/10.1093/ije/22.supplement_2.s10)
- (7) Garlantézec R, Multigner L, Labat L, *et al.* Urinary biomarkers of exposure to glycol ethers and chlorinated solvents during pregnancy: determinants of exposure and comparison with indirect methods of exposure assessment. *Occup Environ Med*. 2012 Jan;69(1):62-70. doi: 10.1136/oem.2010.062315. Epub 2011 Jun 24.
- (8) Seixas NS, Checkoway H. Exposure assessment in industry specific retrospective occupational epidemiology studies. *Occup Environ Med*. 1995 Oct;52(10):625-33. <https://doi.org/10.1136/oem.52.10.625>
- (9) Peters S. Although a valuable method in occupational epidemiology, job-exposure-matrices are no magic fix. *Scand J Work Environ Health*. 2020 May 1;46(3):231-234. <https://doi.org/10.5271/sjweh.3894>



artigos breves\_ n. 10

- (10) Guseva Canu I, Paquet F, Goldberg M, et al. Comparative assessing for radiological, chemical, and physical exposures at the French uranium conversion plant: Is uranium the only stressor? *Int J Hyg Environ Health*. 2009 Jul;212(4):398-413. Epub 2008 Oct 31. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2008.09.002>
- (11) Descatha A, Fadel M, Sembajwe G, et al. Job-exposure matrix: a useful tool for incorporating workplace exposure data into population health research and practice. *Front Epidemiol*. 2022 Apr;2:857316. <https://doi.org/10.3389/fepid.2022.857316>
- (12) Toreyin ZN, Godderis L. Occupational exposure assessment to chromium using a job-exposure matrix based approach based on biomonitoring data. *Eur Respir J*. 2020;56:3170. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2020.3170>
- (13) Kreckmann KH, Sakr CJ, Leonard RC, et al. Estimation and validation of biomarker-based exposures for historical ammonium perfluorooctanoate. *J Occup Environ Hyg*. 2009 Sep;6(9):511-6. <https://doi.org/10.1080/15459620903025483>
- (14) Riddell A, Wakeford R, Liu H, et al. Building a job-exposure matrix for early plutonium workers at the Sellafield nuclear site, United Kingdom. *J Radiol Prot*. 2019 Jun;39(2):620-34. <https://doi.org/10.1088/1361-6498/ab1168>
- (15) Florentin A, Zmirou-Navier D; RNV3P members, Paris C. Contribution of job-exposure matrices for exposure assessment in occupational safety and health monitoring systems: application from the French national occupational disease surveillance and prevention network. *Int Arch Occup Environ Health*. 2017 Aug;90(6):491-500. <https://doi.org/10.1007/s00420-017-1215-1>
- (16) Fadel M, Evanoff BA, Andersen JH, et al. Not just a research method: If used with caution, can job-exposure matrices be a useful tool in the practice of occupational medicine and public health? *Scand J Work Environ Health*. 2020 Sep 1;46(5):552-53. <https://doi.org/10.5271/sjweh.3900>



## ficha técnica\_

**\_Título:** Boletim Epidemiológico Observações

**\_Periodicidade:** Quadrimestral

**\_ISSN:** 0874-2928, 2182-8873 (em linha)

**\_Numeração:** 2.<sup>a</sup> série

Volume 11, número especial 14, 2022  
Biomonitorização humana

**\_Diretor**

Fernando de **Almeida**, Presidente do Conselho Diretivo do INSA

**\_Editores**

Carlos **Matias Dias**, Departamento de Epidemiologia  
Elvira **Silvestre**, Biblioteca da Saúde

**\_Conselho Editorial Científico**

Carlos **Matias Dias**, Departamento de Epidemiologia  
Luciana **Costa**, Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis  
Jorge **Machado**, Departamento de Doenças Infecciosas  
Manuela **Cano**, Departamento de Saúde Ambiental  
Maria João **Silva**, Departamento de Genética Humana  
Rita **Batista**, Departamento de Alimentação e Nutrição  
Peter **Jordan**, Conselho Científico do INSA

**\_Coordenação técnica** Elvira **Silvestre**, Biblioteca da Saúde

**\_Composição e paginação** Francisco **Tellechea**

(segundo layout inicial de Nuno Almodovar Design, Lda.)

Entidade proprietária:

**Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge**

Sede de redação/editor:

Av. **Padre Cruz**, 1649-016 **Lisboa, Portugal**

**NIPC:** 501427511

**Tel.:** (+351) 217 519 200

**Fax:** (+351) 217 529 400

**E-mail:** info@insa.min-saude.pt

**www.insa.min-saude.pt**

Reprodução autorizada desde que a fonte seja citada, exceto para fins comerciais.