

**Fundação Oswaldo Cruz
Escola Nacional de Saúde Pública
Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia
Humana**

**Uso de Indicadores de Dose Interna e de
Efeito como Ferramentas para Avaliação
da Exposição ao Chumbo**

Autor: Cleber Hooper da Silva

**Dissertação aprovada em / /
Pela banca examinadora:**

Dr. Josino Costa Moreira

Dr. Jayme Silva de Lima

SUPLENTES:

Dr(a) Maria de fátima Barrozo da Costa

Dr Carlos Machado de Freitas

Este trabalho é dedicado à minha filha Alice e ao meu avô Alberto Ferreira (em memória), aos quais considero fonte de todas as forças e dedicação encontradas para o finalização deste projeto.

FICHA CATALOGRÁFICA

Hooper, Cleber.

Uso de Indicadores de Dose Interna e de Efeito como Ferramentas para Avaliação da Exposição ao chumbo.

101 Páginas

Tese (Mestrado) – Saúde Pública – Toxicologia

Escola Nacional de Saúde Pública – ENSP - Fundação Oswaldo Cruz

Palavras-chave: 1-chumbo 2- ALA-U 3- Pb-U 4 – HPLC 5- exposição ocupacional
6- indicador biológico 7 — fábrica de baterias

Trabalho realizado na Fundação Instituto Oswaldo Cruz – **FIOCRUZ**, pela Escola Nacional de Saúde Pública – **ENSP** no Centro de Estudo Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana- **CESTEH**, sob Orientação da Dra. Célia Regina de Sousa e Silva e Co-orientação da Dra. Rita de Cássia Mattos.

AGRADECIMENTOS

A Escola Nacional de Saúde Pública/ENSP.

Ao Centro de Estudo de Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana/ CESTEHE.

À coordenação do Laboratório de Toxicologia, pelo espaço concedido para realização dos estudos e das análises deste projeto.

À Dra. Célia Regina de Sousa e Silva e Dra. Rita de Cássia Mattos, as minhas orientadoras, pela gigantesca compreensão, apoio, confiança, paciência e por terem sido verdadeiras amigas durante todos estes anos.

Aos amigos Sérgio (cabeça) pela super força que me forneceu nesta etapa final, Jefferson (Bolinha), Sueli Mesquita (susu), Alexandre Kubota (japinha), Luiz (gaúcho), Alciléia, Aninha Cristina, Flavinha, Marta, Alan, Lucineide (Lú), Cristiane (Cris), Ulisses, Marquinhos (Marcos Menezes), Paulinha Sarcinelle, Regina e Fátima (metais), Josino, e em especial ao Armando por me apresentar esta área fascinante, que é a toxicologia e pela transmissão de seus conhecimentos.

RESUMO

O chumbo é um metal de grande importância industrial, devido a suas características físico-químicas. Com o curso de sua manipulação, aumentou-se progressivamente o índice de intoxicações ocupacionais. Mesmo com o conhecimento de seus efeitos tóxicos, a exposição ao metal é considerada um grave problema de Saúde Pública. Nas avaliações da exposição ao chumbo, a determinação do chumbo em sangue (Pb-S) e o ácido delta aminolevulínico urinário (ALA-U) têm sido utilizados como indicadores biológicos, os quais se relacionam com alterações biológicas. Outra alternativa utilizada é a determinação do chumbo em urina (Pb-U).

+Este trabalho objetiva a validação dos indicadores biológicos ALA-U e Pb-U e sua utilização na avaliação da exposição ao chumbo na população exposta ocupacionalmente. A utilização destes indicadores biológicos evitaria que indivíduos expostos ao metal sejam submetidos a exames invasivos e periódicos. Além disto, o uso da urina como matriz biológica proporciona maior facilidade na coleta, armazenamento, transporte e manuseio.

Resultados obtidos em amostras de sangue e urina de 47 trabalhadores indicam uma significativa correlação ($p < 0,01$) entre os valores de Pb-U e Pb-S ($R = 0,677$), ALA-U e Pb-S ($R = 0,654$) e ALA-U e Pb-U ($R = 0,852$). Quando as atividades profissionais foram categorizadas (administração, supervisão e produção) observou-se diferenças significativas entre os indicadores biológicos utilizados. Os trabalhadores apresentaram valores médios de Pb-S em $44,55 \mu\text{g/dL}$, e ALA-U valores de $14,25 \text{mg/g Cr}$ e Pb-U em $7,33 \mu\text{g/dL}$, e em trabalhadores da produção aos quais são considerados valores significativamente altos, apresentaram valores médios de Pb-S em $64,41 \mu\text{g/dL}$, e ALA-U valores de $20,48 \text{mg/g Cr}$ e Pb-U em $11,73 \mu\text{g/dL}$ demonstrando nesta etapa que estes indicadores biológicos detectaram contaminação ocupacional principalmente no setor de produção. Dados obtidos neste estudo demonstram-se que ocorre uma variação de concentrações de indicadores biológicos ao longo do tempo de exposição.

ABSTRACT

Lead is metal of great industrial importance, because of characteristics physical – chemical. With the course of its manipulation, its has increased progressively the index of occupational intoxication.

Even with the knowledge of its toxic effects, the exposition to metal is considered a serious problem for public health. In the evaluations of exposure to lead, the determination of lead in blood (Pb-B) and acid aminolevulinic urinary (ALA-U) has been used as indicator biological. Another alternative used is the determination of lead in urine. (Pb-U).

The aim of the present jobs is validation of the biological indicators ALA-U and Pb-U and its use in the evaluation of exposition to lead in the occupational population. The use of these biological indicators would avoid that individuals exposed to metal be undergo the incursive periodic exams. Beyond, The use of urine as biological matrix create ease in the storage, transport and manipulation.

The results in blood and urine samples of 47 workers show a correlation significant ($p < 0,01$) between the value of Pb-U and Pb-S ($r = 0,677$), ALA-U and Pb-S ($r = 0,654$) and ALA-U and Pb-U ($r = 0,852$). When the professionals were categorised (management, supervision and production) significance different between biological indicators was noted. All the workers show meddle values of Pb-S in 44,55 $\mu\text{g/dL}$ and values ALA-U in 14,25 mg/g cr and Pb-U in 7,33 $\mu\text{g/dL}$ cr, and production workers who has high values, they show meddle values of Pb-S in 64,41 $\mu\text{g/dL}$, and values ALA-U in 20,48 mg/g cr and Pb-U 14,73 $\mu\text{g/dL}$ cr. In these stage we concluded that biological indicator the contamination identficated in production sector. The information contained in this study (data) inform that exist a variation of biological indicators concentration thought of it use.

LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS

- ❖ **ALA** – ácido δ -aminolevulínico
- ❖ **ALA U** - ácido δ -aminolevulínico urinário
- ❖ **ALA D** - ácido δ -aminolevulínico desidratase
- ❖ **ALA S** - ácido δ -aminolevulínico sintetase
- ❖ **CP** – coproporfirina
- ❖ **CP U** – coproporfirina urinária
- ❖ **ZPP** – zinco protoporfirina
- ❖ **EP** – protoporfirina eritrocitária
- ❖ **FEP** – protoporfirina eritrocitária livre
- ❖ **Pb S** – Concentração de chumbo em sangue
- ❖ **Pb P** – Concentração de chumbo no plasma
- ❖ **Pb O** – Concentração de chumbo ósseo
- ❖ **Pb C** – Concentração de chumbo nos cabelos
- ❖ **Pb U** – Concentração de chumbo urinário
- ❖ **Cr** – Creatinina
- ❖ **HPLC** – Cromatografia Líquida de Alta Performance
- ❖ **IPCH** – Intoxicação Profissional pelo chumbo
- ❖ **CCE** – Comissão da Comunidade Européia
- ❖ **NIOSH / OSHA** – National Institute of Occupational and Safety Health
- ❖ **EPA** – Environmental Protection Agency
- ❖ **IARC** – International Agency for Research Cancer
- ❖ **LBE** – Limite Biológico de Exposição
- ❖ **IBMP** – Índice Biológico Máximo Permitido
- ❖ **TLV** – Treshold Limit Value
- ❖ **OMS** – Organização Mundial de Saúde
- ❖ **IPCH** – Intoxicações Profissionais pelo Chumbo
- ❖ **LBEs** – Limite Biológico de Exposição
- ❖ **NR-7** – Norma Regulamentadora Número 7
- ❖ **VR** - Valor de Referência
- ❖ **ICP – MS** – Inductively Coupled Plasma – Mass Spectroscopy
- ❖ **EAA** – Espectrometria de Absorção Atômica
- ❖ **STPF** – Stabilized Temperature Platform Furnace

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sequência de eventos necessários para a observação de uma resposta biológica causada por substâncias químicas, mostrando a integração do monitoramento ambiental ao biológico-----	5
Figura 2 – Vias de absorção, distribuição e eliminação do chumbo no organismo humano-----	13
Figura 3 – Via normal da síntese da hemoglobina-----	15
Figura 4 – Registro cromatográfico do ALA urinário-----	32
Figura 5 – Distribuição dos trabalhadores de acordo com as concentrações de Pb-S, conforme os valores de referência adotados pela comunidade europeia – CE (4,6 – 27,6 µg/dL) e NR-7 (40 µg/dL) respectivamente-----	44
Figura 6 – Distribuição dos trabalhadores de acordo com as concentrações de ALA-U, conforme os valores de referência nacionais propostos por Londrina – PR e NR-7 respectivamente-----	45
Figura 7 – Distribuição dos trabalhadores de acordo com as concentrações de Pb-U conforme os limites permitidos pela CE-----	47
Figura 8 – Distribuição dos trabalhadores expostos segundo os valores determinados pela CE, expressos em valores percentuais encontrados em três faixas equivalentes de concentrações de Pb-U-----	48
Figura 9 - Correlação entre os indicadores biológicos Pb-U e Pb-S-----	50
Figura 10 - Correlação entre os indicadores biológicos ALA-U e Pb-S----	52
Figura 11 – Distribuição das concentrações de Pb-S por categoria de trabalho-	55
Figura 12 – Distribuição das concentrações de Pb-U por categoria de trabalho-	57
Figura 13 – Distribuição das concentrações de ALA-U por categoria de trabalho-	59
Figura 14 – Frequência dos níveis de chumbo em sangue-----	61
Figura 15 – Frequência dos níveis de chumbo em urina-----	62
Figura 18 – Frequência dos níveis de ALA urinário-----	63
Figura 19 – Distribuição das concentrações de Pb-S por faixas de tempo--	66
Figura 20 – Distribuição das concentrações de Pb-U por faixas de tempo--	67
Figura 21 – Distribuição das concentrações de ALA-U por faixas de tempo--	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características físico-químicas do chumbo e alguns compostos originado -----	7
Tabela 2 – Prevalência das IPCH em fábricas e/ou reformadoras de baterias no Brasil, por região e período de estudo -----	24
Tabela 3 – Pontos de concentrações aplicadas para calibração em água, com os respectivos tempos de retenção e áreas dos picos registradas -----	33
Tabela 4 – Pontos de concentração aplicadas para calibração em urina, com os respectivos tempos de retenção e áreas dos picos registradas -----	34
Tabela 5 – Programa de temperatura para determinação de chumbo -----	38
Tabela 6 – Descrição estatística dos indicadores biológicos Pb-U e Pb-S ---	49
Tabela 7 – Descrição estatística dos indicadores biológicos ALA-U e Pb-S -	51
Tabela 8 – Correlação entre os indicadores biológicos avaliados -----	53
Tabela 9 – Análise descritiva do indicador biológico Pb-S por setor de trabalho -----	54
Tabela 10 – Análise descritiva do indicador biológico Pb-U por setor de trabalho -----	56
Tabela 11 -Análise descritiva do indicador biológico ALA-U por setor de trabalho -----	58
Tabela 12 - Sensibilidade e especificidade de Pb-U no total de trabalhadores -----	69
Tabela 13 –Sensibilidade e especificidade de ALA-U no total de trabalhadores -----	70
Tabela 14 – Sensibilidade e especificidade de Pb-U no total de trabalhadores no setor de produção -----	71
Tabela 15 – Sensibilidade e especificidade de Pb-U no total de trabalhadores -----	71

ÍNDICE

Resumo -----	V
Abstract -----	VI
CAPÍTULO 1	
Introdução -----	01
1.1 Perfil Histórico -----	01
1.2 Propriedades Físico-Química -----	05
1.3 Farmacocinética e seu perfil tóxico -----	08
1.3.1. - Absorção -----	08
1.3.2 – Distribuição -----	09
1.3.3 – Biotransformação -----	11
1.3.4 – Eliminação -----	11
1.4 Toxicidade: Efeitos Causados -----	14
1.4.1 - Biossíntese do grupo Heme -----	14
1.4.2 - Sistema nervoso -----	16
1.4.3 - Sistema renal -----	16
1.4.4 - Sistema Hepático -----	17
1.4.5 – Carcinogenicidade -----	17
1.5 Monitoramento Biológico -----	18
1. 5.1 - Indicadores Biológicos -----	18
1.5.2 - Aplicação do ALA-U como Indicador Biológico -----	19
1.5.3 - Aplicação do Pb-U -----	20
1.5.4 - Vantagens do uso do ALA-U e Pb-U como Biomarcadores -----	21
1.5.5 – Creatinina -----	22
1.5.6 - Importância da Determinação dos Valores de referência -----	22
1.5.7 - Valores para Monitoramento Biológico -----	26
CAPÍTULO 2	
. Objetivos do trabalho -----	28
CAPÍTULO 3	
Metodologia Analítica -----	29
3.1- População Estudada -----	29
3.2 Determinação de ALA-U por HPLC -----	30

3.2.1 – Experimental -----	30
3.2.2 - Coleta e Preparação da Amostra -----	31
3.2.3 – Calibração -----	32
3.2.4 - Avaliação do Método -----	35
3.2.5 - Análise dos Resultados -----	35
3.2.6 - Determinação da validade e Eficácia: Cálculo da Sensibilidade, Especificidade e Valor Preditivo -----	35
3.3 Determinação de Pb-S e Pb-U por Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite -----	37
3.3.1 - Experimental -----	37
3.3.2 - Coleta e Preparação da Amostra -----	39
3.3.3 - Avaliação do Método -----	40
3.3.4 - Padrões de Qualidade Analítica -----	40
3.3.5 - Análise dos Resultados -----	41
CAPÍTULO 4	
Resultados e Discussão -----	42
4.1 – Aplicação dos Valores Referenciais aos resultados obtidos -----	42
4.2 – Avaliação da Correlação entre as Concentrações de ALA-U, de chumbo em urina e em níveis de chumbo em sangue -----	49
4.3 – Avaliação dos indicadores biológicos com os diferentes processos de trabalho -----	54
4.4 – Correlação dos indicadores biológicos com o tempo de exposição dos trabalhadores -----	64
4.5 – Estudos de Validação para Pb-U e ALA-U -----	69
4.6 - Estudos de Validação para Pb-U e ALA-U por setores de trabalho -----	70
CAPÍTULO 5	
conclusões -----	72
CAPÍTULO 6	
Referências Bibliográficas -----	75
CAPÍTULO 7	
Anexo -----	83

INTRODUÇÃO

CAPÍTULO 1

Neste primeiro capítulo serão apresentados registros históricos e toxicológicos de exposição ao chumbo, caracterizando seus efeitos nocivos ao homem e a importância deste estudo na área de Saúde Pública. Neste mesmo contexto, serão apresentadas as principais características deste elemento quanto a sua forma, sua utilização e a qual grupo.

O chumbo, é um dos elementos mais estudados do ponto de vista toxicológico devido aos efeitos adversos à saúde, permitindo desta forma o questionamento da utilização dos limites de tolerância atuais e de metodologias de prevenção e controle. Neste trabalho serão apresentadas propostas e formas de prevenção e controle da exposição e dos efeitos causados à saúde dos trabalhadores expostos a este metal.

1.1- Perfil Histórico:

Por apresentar características como, baixo ponto de fusão, durabilidade e a facilidade em formar ligas metálicas, o chumbo foi um dos primeiros metais a ser manipulado pelo homem desde a pré-história (Landsdown & Yule, 1996). Alguns registros históricos mostram evidências da sua utilização, como em tumbas egípcias datadas do ano de 3500 a.C. peças de cerâmicas datadas do ano 5000 a.C., ao qual apresentavam em sua superfície traços de óxido de chumbo (Pereira, 1979; TPL, 1999).

Também existem registros históricos de sua utilização na Ásia Menor cerca de 4000 anos a. C., e em outras civilizações como os Fenícios, Egípcios, Hebreus e Espanhóis desde 2000 a. C. No antigo Egito o chumbo era usado para produção de estatuetas e pequenos ornamentos. Os óxidos em chumbos eram utilizados como

pigmentação de vidros e cerâmicas, além de ser aplicado em cosméticos (como por exemplo a galena, que era aplicada no olhos como pintura), além disso também era utilizado na escrita (TPL, 1999).

Outros estudos sugerem que uma das possíveis razões da queda do império romano poderia estar associada a exposições crônicas ao metal na fabricação de material bélico, provocando intoxicações de determinadas classes populacionais da época (Albert et al., 1985). Neste período também, o chumbo foi amplamente usado pela engenharia sanitária romana, com a finalidade de vedação dos tubos de argila da rede de água e esgoto, estruturando desta forma os sistemas que canalizavam todo o fornecimento de água para abastecimento da cidade. Também o empregavam na construção de edifícios, em utensílios de uso doméstico, e em projetos artísticos (TPL, 1999).

Além destes estudos existem achados arqueológicos que comprovam a existência da utilização do chumbo na antiguidade, como a descoberta de um veleiro romano datando 2.000 anos a.C., afundado ao largo da costa da Sardenha e recuperado por pesquisadores da Universidade de Milão em conjunto com arqueólogos sardos no ano de 1993. Segundo eles, a embarcação estava enterrada na areia a uma profundidade de 30m e o naufrágio ocorrera entre 70 e 50 a.C., enquanto levava para Roma antiga mais de mil lingotes de chumbo de 33Kg cada (Ciência e Futuro, 1996).

Existe a estimativa de que poderiam estar presentes quantidades consideráveis de chumbo na água, pois os frascos e potes que eram utilizados tanto na cozinha como na preparação do vinho eram constituídos por este elemento (TPL, 1999).

A partir do advento da revolução industrial houve a intensificação do uso extenso deste metal, pois as suas propriedades físicas e químicas (maleabilidade e

flexibilidade) eram favoráveis e permitiram o seu emprego em diferentes atividades. Conseqüentemente, também houve um crescimento das exposições ocupacionais.

O aumento de concentrações atmosféricas de chumbo causou o acúmulo em matrizes ambientais como água, ar e alimentos, os quais passaram a ser considerados fontes permanentes de exposição para o homem. Atualmente encontra-se uma concentração maior do que antes da Revolução Industrial, mesmo com a redução dos níveis de emissão em países industrializados (Skerving, 1993, TPL, 1999).

Em virtude do crescimento do número de processos industriais que utilizam o chumbo, mais de 200 atividades expõem trabalhadores ao metal, sendo que metade deste total, inclui indústrias automobilísticas, a fabricação de baterias e a produção de derivados alquílicos (Smith & Flegai, 1995; Silva, 1987).

É sobretudo uma enfermidade profissional, que afeta tipógrafos, bombeiros, operários da indústrias de acumuladores etc.; a ela se atribui a morte do pintor Cândido Portinari (Mirador Internacional, 1986).

A utilização mais freqüente do chumbo ocorre na produção de baterias que, apesar dos avanços tecnológicos na segunda metade do séc. XX, continua a ser o equipamento mais eficaz para “armazenamento” de energia elétrica. As placas das baterias automotivas exigem um metal, como o chumbo, de baixo ponto de fusão e alta resistência à corrosão e certas propriedades elétricas. Nessas baterias, conhecidas como acumuladores ácidos, o eletrodo negativo é de chumbo poroso e o positivo de dióxido de chumbo (Mirador Internacional, 1986).

A obtenção do chumbo, através de técnicas de fundição, é há muito tempo conhecido pelo homem. Em ruínas egípcias, foram encontradas moedas e medalhões de chumbo, provavelmente obtidas por este processo (Mirador Internacional, 1986).

Os sinais e sintomas provocados pela intoxicação por chumbo variam bastante pelo tipo de exposição e pelas diferenças de susceptibilidade humana. A intoxicação causada por este metal em pleno ambiente de trabalho é caracterizada por sinais e sintomas inespecíficos em conjunto com a história ocupacional e o perfil laboratorial do trabalhador (Cordeiro, 1995).

A fiscalização e o monitoramento, nos ambientes gerais e nos ambientes de trabalho, bem como a melhoria das condições de saúde nestes locais, são de extrema importância para que se diminua a insalubridade e com isso seja reduzido o fator de risco presentes em ambientes precários. Para que se possa minimizar a exposição, seria aconselhável que na avaliação dos riscos haja uma mensuração mais precisa, assim como, a aplicação do monitoramento ambiental integrado ao monitoramento biológico (Gomes et al., 1992), conforme está ilustrado na figura 1.



Figura 1- Seqüência de eventos necessários para a observação de uma resposta biológica causada por substâncias químicas, mostrando a integração do monitoramento ambiental ao biológico (Gomes et al., 1992).

1.2- Propriedades físico-químicas:

O chumbo é um metal não ferroso, de cor cinza azulado ou prateado, maleável, dúctil e resistente à corrosão atmosférica. Pertence ao grupo IVA da tabela periódica com número atômico 82, e entre as suas propriedades físicas e químicas podemos destacar o seu peso atômico de 207,2; densidade específica de 11,35 a 20°C; ponto de fusão de 327,5°C e ponto de ebulição de 1740°C (Weast, 1988, Clayton & Clayton 1981).

Pode ser encontrado na natureza em estado livre ou associado a outros elementos, originando diversos compostos como: sulfato de chumbo (PbSO₄), arsenato de chumbo (Pb(AS₃)₂), dióxido de chumbo (PbO₂), brometo de chumbo, acetato de chumbo (Pb(C₂H₃O₂)₂), entre outros (Cordeiro, 1995; IPCS, 1995). As

características e os compostos que são originados pelo chumbo são apresentados na tabela 1.

Na forma metálica o chumbo em contato com água é praticamente insolúvel (Landsdown, 1996). Contudo, pode ser moderadamente solúvel em água na presença de nitratos, sal de amônio, dióxido de carbono e em ácidos diluídos. É rapidamente dissolvido em ácido nítrico diluído e em ácido acético; é resistente ao ácido clorídrico e ao ácido sulfúrico, devido a formação de sais insolúveis ($PbCl_2$ e $PbSO_4$) que protegem o metal de corrosões. Pode ser atacado de forma rápida por halogêneos, e de forma lenta por álcalis, formando plumbitos (Cotton, 1978). Todos os sais solúveis de chumbo são considerados tóxicos (Mellor, 1951).

Tanto na forma metálica quanto na forma de compostos químicos o chumbo está presente em todo o mundo. Compostos inorgânicos de chumbo (sais, óxidos e sulfatos) são predominantemente encontrados no ambiente; em alguns países compostos orgânicos de chumbo ainda estão presentes na gasolina, viabilizando assim o acúmulo de quantidades significantes no ambiente (TPL, 1999).

O principal minério é a *galena*, que em seu estado puro, contém 86,6% de chumbo. Trata-se de um mineral primário que, comumente, contém um pouco de prata e se associa à blenda, pirita, calcopirita. As jazidas mais importantes originam-se pelo preenchimento de cavidades e substituição de calcários e dolomitos. Formam-se por substituição jazidas do tipo disseminado, fissuras ou veios, ou ainda maciças. A teoria evolutiva mais aceita sugere que as soluções transportadoras de chumbo são derivadas de massas ígneas profundas (Mirador internacional, 1986).

Resíduos sólidos que contém chumbo ou compostos derivados de chumbo podem ser definidos como resíduos de risco por apresentarem reatividade e toxicidade (TPL, 1999).

Tabela 1: Características físico-químicas do chumbo e alguns compostos originados:

METAL	Fórmula	Ponto de Fusão (°C)	Ponto De Ebulição (°C)	Solubilidade em água fria (g/L)	Solubilidade (g/L)	Pêso Atômico (UMA)
Chumbo	Pb	327,502	1740	Insolúvel	HNO ₃ , H ₂ SO ₄ , glicerina	207,19
Acetato	Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂	280		443		325,28
Clorato	Pb(ClO ₃) ₂	230	230	Muito solúvel	Álcool	374,09
Nitrato	Pb(NO ₃) ₂	470		376,5	Álcool, NH ₃	331,20
Dióxido	PbO ₂	290		Insolúvel	HCl diluído, ácido acético	239,19
Sulfato	PbSO ₄	1170		0,0425	Sais de NH ₄ , H ₂ SO ₄	303,25

Fonte: IPCS, 1995

1.3. Farmacocinética e seu Perfil Tóxico:

1.3.1. ABSORÇÃO:

A absorção do chumbo em indivíduos expostos, ocorre principalmente por via respiratória e gastrointestinal. Sob outras formas orgânicas e seu derivado tetraetila, podem penetrar no organismo de forma ativa pela via dérmica.

A absorção gastrointestinal representa a via de absorção mais freqüentes em casos de exposições populacionais (Marqués, 1994). A absorção gastrointestinal do chumbo ocorre primariamente no duodeno (Araújo, 1996). O mecanismo exato de absorção é conhecido e envolve sistemas de transportes como o ativo e/ou difusão através da célula epitelial intestinal (considerado transcellular) ou entre estas células (considerado paracelular), neste processo o chumbo pode participar sob a forma ionizável (Pb^{+2}) orgânica ou inorgânica. Esta absorção pode ser influenciada pela dieta nutricional de cálcio e alguns metais.

A absorção pulmonar representa a principal via de intoxicação na área ocupacional. A inalação deste elemento pode ser influenciada por vários fatores como a concentração do metal no ambiente, o tamanho da partícula, a ventilação pulmonar e as características físico-químicas do composto (Marqués, 1994).

A deposição das partículas presentes no ambiente ocupacional depende do seu diâmetro. Partículas com diâmetro aerodinâmico maior que $2\mu m$, são consideradas grandes, estas se depositam próximos às fontes de emissão enquanto que partículas pequenas podem ser transportadas por milhares de quilômetros, podendo aderir à pele ou ficar retido na parede da via do trato respiratório. As partículas que se depositam na região alveolar do pulmão possuem um diâmetro aproximado de 0,1 a $1,0\mu m$, assim como os fumos e vapores de chumbo, sendo a maioria absorvida (Skerving, 1993).

Uma proporção de 50% da concentração total de partículas inaladas atinge a corrente sanguínea, distribuindo-se a diversos órgãos, acumulando-se sob forma de fosfato insolúvel nos ossos e nos dentes. Nestes tecidos duros, encontra-se armazenado cerca de 90% do total do chumbo no organismo, constituindo-se uma fonte de suprimentos tóxicos para os tecidos moles como o fígado, o baço, os rins, o coração, os pulmões, o cérebro e os músculos (Skerving, 1993).

Evidências sugerem que o depósito de chumbo nos tecidos duros é resultante de uma exposição crônica, ao passo que o nível nos tecidos moles e fluidos orgânicos reflete uma exposição recente (IPCS , 1995; TPL,1999).

1.3.2. - DISTRIBUIÇÃO:

O chumbo quando absorvido atinge a circulação sistêmica, distribuindo-se preferencialmente no plasma, onde utilizando sistemas comuns de transporte, entra em equilíbrio com o meio extra-celular rapidamente (Kehoe, 1987). A distribuição do chumbo no organismo depende inicialmente da vascularização sangüínea de vários órgãos e tecidos. A subseqüente redistribuição ocorre de acordo com a afinidade relativa dos tecidos e com a toxicodinâmica do elemento (EPA, 1986).

O chumbo absorvido atinge a circulação sanguínea, onde 99% encontra-se ligado à membrana eritrocitária e apenas uma pequena fração é encontrada no plasma (Pb-P) (DeSilva 1981; EPA 1986; Everson and Petterson 1980). Em relação à ligação do chumbo ao plasma, estudos sugerem que em indivíduos ocupacionalmente expostos, cerca de 5 – 25% de Pb-P, encontra-se na forma livre e o restante ligado principalmente à albumina (Skerving, 1993).

O chumbo absorvido é distribuído em vários compartimentos teciduais. Vários modelos farmacocinéticos têm sido propostos por diversos autores, incluindo até

sete compartimentos, onde o único parâmetro que pode alterar em cada modelo seria a taxa de concentração relativa por tecido distribuídos ao longo dos diversos grupos de tecidos vascularizados (TPL, 1999).

Em estudos cinéticos com isótopos estabilizados de chumbo, Rabinowits et al (1976) conseguiram desenvolver um modelo clássico envolvendo três compartimentos, esclarecendo a distribuição do chumbo no organismo. No primeiro compartimento, se produz uma troca rápida entre o sangue, os fluidos biológicos e tecidos moles como fígado, rim e cérebro, que corresponde a 4% da carga corpórea total com uma meia-vida de um mês. No segundo compartimento, ocorre um intercâmbio médio entre os tecidos moles e os ossos, o qual tem uma troca ativa de um ano. O terceiro, constitui um compartimento lento e é formado pelo tecido ósseo, que corresponde a cerca de 94% da carga corpórea de chumbo com uma meia vida de cerca de treze anos. O metal tende a acumular-se nas epífises ósseas e ainda que metabolicamente inativo, pode mobilizar-se em casos de deficiências alimentares e doenças como osteoporose podendo causar crises agudas de intoxicação (Marques, 1993; IPCS, 1995; ATSDR, 1990).

Existe uma gama de estudos demonstrando a transferência transplacentária de chumbo, onde já se identifica o ponto de troca localizado no cordão umbilical. Estudo realizado por Bellinger et al. (1987), em 11 mulheres obteve médias de concentração de chumbo de $6,6 \pm 3,2$ $\mu\text{g/dL}$ a partir de amostras de sangue do cordão umbilical. Outro estudo realizado em Glasgow – Escócia, com gestantes, obteve media geométrica de Pb-S de 14 $\mu\text{g/dL}$ em mães, e 12 $\mu\text{g/dL}$ no cordão umbilical (Moore et. al., 1982).

1.3.3. – BIOTRANSFORMAÇÃO:

Existem formas complexas de metabolização ou biotransformação do íon chumbo inorgânico (Pb^{+2}) no organismo. O metabolismo do chumbo inorgânico consiste primariamente em reações com ligações reversíveis, incluindo a formação de complexos de aminoácidos (DeSilva 1981; Everson & Petterson 1980; Ong & Lee, 1980).

Compostos alquílicos de chumbo são ativamente metabolizados no fígado por desalquilação oxidativa catalizada por citocromo P-450 dependente do sistema de monooxigenase (TPL, 1999). Algumas evidências demonstram que o chumbo inorgânico pode ser metilado por microorganismos, mas ainda não se tem conhecimento se isso pode ocorrer no trato gastrointestinal (Skerving, 1993; Marques, 1993; IPCS 1999).

1.3.4. – ELIMINAÇÃO:

O chumbo é eliminado pelas vias urinárias (75%) e biliar (16%), por esfoliação do tecido epitelial, incluindo os cabelos, unhas e suor (8%), no entanto a sua eliminação ocorre principalmente através da urina e das fezes (Galvão & Corey, 1989).

A excreção pela urina ocorre através de processos de filtração glomerular possivelmente seguido de reabsorção tubular parcial, que pode ser afetada pelo fluxo urinário, havendo um ritmo circadiano na excreção do metal, que é menor durante a noite. Existe uma provável correlação exponencial entre os níveis de chumbo no sangue sistêmico e urina. Esta correlação acontece devido ao aumento das taxas de chumbo no plasma, que aumenta proporcionalmente à medida que os níveis de Pb-S também aumentam. Sabendo-se que a fração filtrável encontra-se presente no plasma, a excreção urinária de chumbo sofre também um aumento (Skerving, 1993).

O chumbo é excretado através do suco pancreático e da bile e é encontrado nas fezes. Na bile a excreção apresenta-se na forma de complexo chumbo-glutation. Cerca de 90% do chumbo ingerido não é totalmente absorvido no trato gastrointestinal, por apresentar forma de sulfetos insolúveis, sendo portanto eliminado pelas fezes. No caso de exposições baixas, a concentração de chumbo excretada nas fezes representa a metade da excretada pela urina (Skerving, 1993).

Embora o chumbo possa ser também excretado pelo suor, unhas e cabelos, a detecção do metal nestas matrizes, no que se refere a utilização prática em programas de monitoramento biológico não apresenta relevância significativa. Baixas concentrações podem ser encontradas no leite materno, principalmente uma maior proporção no colostro (Skerving, 1993).

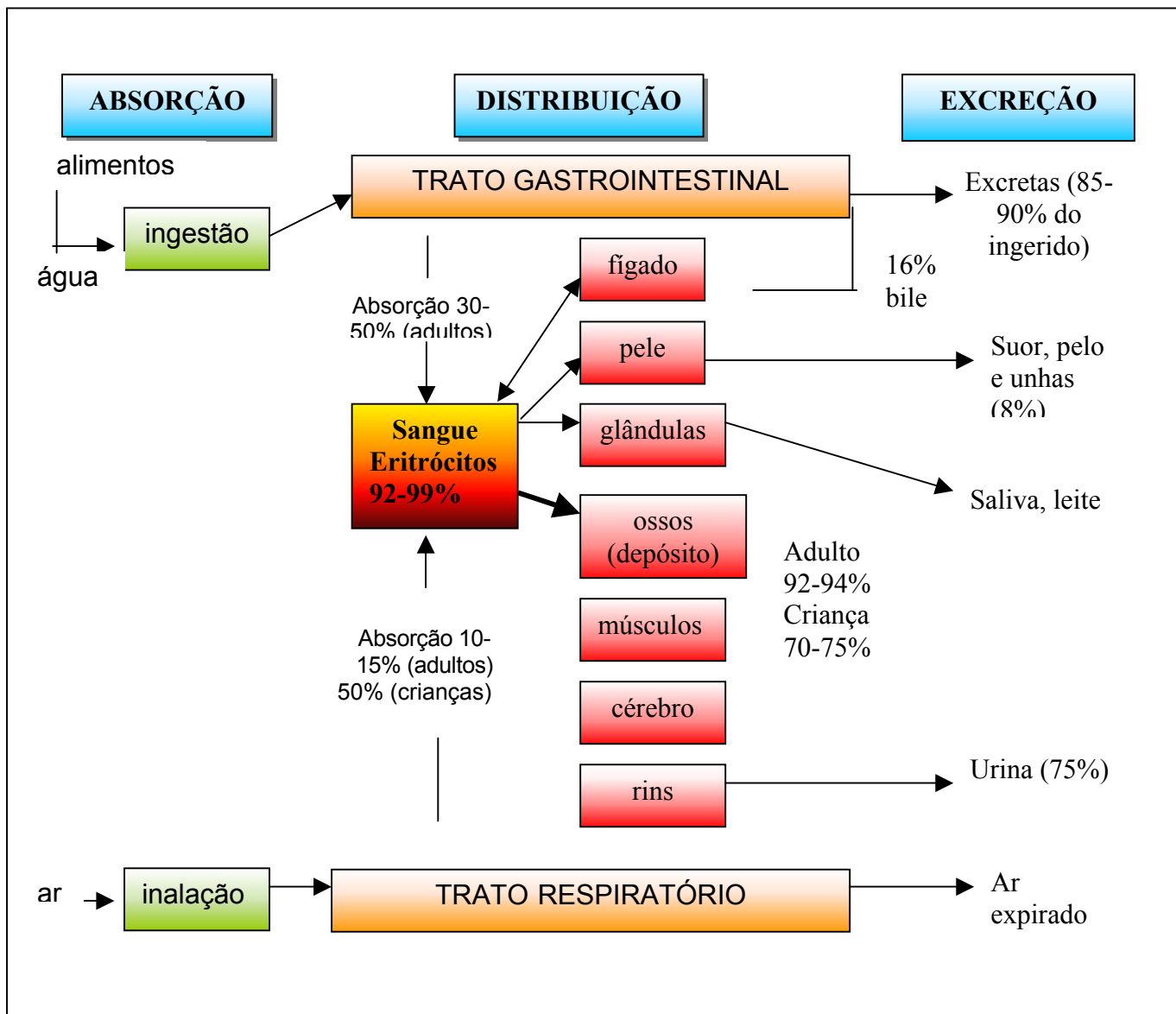


Figura 2 - Vias de absorção, distribuição e eliminação do chumbo no organismo humano (Modelo Farmacocinético proposto por GALVÃO & COREY, 1989).

1.4 Toxicidade e Efeitos Causados

A toxicidade do chumbo no organismo se reflete em vários sistemas, tais como: hematopoiético, nervoso (SNC), renal, gastrointestinal, reprodutor e endócrino.

1.4.1. – BIOSSÍNTESE DO GRUPO HEME:

No sistema hematopoiético, o chumbo afeta principalmente a síntese do grupo Heme pela inibição de enzimas responsáveis pela sua formação. A síntese do grupo Heme começa a partir de moléculas de succinil coenzima A, proveniente do ciclo do ácido cítrico e oito moléculas de glicina formando o primeiro intermediário – o ácido aminolevulínico (ALA) – no interior da mitocôndria.

Essa fase é catalisada pela ALA sintetase, que parece ser a enzima controladora da velocidade da síntese de porfirinas, no fígado de mamíferos. No citoplasma duas moléculas de ALA são condensadas pela enzima ALA desidratase, formando um monopirrol, porfobilinogênio, onde a partir de uma série de reações catalisadas por diferentes enzimas, forma um núcleo tetra pirrólico no interior da mitocôndria, que une-se ao ferro formando o grupo Heme, que juntamente com a globina formará a hemoglobina (figura 3). A afinidade do chumbo pelos grupos tióis, leva a inibição das enzimas do grupo Heme e conseqüentemente da síntese de hemoglobina, além de causar uma diminuição da meia vida por um aumento da fragilidade eritrocitária, mecanismos pelos quais se produzem a anemia, normalmente hipocrômica e micricítica (Marqués, 1994; ASTR, 1990).

As enzimas inibidas pelo chumbo são: ácido delta aminolevulínico desidratase (ALA-D), coproporfirinogênio oxidase e Heme sintetase, além de ocorrer uma ativação da enzima ácido delta aminolevulínico sintetase (ALA-S), localizada no fígado. O efeito imediato da indução da ALA-S e inibição da ALA-D é um aumento da concentração do ácido delta aminolevulínico no plasma e conseqüentemente na urina (ALA-U), isto faz com que a análise do ácido delta aminolevulínico se torne um indicador de efeito precoce da exposição ao chumbo.

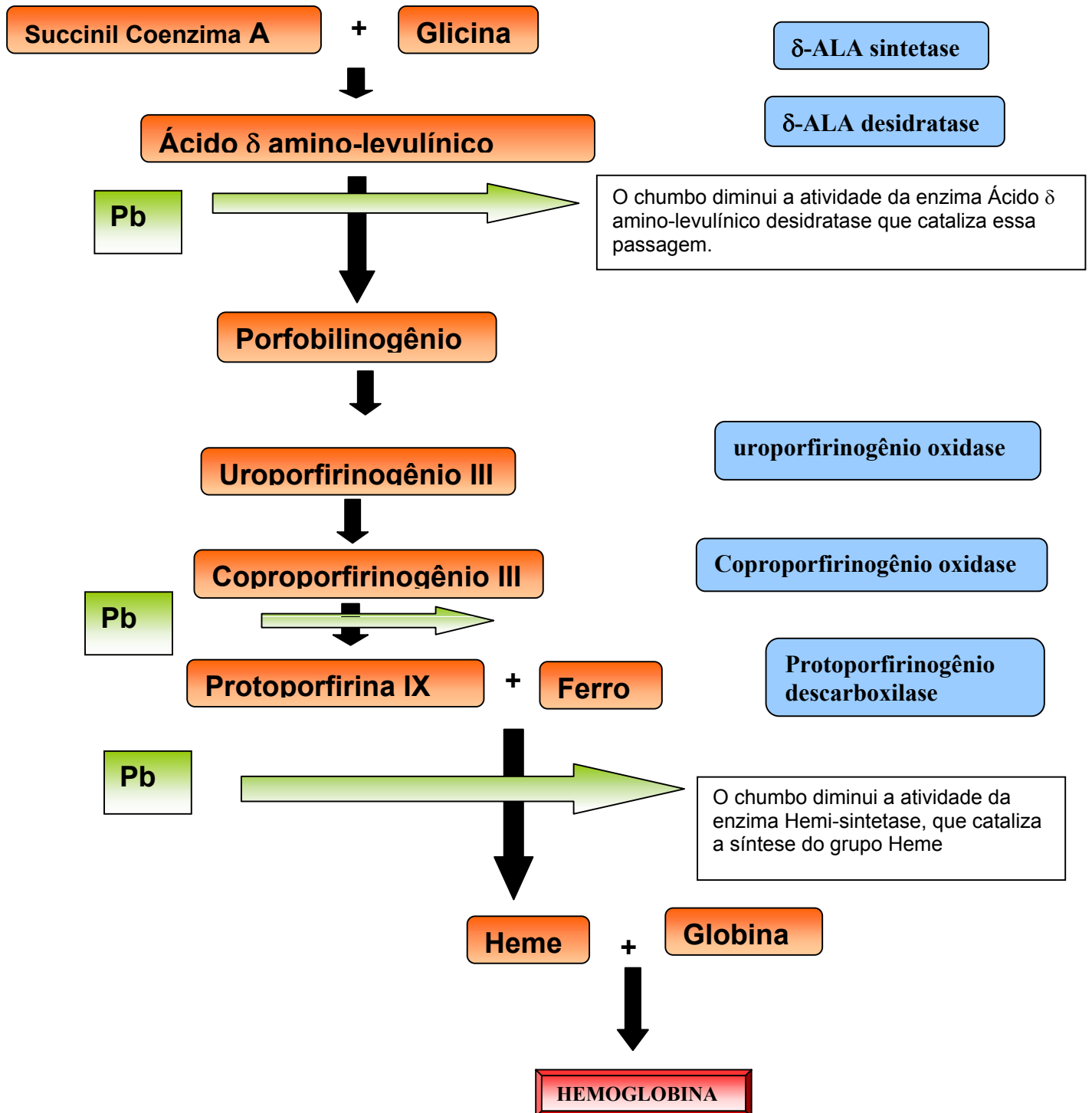


Figura 3- Via normal da síntese de hemoglobina;
 Fonte: Leite E. M. A. et al.,
 Guia prático de monitorização biológica(1992).

1.4.2. – SISTEMA NERVOSO:

Os efeitos no sistema nervoso, variam dependendo da intensidade e da duração da exposição causados pelos compostos de chumbo. Em casos de exposição crônica os efeitos mais encontrados são encefalopatia, tremores musculares, irritabilidade, cefaléia, alucinações e perda de memória e concentração (TPL, 1999).

Os efeitos do chumbo no nervo periférico do homem não estão ainda compreendidos, mas estudos eletromiográficos demonstram uma diminuição na velocidade de condução do nervo em trabalhadores que se apresentam clinicamente normais ou sem sintomas neurológicos, ocorrendo em situações ocupacionais raras uma neuropatia periférica motora com um sinal clássico de “queda de punho” provocado pela paralisia do nervo radial (Skerving, 1993).

Enquanto esta observação é condizente com a dismielinização segmentar que se desenvolve em animais de experimentação e que pode ser considerada reversível, estudos patológicos em homens com neuropatia causada pelo metal demonstram uma axonopatia muitas vezes irreversível. Outro achado curioso no homem é o envolvimento predominante de axônios motores, gerando uma das poucas situações clínicas na qual os pacientes apresentam predominantemente neuropatias motoras (Cazarret, 2001).

1.4.3. – SISTEMA RENAL:

Tanto em adultos como em crianças ocorrem dois efeitos diferenciados ao nível renal: uma progressiva e lenta deficiência renal reduzindo a função glomerular juntamente com danos vasculares, causando fibrose, além de causar também danos reversíveis no túbulo proximal (TPL, 1999).

1.4.4. – SISTEMA HEPÁTICO:

Não existem evidências precisas sobre o comprometimento à nível hepático causado pela intoxicação por chumbo, somente em casos de intoxicações bastante severas. Mesmo que exista a afirmação de que uma possível correlação significativa entre as concentrações de chumbo e atividade da transaminase oxalacética glutâmica sérica (S.G.O.T.) exista, esta permanece comprometida pela ausência de informações sobre a influência de dieta, hábitos pessoais, infecções, dificultando uma conclusão definitiva sobre esta correlação (TPL, 1999).

1.4.5. – CARCINOGENICIDADE:

Segundo relatórios da International Agency for Research on Cancer (IARC) e da Environmental Protection Agency (EPA) as evidências de carcinogenicidade para o homem dos compostos de chumbo inorgânicos encontradas até hoje são inadequadas. No entanto, estudos recentes em animais de laboratório, indicam que o chumbo inorgânico, quando administrado em doses elevadas, pode promover o aparecimento de tumores em diversos locais, principalmente nos rins (TPL, 1999).

1.5 - MONITORAMENTO BIOLÓGICO

O monitoramento biológico foi definido como “a medida e avaliação de agentes químicos ou de produtos de biotransformação em tecidos, secreções, excreções, ar exalado ou alguma formulação desses para estimar a exposição ou riscos à saúde quando comparado com uma referência apropriada”.

O monitoramento biológico de efeito restringe-se à avaliação dos parâmetros relacionados bioquimicamente à exposição, reservando-se apenas na avaliação dos efeitos biológicos primários (efeito precoce), onde ainda não apresenta prejuízo à saúde (Cordeiro, 1995). A denominação “efeitos primários” parece ser mais adequada do que “precoce”, para a indicação dos primeiros efeitos biológicos observados. Precoce sugere a idéia de vir antes da doença, sendo que nem sempre o efeito biológico está associado à doença.

1.5.1 - INDICADORES BIOLÓGICOS

No processo de monitoramento biológico, as avaliações são efetuadas através da utilização dos indicadores biológicos. Existe uma classificação de acordo com a natureza da exposição, formando duas categorias: “indicadores de efeito e indicadores de dose interna”. Atualmente a maioria dos autores inclui em suas classificações uma nova classe, o indicador de susceptibilidade que se refere a limitações inerentes ou adquiridas do organismo que influenciam na sua habilidade de responder a mudanças de exposição a uma determinada substância alterando a resposta biológica e os efeitos individuais (Schulte, 1991).

Os indicadores de efeito monitoram o efeito precoce ou primário que possa ser produzido por algum agente químico, podendo ser aplicado como prevenção de danos à saúde. Estes indicadores revelam o estado de saúde do indivíduo em questão,

apontando o risco da exposição efetiva. Os indicadores de dose interna refletem a dose armazenada em um(s) sítio(s) ou compartimento de ação, ou ainda que possa ter sido recentemente absorvida pelo organismo. Ambos podem fornecer a informação mais aproximada da quantidade do agente tóxico absorvida que interage com o sítio de ação (Cordeiro, 1995).

Os indicadores mais utilizados na avaliação da exposição ao chumbo são: CHUMBO EM SANGUE (Pb-S), CONCENTRAÇÃO DE CHUMBO NOS OSSOS (Pb-O), CHUMBO NA URINA (Pb-U), CHUMBO NOS DENTES, CHUMBO NOS CABELOS (Pb-C), ÁCIDO DELTA AMINOLEVULÍNICO URINÁRIO (ALA-U) e 5-AMINOLEVULINATO DEHIDRATASE (ALA-D), dentre outros (Skerving, 1993; Alessio & Foá, 1980, Morita et al 1994; Hu et al, 1989, 1994; Landrigan & Todd, 1994; Michael & Rabinowitz et al, 1991; Somashekaraiah et al, 1990; Marqués 1993). A aplicação dos indicadores biológicos em estudos toxicológicos é realizada de forma rotineira, e a seguir serão descritas as aplicações e vantagens dos indicadores ALA-U e Pb-U.

1.5.2- APLICAÇÃO DO ALA-U COMO INDICADOR BIOLÓGICO

A utilização de ALA-U está associada a diferentes níveis de Pb-S em exposições ocupacionais contínuas e pode ser uma opção rápida e confiável na avaliação da exposição e na prevenção dos efeitos adversos a saúde, podendo ser empregado como uma pré-avaliação de exposição (screening) e somente os trabalhadores com ALA-U acima do valor prescrito seriam submetidos a uma avaliação por Pb-S, reduzindo o número de análises realizadas (Caldeira, 1998).

Estudos realizados (Okayama, 1992; Caldeira, 1998) confirmam que o método de determinação do ALA-U por Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC), por ser mais específico que outros métodos, permite obter dados mais acurados e

melhor correlacionados aos níveis de Pb-S. Os valores obtidos por HPLC são inferiores aos encontrados por espectrofotometria, sugerindo que em baixas concentrações, pirróis derivados de outros compostos urinários podem interferir nos resultados.

Devido a extensa utilização da Cromatografia Líquida de Alta Performance neste estudo, são apresentados em anexo, os seus princípios, aplicações e instrumentação empregadas.

1.5.3 - APLICAÇÃO DO Pb-U

Os níveis de chumbo na urina têm sido largamente empregados no monitoramento biológico do chumbo (IPCS, 1992; Hudák et al, 1992) pois o período de latência é de apenas algumas horas, sendo um bom indicador de efeito para exposições recentes (Marqués, 1993; ASTDR, 1990; John, 1990).

Em indivíduos com exposições contínuas foi encontrada uma correlação significativa entre níveis de chumbo atmosférico, Pb-S e ALA-U com Pb-U (Makino S, Tsurutah e Takata T, 2000; Takada S, 1999). No caso de exposições recentes existe uma boa correlação entre Pb-S e Pb-U, mas enquanto o Pb-S demonstra uma correlação imediata e direta com a exposição, o aumento de Pb-U requer um período de latência de cerca de 2 semanas.

Concentrações ósseas de chumbo podem representar uma exposição corpórea longa, e já está bem conhecido que 80% do chumbo absorvido durante uma exposição recente é excretado pela urina, deste modo o Pb-U é considerado um bom indicador biológico de exposição recente quando correlacionado com exposição ambiental (Kobayashi et al, 1997).

Fatores tais como quantidade de líquido interno e a gravidade específica da urina podem influenciar a excreção do chumbo pela urina. Indivíduos com nefrite

crônica e expostos, frequentemente tem níveis de Pb-U normais embora possuam um grande estoque do metal (Foá, 1978; Arai, F. et al., 1994). Embora estes resultados apontem para a utilização do Pb-U como indicador biológico de exposição, é necessário que sejam conduzidos estudos direcionados à validação deste indicador de dose interna.

1.5.4 - VANTAGENS DO USO DO ALA-U E Pb-U COMO BIOMARCADORES

A utilização do ALA-U e Pb-U tem como vantagem evitar que indivíduos com baixa carga corpórea do metal sejam submetidos a exames invasivos e periódicos. Em relação ao ALA-U, pode-se reduzir no caso de exposições baixas até 71,4% do número de análises. As vantagens de um biomarcador que possa ser analisado utilizando-se como matriz biológica a urina, são claras: não causa nenhum tipo de desconforto ao trabalhador, facilidade na coleta, armazenamento, transporte e manuseio da amostra. A desvantagem causada pela influência da variabilidade inter-individual da urina, pode ser contornada em parte, pela correção das amostras pela creatinina, com os resultados expressos em mg/g de creatinina.

1.5.5 - CREATININA

Para que se tenha uma boa comparação entre resultados de análises em urina com limites de tolerância biológicos estabelecido ou resultados obtidos em um conjunto de trabalhadores expostos às mesmas condições, seria necessário no mínimo coletar toda a urina eliminada durante um intervalo de 24 horas. Isto representa uma prática bastante difícil de estabelecer. Mesmo que ocorra coleta durante 24 horas em intervalos diferentes a diluição deste material será também diferente. Diante destas dificuldades, a coleta de urina é feita através de um jato único normalmente na início da jornada de trabalho sendo realizada a correção do resultado analítico pela creatinina (Paroni R. & col, 1990; Solimam S. A., 1986; Fuller N.J. and Elia M., 1988).

A creatinina é um produto endógeno do nosso metabolismo e a quantidade total produzida se direciona ao rim e lá ocorre a eliminação, ao contrário de outras substâncias que são reaproveitadas e sua taxa pode variar de acordo com alguns parâmetros como exemplo a idade (Krol H. M., 1987).

1.5.6 - IMPORTÂNCIA DA DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE REFÊRENCIAS

O estabelecimento de valores de referência para indicadores biológicos na população brasileira é de fundamental importância para o conhecimento dos níveis atuais de contaminação ambiental (*Threshold Limit Value – TLV*) e como índice de comparação em populações expostas ocupacionalmente.

O termo Valores de Referência define os níveis dos indicadores biológicos encontrados na população em geral que não está exposta ocupacionalmente ou ambientalmente à substância tóxica sob estudo. Esses valores são utilizados de forma comparativa com dados obtidos de programas de monitoramento biológico, quer individuais e/ou populacionais, a fim de identificar populações expostas. Sendo assim, uma vez estabelecida a distribuição dos níveis do indicador biológico na

população sob estudo, faz-se necessário avaliar se há diferença significativa com os valores encontrados no grupo de referência (Alessio, 1980).

Nos países em desenvolvimento, a **indústria de baterias chumbo-ácida** é a maior consumidora de chumbo, e os trabalhadores deste setor estão sob alto risco de intoxicação pelo metal. Enquanto em países desenvolvidos, este risco ocupacional tem sido estudado e regulado, menos se conhece sobre este tipo de exposição nos países em desenvolvimento. A produção destas baterias pode ser realizada em operações de pequena escala, utilizando tecnologia relativamente simples, tornando-se atraente para economias em desenvolvimento (Matte *et al.*, 1989).

Os estudos nos países em desenvolvimento revelam um alto percentual de trabalhadores neste tipo de indústria com níveis de Pb-S acima de 60µg/dl, como 28% na Jamaica e 38% na Coreia, e 23% dos trabalhadores do Sudão com níveis acima de 80µg/dl. Em contrapartida, nos Estados Unidos, 6% apresentam Pb-S acima de 60µg/dl (Matte *et al.*, 1989).

Atualmente, níveis de Pb-S acima de 25µg/dl já são considerados como um “alerta” por alguns estados americanos. Sendo assim a prevalência de resultados acima desta concentração aumenta. Como exemplo, num estudo realizado na Califórnia (EUA), entre 1987-90, incluindo diversas atividades, entre elas 22 fábricas de baterias, dos 5240 resultados de Pb-S dos trabalhadores das fábricas de baterias, 20,8% (1089) apresentaram valores acima de 25µg/dl, dos quais 30,8% (335) com níveis entre 40-60µg/dl e 5,7% acima de 60µg/dl (Maizlish *et al.*, 1993).

Apesar da falta de dados sistematizados no Brasil sobre as **intoxicações profissionais pelo chumbo (IPCh)**, as informações disponíveis apontam para uma

prevalência relativamente alta. Na tabela 4 são apresentados alguns resultados de estudos brasileiros (Cordeiro, 1995).

Tabela 2 - Prevalência das IPCh em fábricas e/ou reformadoras de baterias no Brasil, por região e período de estudo (adaptado de Cordeiro, 1995).

Região	Período	IPCh	Total de Trabalhadores
Bauru -SP	1985 –1987	800 casos	*
Grande Belo Horizonte -MG	1987	52 %	154
Campinas - SP	1989	38 %	*

* Não apresenta o número total de trabalhadores avaliados

A Organização Mundial de Saúde (OMS), atualmente reconhece que os níveis admissíveis de exposição se distinguem em vários países por fatores políticos e econômicos e as modificações destes valores sofrem modificações através do tempo. A única forma de padronização dos limites de exposições ocupacionais mais reconhecida no mundo é estabelecida pela ACGIH (Associação Americana não Estatal de Higienistas Industriais) ao qual serve de base principal para aplicação em diversos países além dos Estados Unidos, como exemplo México, Inglaterra, Holanda, Noruega e outros países incluindo o Brasil (Vasconcelos, 1995).

Em relação ao chumbo, alguns países que não desenvolveram seus próprios limites, adotaram critérios definidos por outras nações, como a comissão formada pela Comunidade Européia, definindo valores de referências para Pb-S entre 4,6 à 27,6 µg/dl sangue.

A norma regulamentadora No. 7, aprovada pela portaria 3214, do Ministério do Trabalho, define particularmente os atuais LBE para doenças profissionais, entre elas a intoxicação pelo chumbo. Estabelece também conceitos para valor de referência de normalidade (VR) e o Índice Biológico Máximo Permitido (IBMP), definidos, respectivamente como “o valor possível de ser encontrado em populações não expostas ocupacionalmente, e o valor máximo do indicador biológico para o qual se supõe que a maioria da população exposta ocupacionalmente não corra o risco de dano à saúde”. Segundo a NR-7, os valores de Pb-S considerados como valores de referência são de 40 µg/dL e IBMP de 60 µg/dL.

Alguns autores como Letourneau. G, (1988), discutem que valor deve ser empregado como referência para o ALA-U, que possa predizer diferentes níveis de Pb-S. Segundo o autor, níveis de 5 mg/g de creatinina utilizados para validar o teste tornam a determinação mais eficiente, aumentando a sensibilidade e especificidade. Os autores de um modo geral preferem a alternativa de utilizar 5mg/g de creatinina como limite para predizer diferentes níveis de Pb-S (Arai F. et al., 1994).

Alguns estudos têm sido realizados a nível nacional, como é o caso de Londrina, Paraná, onde foram estabelecidos valores de referência para os indicadores biológicos, Pb-S e ALA-U, distribuídos de acordo com o sexo e o hábito de fumar. Os valores de referência para o total de indivíduos foram de 2,40 – 14,3 µg/dl e 0,7 – 5,66 mg/g de creatinina, respectivamente para Pb-S e ALA-U (Paoliello et al, 1993). Desta forma, pela carência de dados no estado do Rio de Janeiro e, por serem estes, valores nacionais e portanto mais próximos da realidade brasileira, serviram como valores de referência para análise dos resultados deste estudo e comparados com dados atualizados da literatura internacional, valores utilizados pela Comunidade Européia (CE).

Devido a sua pouca aplicabilidade no monitoramento biológico ocupacional, o único valor de referência proposto para o indicador biológico Pb-U foi determinado pela comunidade europeia que utiliza como faixa de 1,2 a 2,7 µg/dl.

1.5.7 VALORES PARA MONITORAMENTO BIOLÓGICO

Os valores para monitoramento biológico humano são derivados da toxicologia humana e de estudos epidemiológicos, sendo considerados como base para avaliações dos dados oriundos do monitoramento biológico humano, relacionadas à saúde. Estes valores podem ser considerados de duas diferentes formas:

- Valores para monitoramento biológico humano de uma determinada concentração de uma substância tóxica ambiental em um material biológico humano (sangue, urina, soro ou plasma) abaixo da qual não há risco de efeitos adverso à saúde em indivíduos da população em geral;
- Valores para monitoramento biológico humano de uma determinada concentração de uma substância tóxica ambiental em material biológico humano (sangue, soro, plasma, urina), acima da qual, sob certas condições, há um risco aumentado para efeitos adversos à saúde em indivíduos susceptíveis da população em geral.

Neste sentido, os valores para monitoramento biológico humano, chamado de Índices Biológicos Máximos Permitidos (IBMP) considerados pela Legislação Brasileira (NR-7, 1978) são 60 µg/dl sangue e 5 mg/g cr de Pb-S e ALA-U respectivamente. Segundo a NR-7 trabalhadores que apresentarem níveis acima destes valores devem ser afastados dos seus ambientes de trabalho (NR-7,1978).

Estes valores foram preconizados a pelo menos 20 anos atrás, devendo ser revistos. Segundo Cordeiro,1995 trabalhadores que apresentarem estes valores já demonstram sintomas característicos de exposição ao chumbo, concluindo que a probabilidade destes trabalhadores de estarem doentes é de 37%.

OBJETIVOS DO TRABALHO

CAPÍTULO 2

Este estudo fez parte de um projeto amplo e multidisciplinar que visa a avaliação da exposição ao chumbo de trabalhadores de empresas que manipulam chumbo em seus processos de trabalho e da população circunvizinha que vem sendo realizado pelo CESTEH, tendo como início o ano de 1995.

O objetivo principal deste estudo é avaliar a contaminação dos indivíduos expostos, através do indicador de efeito ALA-U e testar a validade do Pb-U como um indicador de exposição ao chumbo. Os objetivos específicos são:

- 1- Avaliação das concentrações de Pb-U e ALA-U na urina dos trabalhadores expostos;
- 2- Correlação dos valores obtidos nestas avaliações com as concentrações de Pb-S;
- 3- Avaliação dos indicadores biológicos com os diferentes processos de trabalho;
- 4- Correlação dos indicadores com o tempo de exposição destes trabalhadores.

METODOLOGIA

CAPÍTULO 3**3.1 - POPULAÇÃO ESTUDADA**

Esta pesquisa foi desenvolvida em duas fábricas, e uma reformadora de baterias em uma fundição, todas localizadas na cidade do Rio de Janeiro. As empresas selecionadas para este estudo, apresentam setores administrativos, comerciais e de produção, sendo que o último constituído de sub-setores de montagem, enchimento, carregamento e de testes de baterias.

A população estudada foi formada pelos 47 trabalhadores pertencentes as empresas no 1º semestre do ano de 1998. Durante quatro meses foram realizadas visitas, onde foram realizadas atividades de monitoramento ambiental, procedimentos educacionais de higiene industrial e entrega dos laudos aos trabalhadores.

As atividades de coleta do material biológico para a determinação dos indicadores de exposição foram realizadas nas empresas, antes do início da jornada de trabalho, tendo sido adotados cuidados especiais como a limpeza na área de coleta e no braço dos trabalhadores, para que as amostras não fossem contaminadas.

Os trabalhadores participaram de uma investigação clínica que consistia em exames de natureza clínica, neurológica, comportamental, e entrevistas onde declaravam seu grau de instrução, tempo de serviço, proximidade ou não de suas residências ao local de trabalho, e alguns hábitos como tabagismo e consumo de álcool. Neste estudo os trabalhadores foram categorizados de acordo as suas atividades desenvolvidas como: administração, supervisão e produção.

3.2 - DETERMINAÇÃO DE ALA-U POR HPLC

A cromatografia líquida de alta performance ou alta eficiência (HPLC ou CLAE) é um método que tem como característica a capacidade de diferenciar moléculas por suas composições e estruturas. Apesar de apresentar limitações como um alto custo de instrumentação e operação, esta técnica possui algumas vantagens como o tempo de análise que é relativamente curto (poucos minutos até horas), alta resolução, resultados quantitativos com desvios relativos inferiores 0,5%, boa sensibilidade e versatilidade.

3.2.1 – Experimental

Instrumental

Um cromatógrafo Líquido de Alta Performance SHIMADZU com um detector de U.V.-Vis SPD-10A, um degaseificador on line DGU-10A, um modulador de sistema de controle SCL-10A e um integrador SHIMADZU SCL-10A plus foram utilizados nestas análises. A fase móvel utilizada no HPLC consistiu em: acetonitrila com 50mM de tampão fosfato de potássio monobásico , em proporção de 20:80 a um ph de 2.5, ajustado com ácido fosfórico. O fluxo foi de 1.0 ml/min; uma coluna de fase reversa C18 (200 x 4.6 mm) 5 µm ODS HYPERSIL; a detecção foi realizada em 260 nm. A temperatura do forno foi ajustada em 40°.C e o loop utilizado de 50µl.

Reagentes e Soluções

Metilacetoacetato, n-butanol e padrão de cloridrato de ALA eram da marca Sigma. O ácido acético glacial, o fosfato de potássio -monobásico e dibásico empregados foram da marca Merck. Acetonitrila e ácido fosfórico da marca Vetec.

3.2.2 – Coleta e Preparação da Amostra

As amostras de urina foram coletadas em frascos de polietileno isentos do metal, transferidas para tubos de ensaio e congeladas a (-20°C) até o momento da análise. O método utilizado foi de Ogata & Taguchi modificado (1987), que tem como princípio o uso do metilacetoacetato na etapa de condensação e formação do ALA-pirrol, e do n-butanol para reduzir o número de interferentes encontrados na urina, impedindo a formação de outros pirróis.

As amostras e curvas de calibração foram preparadas da seguinte maneira:

Em 1ml de urina foram adicionados 0.2ml da solução de ácido acético a 60% e 2ml de n-butanol, agitou-se em vórtex por 5 segundos. Adicionou-se 0.5ml da solução tampão fosfato de potássio (ph = 6.8) e 0.1ml de metil acetoacetato. A mistura foi aquecida a 100°C por 10 minutos. Depois as amostras foram resfriadas em gelo durante 3 minutos, e então 50 µl foram injetados no HPLC. Os padrões foram preparados nas concentrações de 1.25, 2.5, 5, 10 e 20 mg/l a partir de uma solução-padrão de 1 g/l do ALA cloridrato.

3.2.3 – Calibração

Devido a ausência de calibradores externos, tornou-se necessário o uso de calibradores internos diários, no caso um calibrador padrão (solução-padrão 1g/L do ALA cloridrato). As curvas de calibrações para o indicador de efeito ALA U por HPLC foram realizadas a partir de água e da matriz biológica urina (urina coletada diariamente de um mesmo indivíduo não exposto).

Quando a calibração é realizada em água, o resultado detecta um registro cromatográfico “puro”, ou seja, isento de componentes urinários, o qual normalmente interfere, podendo alterar o tempo de retenção do ALA e a área do pico registrado (figura 4).

Figura 4 – Registro cromatográfico do ALA urinário, a numeração ao lado do pico mostra o tempo de retenção e abaixo a respectiva área do pico encontrada (amostra urina).

A tabela 3 representa a calibração dos padrões em 6 concentrações diferentes, utilizando água como amostra, e as condições cromatográficas estabelecidas para análises com a curva de calibração de forma ilustrativa.

Tabela 3 : Concentrações utilizadas para calibração, com seus respectivos tempos de retenção e áreas dos picos registradas

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Tempo de retenção (min)	Área
Branco	8,033	***
1,25	8,056	8236
2,5	8,095	14554,5
5,0	8,199	35372
10,0	8,271	80899
20,0	8,243	149383
40,0	8,275	316163

CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS:

Amostra: água

Coluna: ODS Hipersil 5 μm ,
200 X 4,6mm flow

Deteção: 260nm U.V.

Fluxo: 1,00 mL/min

Temperatura: 40°C

Fase móvel: acetonitrila/

fosfato de potássio

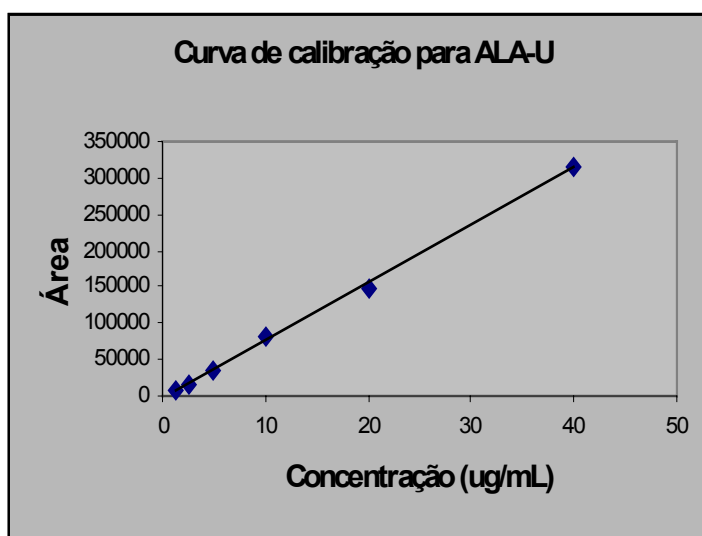
monobásico (KH_2PO_4)

ph 2,5 ajustado com

ácido fosfórico

Proporção: 80/20

Loop: 50 μL



$$R = 0,9995 \quad R^2 = 0,9984$$

$$Y = (-2633,90)X + (7911,68)$$

Em urina, as concentrações para a calibração foram utilizadas com a mesma performance anterior. Na tabela 4 representa a aplicação dos calibradores padrões em concentrações de urina, onde existe um aumento no tempo de retenção e na área do pico devido a presença do metabólito ALA urinário, que é eliminado naturalmente em indivíduos saudáveis e não expostos.

Tabela 4:Concentrações utilizadas para calibração em urina, com seus respectivos tempos de retenção e áreas dos picos registradas

Concentração (µg/mL)	Tempo de retenção (min)	Área	Área – Valor do branco
Branco	7,643	7937,5	***
1,25	7,676	13306,5	5369
2,5	7,634	24449	16511,5
5,0	7,605	40903	329965,5
10,0	7,553	79026	71088,5
20,0	7,610	134691	126753,5
40,0	7,626	285248	277310,5

CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS:

Amostra: urina

Coluna: ODS Hipersil 5 µm,
200 X 4,6mm flow

Deteção: 260nm U.V.

Fluxo: 1,00 mL/min

Temperatura: 40°C

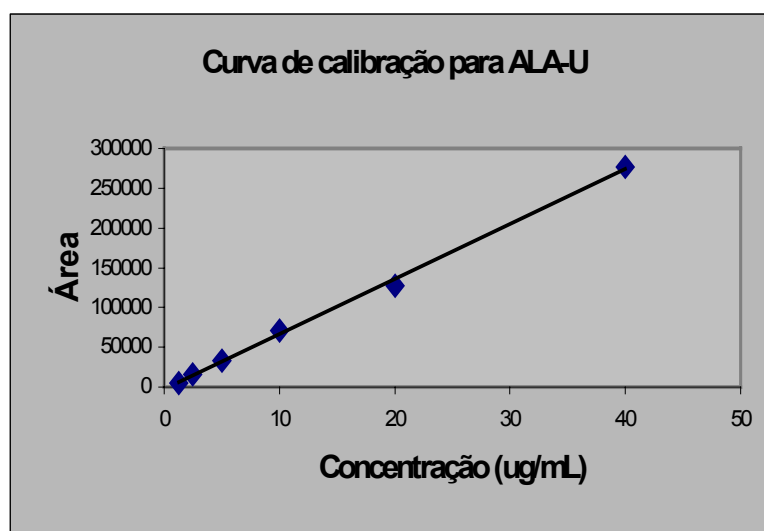
Fase móvel: acetonitrila/

fosfato de potássio
monobásico (KH₂PO₄)

ph 2,5 ajustado com
ácido fosfórico

Proporção: 80/20

Loop: 50µL



$$R = 0,9988 \quad R^2 = 0,9951$$

$$Y = (-2353,03)X + (6909,4)$$

3.2.4 – Avaliação do método

Foram realizados estudos de recuperação, reprodutibilidade e sensibilidade. Obteve-se em média 97,6% (SD = 7,2) de recuperação para as concentrações de 2,5 , 10 e 40 mg/mL (N = 6). A reprodutibilidade inter e intra ensaio foram determinadas para as mesmas concentrações com coeficientes de variação inferiores a 8% (o maior CV de 7,7% para avaliação intra ensaio na concentração de 10 mg/mL). O limite de detecção do método foi de 0,98 µg/mL.

3.2.5 – Análise dos resultados

Para efeito de validade analítica dos resultados, considera-se como valores de referência resultados até 4.5 mg/g. Os valores do ALA-U foram corrigidos pelos valores obtidos na dosagem de creatinina sendo expressos em mg/g de creatinina.

A avaliação estatística dos dados encontrados com o uso do indicador de efeito ALA-U, foi implantado o teste de análise de variância ANOVA (*oneway*), com significância $p < 0,01$. O cálculo estatístico foi realizado pelo sistema de programa estatístico SPSS.

3.2.6 – Determinação da validade e eficácia: cálculo da sensibilidade, especificidade e valor preditivo

A sensibilidade e especificidade são duas medidas essenciais utilizadas para validação adequada de um teste screening. Foram estimadas a sensibilidade e especificidade de ALA-U e Pb-U como teste screening para níveis de Pb-S entre 4,6 a 27,6 µg/dL (valores considerados como valores de referência para populações expostas não ocupacionalmente pela Comunidade Européia), verificando a associação ou dependência entre os dois testes.

O quadro abaixo, representa em forma resumida como foi aplicado a correlação entre os testes screening utilizados, ALA-U e Pb-U, e o teste padrão Pb-S:

Onde,

A= verdadeiros positivos, ou seja, resultados de ambos os testes positivos;

B= falsos positivos, ou seja, resultado do teste screening positivo, mas com o teste padrão negativo;

C= falsos negativos, ou seja, resultado do teste screening negativo, mas com o teste padrão positivo;

D= verdadeiros negativos, ou seja, resultados de ambos os testes negativos.

Quadro 1- quadrante de determinação de sensibilidade, especificidade e valor preditivo (Adaptação Hennekens et al, 1987)

	ALA-U e Pb-U(screening)		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	a	b	a + b
Negativo	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	
Sensibilidade		a/ a+c	
Especificidade		d/ b+d	
Valor preditivo positivo		a/ a+c	
Valor preditivo negativo		d/ c+d	

3.3 - Determinação de Pb-S e Pb-U por Espectrometria de Absorção Atômica no Forno de Grafite

A espectrometria de absorção atômica (EAA) é um dos métodos instrumentais mais utilizados na determinação de metais traço em diferentes matrizes, por ser específico, exato, sensível, rápido, confiável e possibilitar a análise direta de amostras, sem necessidade de tratamento prévio. O forno de grafite é uma técnica utilizada rotineiramente na determinação da concentração de metais em material biológico, por seu baixo limite de detecção, necessitar pequena quantidade de amostra e permitir sua análise direta, diminuindo, assim, as chances de contaminação e/ou perdas. Seu custo é, ainda, relativamente baixo, quando comparado com outra técnica para determinação de metais traço e comparável limite de detecção, o ICP-MS (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectroscopy).

3.3.1 - Experimental

Instrumental

Um espectrômetro de absorção atômica Zeeman 5100 com forno de grafite HGA - 600 e amostrador automático AS - 60, todos Perkin-Elmer, foram utilizados neste trabalho. O comprimento de onda da lâmpada de cátodo oco (Perkin-Elmer) de chumbo foi de 283,3 nm e a largura da fenda foi de 0,7 nm. Tubos recobertos com grafite pirolítico (Perkin Elmer, cat. N° B0109322) e plataformas de L'vov (Perkin Elmer, cat. N° B0109324) foram usados em todos os experimentos. Todas as condições do conceito STPF ("Stabilized Temperature Platform Furnace" - Forno de Plataforma com Temperatura Estabilizada) foram obedecidas neste estudo. O

programa de temperatura utilizado para a determinação de chumbo em sangue e urina pode ser encontrado na Tabela 5.

Tabela 5: Programa de temperatura para determinação de chumbo

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	“Hold” (s)	Fluxo de Argônio (mL.min ⁻¹)	
1	90	1	10	300	*
2	120	20	10	300	**
3	1100	10	20	300	
4	20	1	10	300	
5	1900	0	5	0	***
6	2600	1	3	300	
7	20	1	5	300	

* Modificador ** Amostra *** Leitura

Lavagem do Material

Toda a vidraria e utensílios plásticos utilizados ficaram imersos em uma solução de Extran (Merck) a 5% (v/v), por um período mínimo de 24 horas. Após este tempo, o material era enxaguado com água corrente em abundância e, em seguida, imerso em uma solução de ácido nítrico a 10% (v/v) para a descontaminação por, pelo menos, 48 horas. Após ser enxaguado várias vezes com água deionizada, o material era seco em estufa, a 30°C.

Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados foram, pelo menos, de grau analítico (P.A.). A solução estoque de 1000 µg.mL⁻¹ de chumbo foi preparada a partir da solução padrão concentrada Titrisol-Merck. As soluções analíticas de chumbo eram preparadas diariamente por diluições adequadas da solução estoque, em ácido

nítrico 0,2% (v/v), também Merck, tendo sido a água de diluição previamente purificada pelo sistema Milli-Q, da Millipore.

O modificador químico foi preparado a partir de uma solução de nitrato de paládio 10 g.L^{-1} e de magnésio 10 g.L^{-1} (ambos Perkin Elmer), de modo que uma alíquota de $10 \mu\text{l}$ do modificador continha $15 \mu\text{g}$ de paládio elementar e $10 \mu\text{g}$ de nitrato de magnésio.

3.3.2 - Coleta e Preparação da Amostra

As amostras de sangue total foram coletadas em tubos a vácuo, tendo heparina como anticoagulante, e congeladas -20°C até o momento da análise. Quando, então, as amostras eram diluídas em Triton X-100 0,1% (v/v), nas proporções de 1+9 ou 1+19, de acordo com a concentração da amostra.

Já as de urina foram coletadas diretamente em frascos de polietileno e também congeladas. Antes da coleta, os frascos de polietileno eram descontaminados, de acordo com os procedimentos já descritos acima. Para a preparação da amostra, o único procedimento foi uma diluição da urina em ácido nítrico 0,2% (v/v), na proporção de 1+4.

3.3.3 - Avaliação do Método

↳ Limite de Detecção (3σ):

- Chumbo em sangue: $1,9 \mu\text{g.dL}^{-1}$ (diluição de 10 X) ou $2,9 \mu\text{g.dL}^{-1}$ (diluição de 20X) na amostra original;
- Chumbo na urina: $0,4 \mu\text{g.dL}^{-1}$ (diluição de 5 X)

↳ Precisão (CV):

- Chumbo em sangue: 9,3 % até $11 \mu\text{g Pb.dL}^{-1}$
5,9 % de 11 a $17 \mu\text{g Pb.dL}^{-1}$
5,0 % acima de $17 \mu\text{g.dL}^{-1}$
- Chumbo na urina: 56,7 % até $2,3 \mu\text{g Pb.dL}^{-1}$
7,9 % de 2,3 a $4,6 \mu\text{g Pb.dL}^{-1}$
4,5 % de 4,6 a $7,4 \mu\text{g Pb.dL}^{-1}$
1,7% acima de $7,4 \mu\text{g Pb.dL}^{-1}$

3.3.4. Controle da Qualidade Analítica

➤ Controle Externo

Controle interlaboratorial para chumbo em sangue, realizado com:

- * Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo - Zaragoza, Espanha
- * Instituto Adolfo Lutz - São Paulo, Brasil

➤ Controle Interno

A verificação das condições operacionais é acompanhada através da análise, em cada série de amostras, das seguintes amostras certificadas:

⇒ Chumbo em sangue

- * Contox Blood Lead Control (Kaulson Laboratories):
High Level (lot. BLM 891 RVE): $54,0 \pm 6,0 \mu\text{g.dL}^{-1}$
Medium Level (lot. MBO 30 RVE): $25,0 \pm 4,0 \mu\text{g.dL}^{-1}$

Low Level (lot. LBO 33 R): $5,0 \pm 3,0 \mu\text{g.dL}^{-1}$

Heavy Metal Blood Control A – Level I (lot. HMB 99 IA 596R): $15,0 \pm 4,0 \mu\text{g.dL}^{-1}$

⇒ Chumbo em urina

* Contox Urine Control (Kaulson Laboratories):

Urine Trace Metal Control – Level I (lot. TM 143696 AR): $1,9 \pm 0,6 \mu\text{g.dL}^{-1}$

Heavy Metal Urine Control A – Level I (lot. TM143-493): $10,0 \pm 2,0 \mu\text{g.dL}^{-1}$

* Lanonorm Metals 1 - Control Urine for Metals 1, lot. nº 625203 (Behring Institute, Alemanha): $1,0 \pm 0,2 \mu\text{g.dL}^{-1}$

3.3.5 – Análise dos resultados

Para validação analítica dos resultados encontrados na utilização do indicador Pb-S, considera-se como valores de referência entre 4,6 e 27,6 $\mu\text{g/dL}$ determinado pela Comunidade Européia (CE). Para Pb-U, considera-se valores de referência entre 1,2 e 2,7 $\mu\text{g/dL}$ (CE) e corrigidos pelos valores obtidos na dosagem de creatinina sendo expressos em $\mu\text{g/mg}$ de creatinina.

A avaliação estatística dos dados encontrados com o uso dos indicadores de dose interna Pb-S e Pb-U, foi implantado o teste de análise de variância ANOVA (*oneway*), com significância $p < 0,01$. O cálculo estatístico foi realizado pelo sistema de programa estatístico SPSS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CAPITULO 4

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados das concentrações dos indicadores biológicos ALA-U e Pb-U avaliados em trabalhadores expostos. A partir destes dados foram obtidas correlações com os indicadores biológicos analisados comparando-os aos valores do indicador de dose interna Pb-S.

4.1 – Aplicação dos valores referenciais aos resultados obtidos:

Aplicando o valor referencial proposto pela Comunidade Européia (CE) aos dados encontrados neste estudo, exclusivamente para Pb-S, onde foram analisados um total de 47 trabalhadores, 31 apresentaram valores acima de 27,6 $\mu\text{g/dL}$, enquanto 16 trabalhadores estiveram dentro da faixa segurança de população não exposta ocupacionalmente. Pela faixa determinada de acordo com a NR-7 (1994), com VR de 40 $\mu\text{g/dL}$ e IBMP de 60 $\mu\text{g/dL}$, este quadro reverteria esta proporção, apresentando apenas 20 trabalhadores risco relativo de contato ao chumbo, enquanto a maioria, de 27 trabalhadores, estariam dentro dos VR propostos pela legislação brasileira. (Figura 5).

Matte e colaboradores (1989) já alertaram que países em desenvolvimento que adotam valores elevados (acima de 60 $\mu\text{g/dL}$ e até 80 $\mu\text{g/dL}$) dos IBMP devem imediatamente rediscuti-los e reformulá-los pois nestes patamares já seria possível demonstrar algumas manifestações toxicológicas.

A figura 6 representa o perfil de exposição quando comparadas com os valores da NR-7 e os valores propostos por Londrina, Paraná. Entre todos os 46 trabalhadores analisados, 19 apresentaram valores de ALA-U acima de 5,66 mg/g cr, e 27 não estavam expostos ao chumbo segundo Londrina - PR. Conforme a NR-7, foi observado que 21 trabalhadores apresentaram níveis acima e 25 trabalhadores estiveram abaixo do VR.

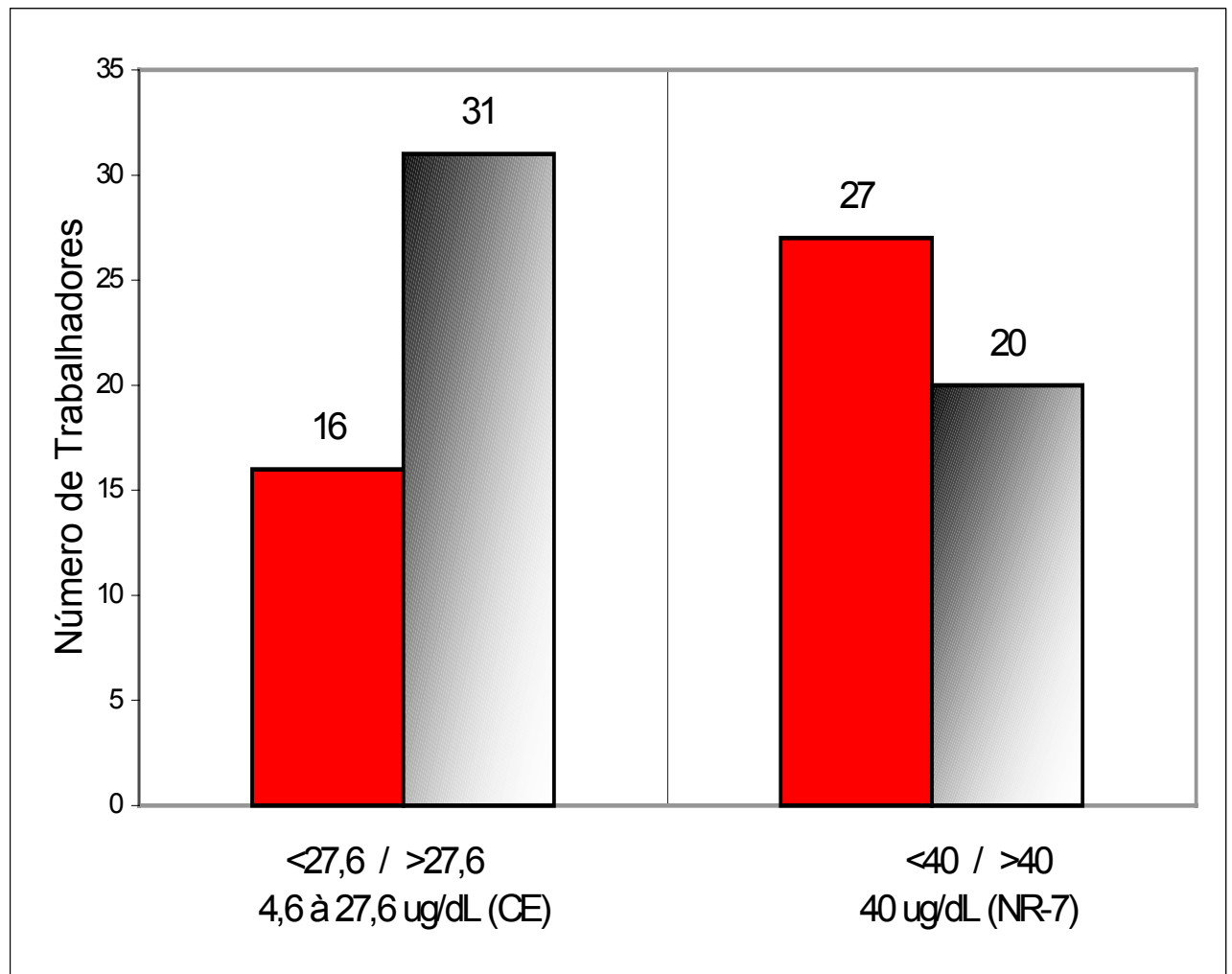


Figura 5 - Distribuição dos trabalhadores de acordo com as concentrações de Pb-S, conforme os valores de referência adotados pela Comunidade Européia – CE (4,6 à 27,6 ug/dL) e NR-7 (40 ug/dL) respectivamente.

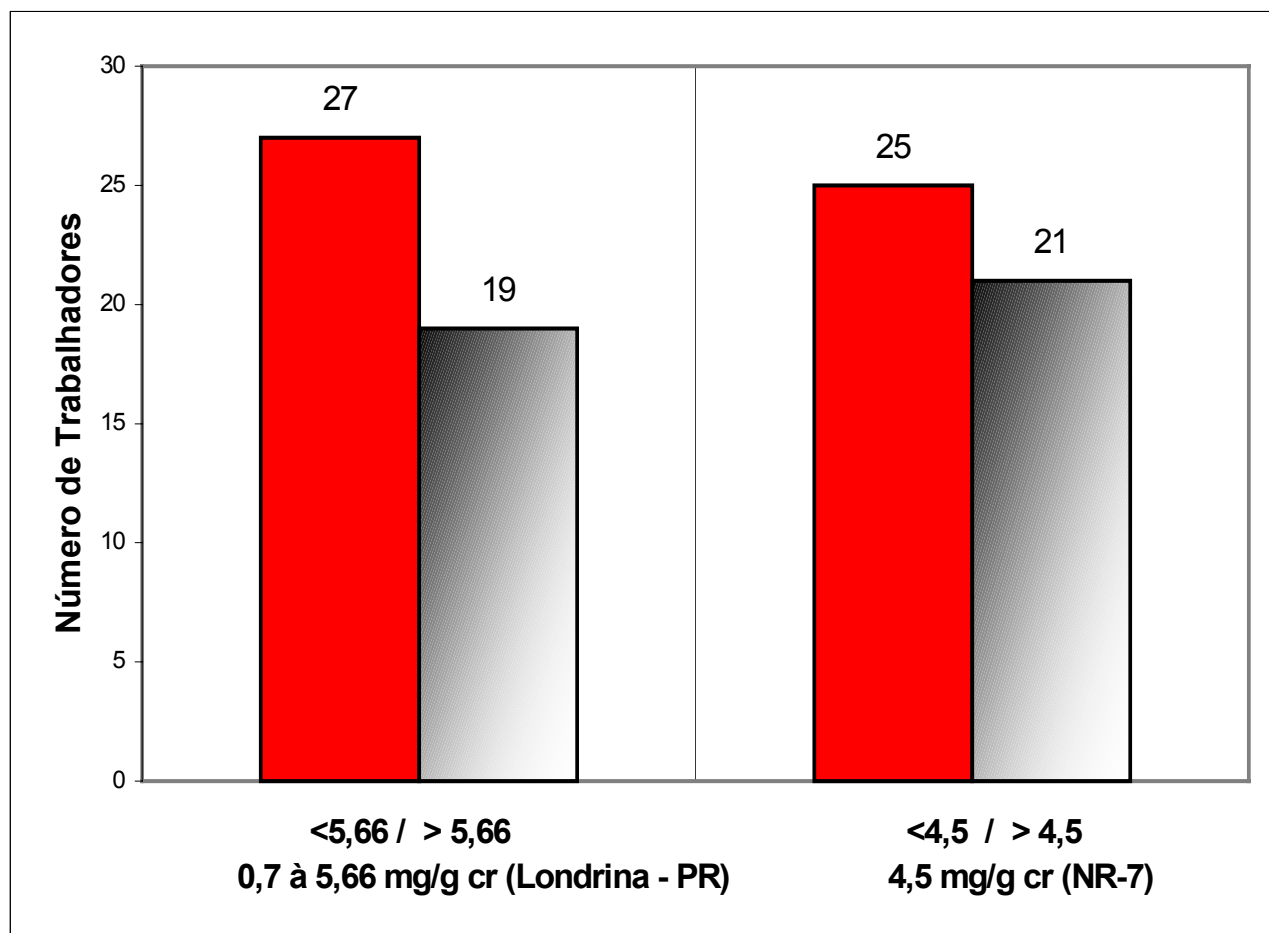


Figura 6 – Distribuição dos trabalhadores de acordo com as concentrações de ALA-U, conforme os valores de referência nacionais propostos por Londrina-PR e NR-7 respectivamente.

Para análise de Pb-U o valor estabelecido como referência para população não exposta ocupacionalmente seria de 1,2 a 2,7 $\mu\text{g/dl}$ definidos pela CE. De acordo com estes valores, 32 (69%) trabalhadores apresentaram faixas de concentrações acima de 2,7 $\mu\text{g/dl}$, enquanto somente 14 (31%) não possuíram concentrações acima deste valor (figura 7).

O próximo passo consistiu em estratificar o conjunto dos trabalhadores expostos (acima de 2,7 $\mu\text{g/dL}$) em 3 faixas de concentração equivalentes de Pb-U (2,7 a 18,46; 18,47 a 34,23; e 34,24 a 50 $\mu\text{g/dL cr}$). Tal procedimento teve como objetivo estudar uma possível tendência de distribuição de 69% (N = 32) dos trabalhadores sobre as concentrações do referido indicador. A figura 8 demonstra que 45% (N = 21) de trabalhadores, em sua maioria, apresentam valores próximos ao VR de 2,7 $\mu\text{g/dL}$, 18% (N = 8) 18,47 a 34,23 $\mu\text{g/dL}$ e apenas 6% (N = 3) de trabalhadores registraram os valores mais elevados, chegando a atingir uma concentração de 50 $\mu\text{g/dL cr}$.

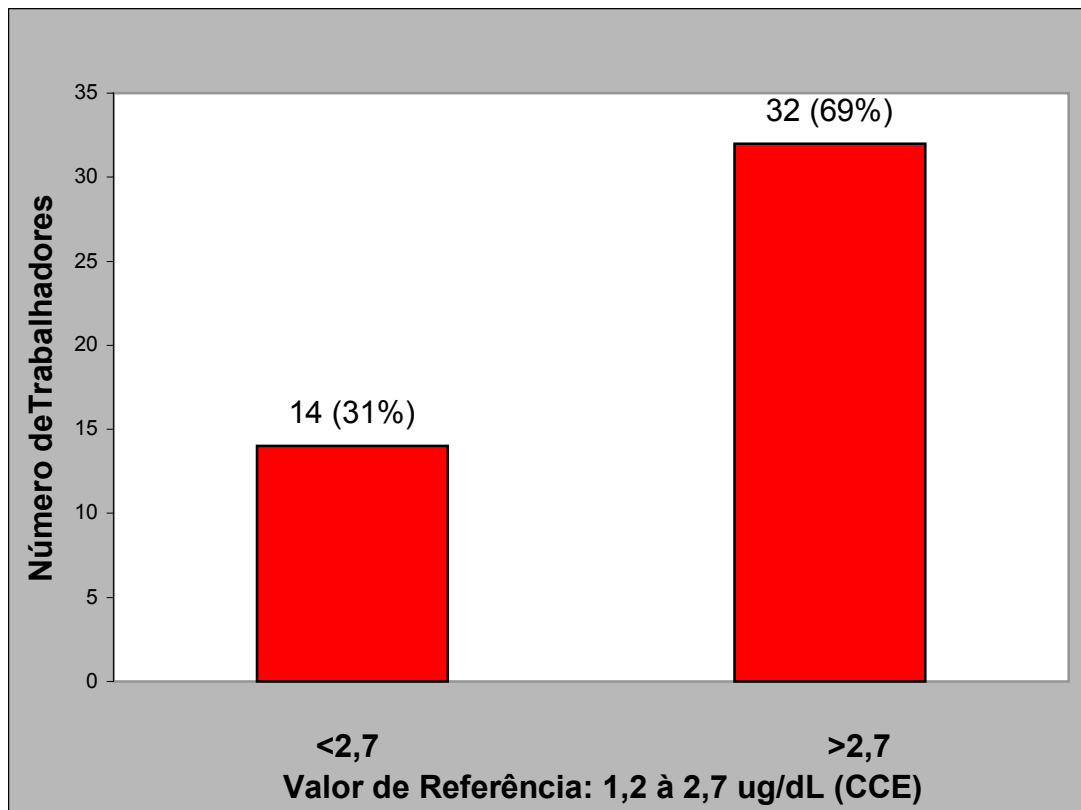


Figura 7- Distribuição dos trabalhadores de acordo com as concentrações de Pb-U, conforme os limites permitidos pela CE.

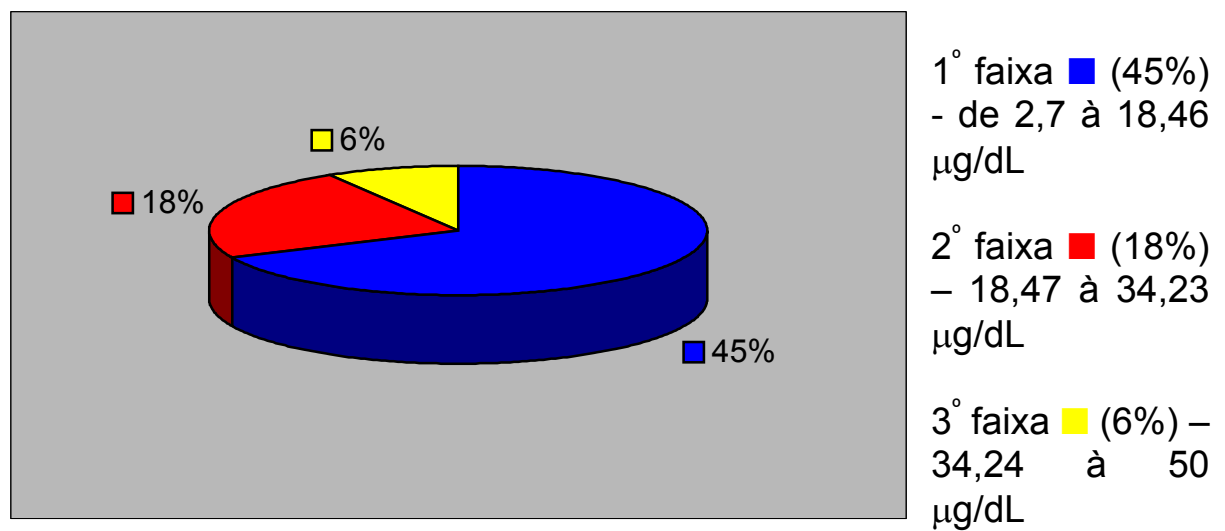


Figura 8 - Distribuição dos trabalhadores expostos segundo a CE expressos em valores percentuais encontrados em três faixas equivalentes de concentrações de Pb-U.

4.2 – Avaliação da correlação entre as concentrações de ALA-U, de chumbo em urina Pb-U e níveis de chumbo em sangue Pb-S:

A regressão linear e as respectivas correlações entre os indicadores (Pb-S, Pb-U e ALA-U) foram calculadas e apresentadas a seguir.

Neste estudo, o coeficiente de correlação entre Pb-U e Pb-S encontrado foi de $r=0,677$ ($p<0.01$) demonstrando uma boa correlação os indicadores (figura 9). Estudos realizados por Moon (1999) e colaboradores, para validação de 3 indicadores (Pb-U, Pb-F (Food) e Cd-U (cádmio urinário) em 107 mulheres na Ásia, demonstraram também um bom coeficiente de correlação ($r=0,920$, $p < 0,01$) entre Pb-U e Pb-S. Ikeda (2000) investigou a utilização do Pb-U em populações urbanas expostas ao chumbo durante 7 anos (1991 a 1998), localizadas em 5 regiões do oeste e sudeste da Ásia. Os resultados demonstraram que existe uma linearidade favorável, principalmente na faixa de concentração variadas entre 32 e 65 $\mu\text{g/L}$ de Pb-S ($r=0,661$, $p < 0,01$).

Tabela 6- Descrição Estatística dos indicadores biológicos Pb-U e Pb-S

Indicadores biológicos	Média	Desvio Padrão	N
Pb-U	7,33	9,50	46
Pb-S	44,55	29,80	47

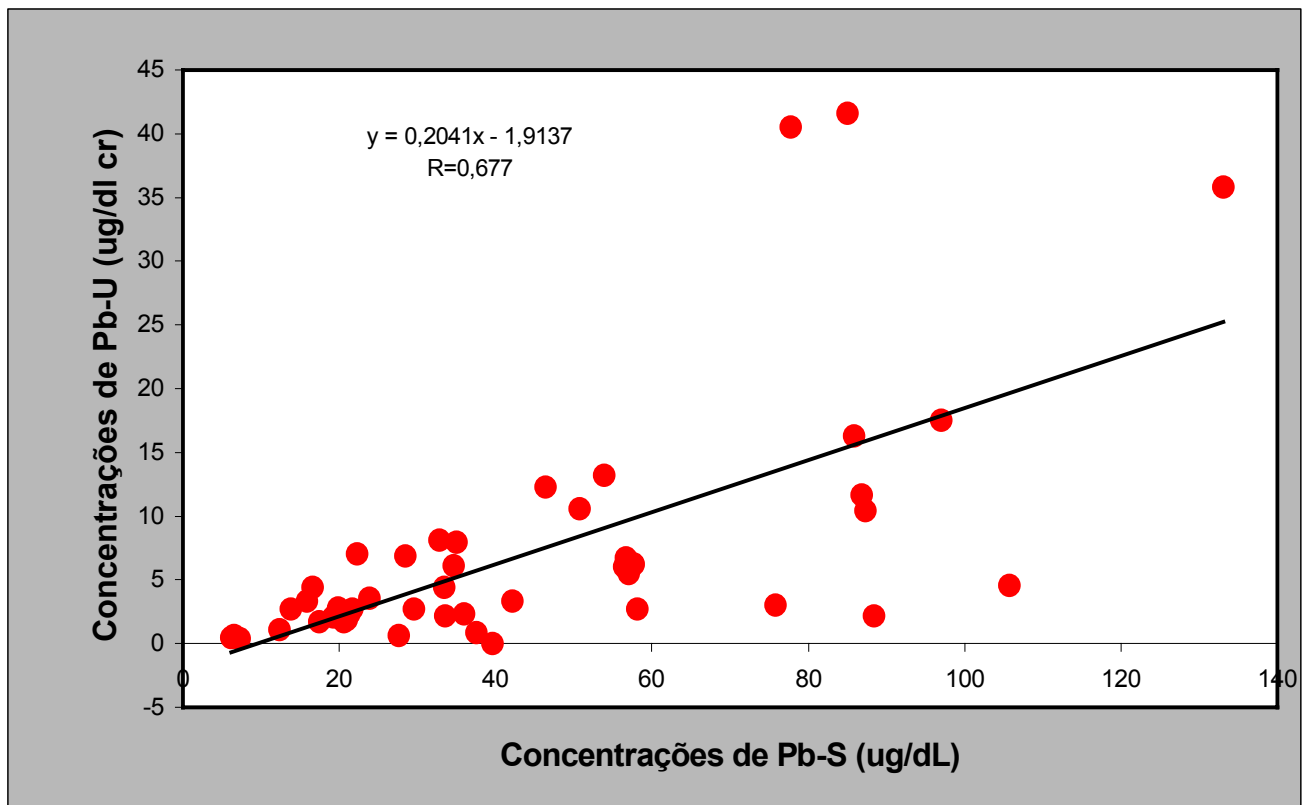


Figura 9 – Correlação entre os indicadores biológicos Pb-U e Pb-S

A correlação entre os indicadores biológicos de efeito ALA-U e de dose interna Pb-S apresentou um $r = 0,654$ com um $p < 0,01$ (figura 10). A tabela 7 apresenta os resultados descritivos dos indicadores. Outros estudos demonstram da mesma forma, um coeficiente de correlação também significativo entre ALA-U e Pb-S. Letourneau (1988) encontrou também coeficientes de correlação com a mesma significância encontrada neste estudo, utilizando também o método de detecção de Ogata e Tagushi (1987). Caldeira (1999) utilizando dois grupos de trabalhadores, o primeiro composto por cabistas telefônicos e o segundo por trabalhadores de fábricas de baterias conseguiu demonstrar uma correlação significativa entre os valores de log de ALA/HPLC e Pb-S (1º grupo $R = 0,739$ e 2º grupo $R = 0,902$ / $p < 0,01$).

Makino e colaboradores (2000) também obtiveram uma correlação de ALA-U e Pb-S de $r = 0.692$ até valores de $35,5 \mu\text{g/dL}$ de Pb-S (valor log. 1,55), em 3636 trabalhadores expostos por chumbo, através de análises clínicas periódicas desde de 1992.

Tabela 7- Descrição Estatística dos indicadores biológicos ALA-U e Pb-S

Indicadores biológicos	Média	Desvio Padrão	N
ALA-U	14,25	17,20	46
Pb-S	44,55	29,80	47

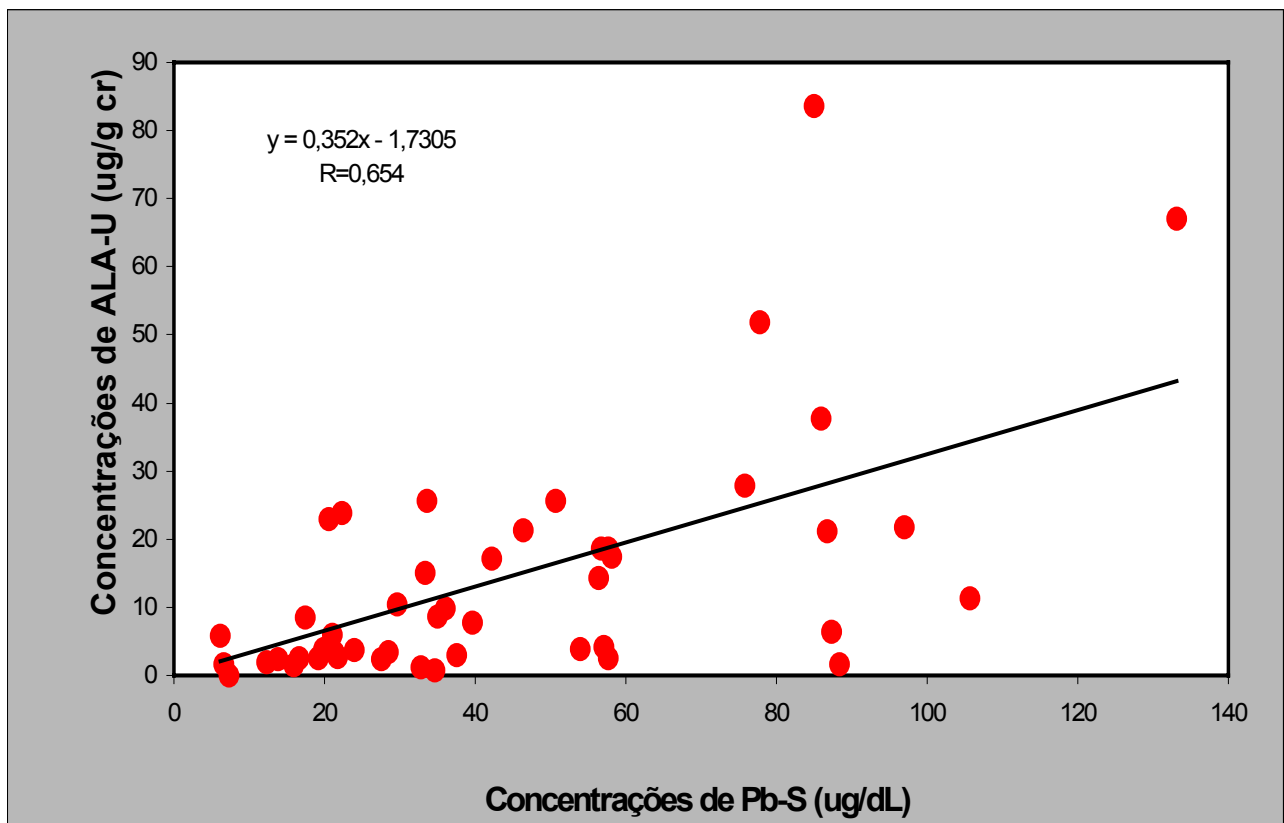


Figura 10 – Correlação entre os indicadores biológicos ALA-U e Pb-U

A correlação entre Pb-U e ALA-U encontrada foi de $r=0,852$ ($p < 0,01$). Atualmente ainda não existem dados na literatura que correlacionem estes dois indicadores.

A Tabela 8 apresenta os coeficientes de correlação encontrados entre os indicadores biológicos e seus respectivos níveis de significância.

Tabela 8 – Correlação entre todos indicadores biológicos avaliados

Indicadores biológicos	Pb-S	ALA-U	Pb-U
Pb-S			
• correlação.	1,00	0,654**	0,677**
• Grau de significância. (2-tailed).	0,00	0,00	0,00
• N .	47	46	46
ALA-U			
• correlação.	0,654**	1,000	0,852**
• Grau de significância. (2-tailed).	0,00	0,00	0,00
• N .	46	46	46
Pb-U			
• correlação.	0,677**	0,852**	1,00
• Grau de significância. (2-tailed).	0,00	0,00	0,00
• N .	46	46	46

** Correlação com grau de significância em 0,01 ($P < 0,01$) -

4.3 - Avaliação dos indicadores biológicos com os diferentes processos de trabalho:

O próximo ponto abordado neste projeto é referente a avaliação dos indicadores biológicos em diferentes processos de trabalho. Para uma realização de análises mais claras e mais específicas, subdividimos as atividades profissionais exercidas por cada trabalhador envolvido neste estudo e categorizamos em setores: administração, supervisão e produção.

Em módulos empresariais, todas as atividades exercidas nas fábricas permitem que o empregado tenha um contato direto com chumbo. A partir dos resultados obtidos neste estudo, podemos observar que a intensidade da exposição varia de acordo com a categoria do funcionário, ou seja, com o setor da empresa que está envolvido no processo de trabalho. De acordo com os valores encontrados, o setor de produção demonstra ser o setor que mais coloca os trabalhadores em risco.

De acordo com a tabela 9, obteve-se uma média de Pb-S de 64,41 $\mu\text{g/dL} \pm 31,92$ o setor de produção. A administração em valores de 23,82 $\mu\text{g/dL} \pm 11,50$ e na supervisão de 36 $\mu\text{g/dL} \pm 17,02$. A figura 11 apresenta a frequência de Pb-S por categoria de trabalho.

Tabela 9 – Análise descritiva do indicador biológico Pb-S por setor de trabalho

INDICADORES BIOLÓGICOS	Setores de Trabalho	Estatística Descritiva				
		N	Média	Desvio Padrão	Valor Mínimo	Valor Máximo
Pb-S	Administração	16	23,82	11,50	6,20	42,20
	Supervisão	10	36,00	17,02	13,80	58,10
	Produção	21	64,41	31,92	16,60	133,10
	TOTAL	47	44,55	29,80	6,20	133,10

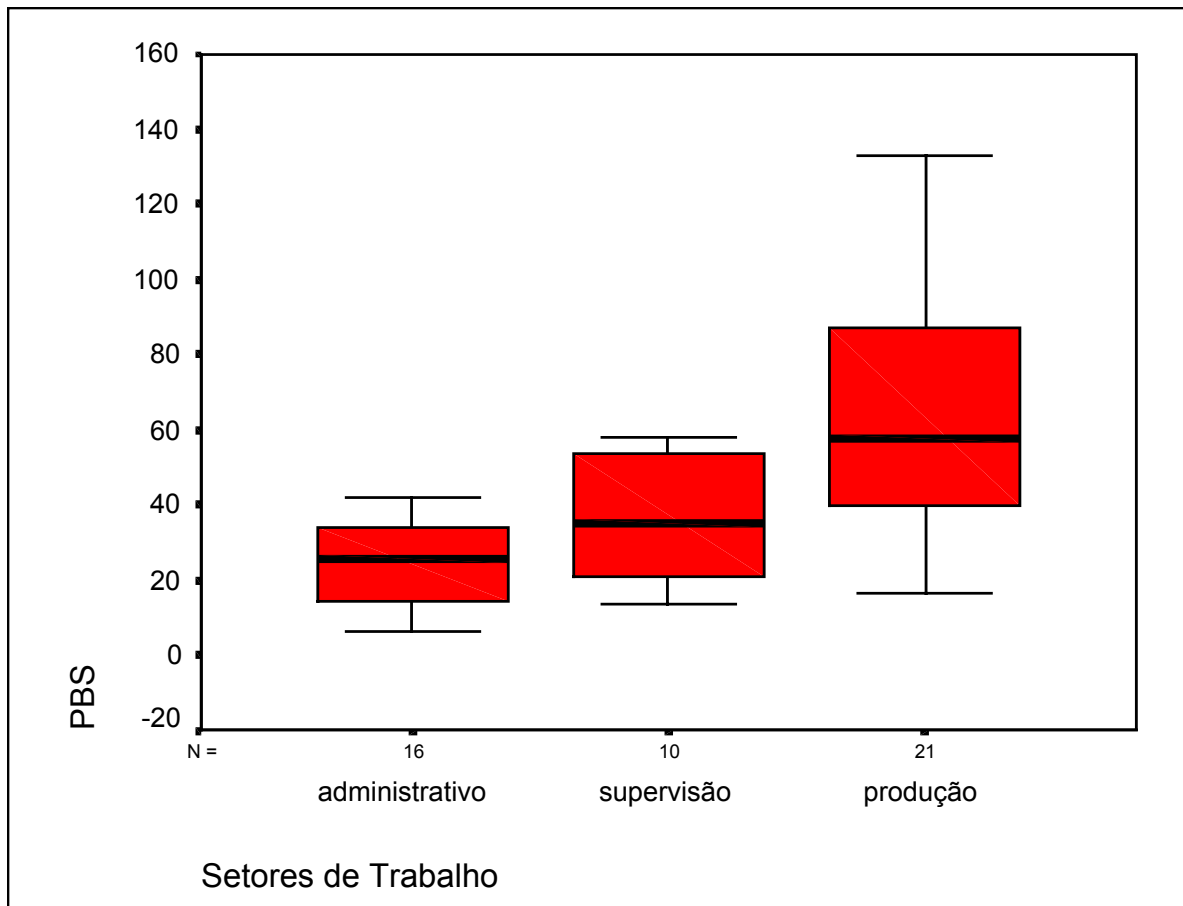


Figura 11 - Distribuição das concentrações de Pb-S por categoria de trabalho

Assim como para o Pb-S, a média de Pb-U foi a mais alta para o setor de produção, O setor de produção mostrou uma média de 11,73 $\mu\text{g/dL}$ cr $\pm 12,70$, enquanto na administração entre valores de 2,85 $\mu\text{g/dL}$ $\pm 2,33$ e na supervisão de 5,72 $\mu\text{g/dL}$ $\pm 4,46$ (Tabela 10). A figura 12 apresenta a frequência de Pb-U por categoria de trabalho.

Tabela 10 – Análise descritiva do indicador biológico Pb-U por setor de trabalho

INDICADORES BIOLÓGICOS	Setores de Trabalho	Estatística Descritiva		Desvio Padrão	Valor Mínimo	Valor Máximo
		N	Média			
Pb-U	Administração	16	2,85	2,33	0,40	8,00
	Supervisão	10	5,72	4,46	0,90	13,20
	Produção	20	11,73	12,70	2,10	41,60
	TOTAL	46	7,33	9,50	0,40	41,60

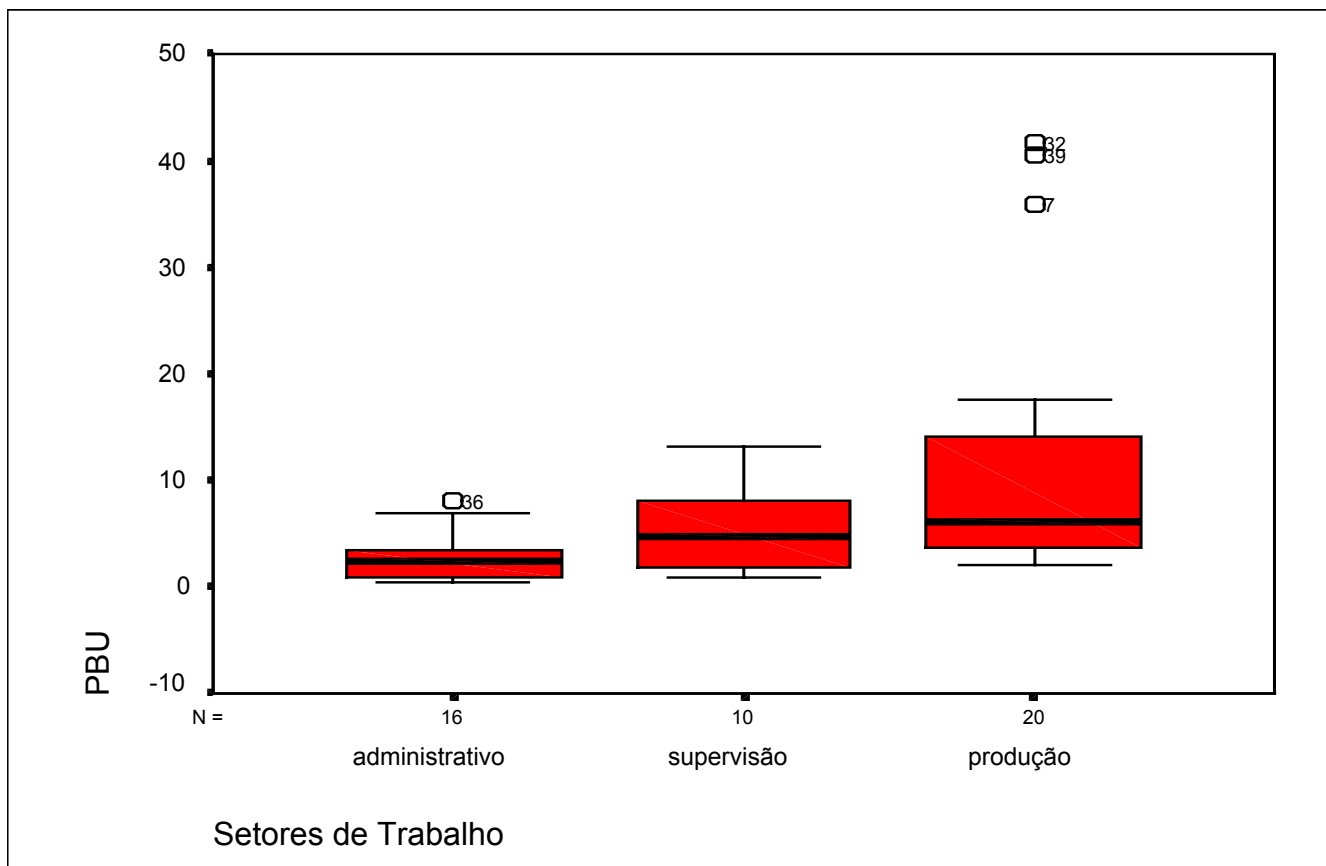


Figura 12 - Distribuição das concentrações de Pb-U por categoria de trabalho

O indicador de efeito ALA-U apresentou o perfil de exposição semelhante aos dois indicadores de dose interna (Pb-S e Pb-U) anteriormente mencionados. A Figura 13 apresenta a frequência de ALA-U por categoria de trabalho,

A média das taxas de concentrações do indicador biológico ALA-U apresentou valor mais alto para o setor de produção, (20,48 $\mu\text{g/g cr} \pm 22,58$), enquanto a administração com 7,97 $\mu\text{g/g cr} \pm 8,01$ e supervisão com 10,61 $\mu\text{g/g cr} \pm 8,71$ (Tabela 11).

Tabela 11 – análise descritiva do indicador biológico ALA-U por setor de trabalho

INDICADORES BIOLÓGICOS	Setores de Trabalho	Estatística Descritiva				
		N	Média	Desvio Padrão	Valor Mínimo	Valor Máximo
ALA-U	Administração	15	7,97	8,01	0,80	25,70
	Supervisão	10	10,61	8,71	1,20	23,80
	Produção	21	20,48	22,58	1,71	83,60
	TOTAL	46	14,25	17,20	0,80	83,60

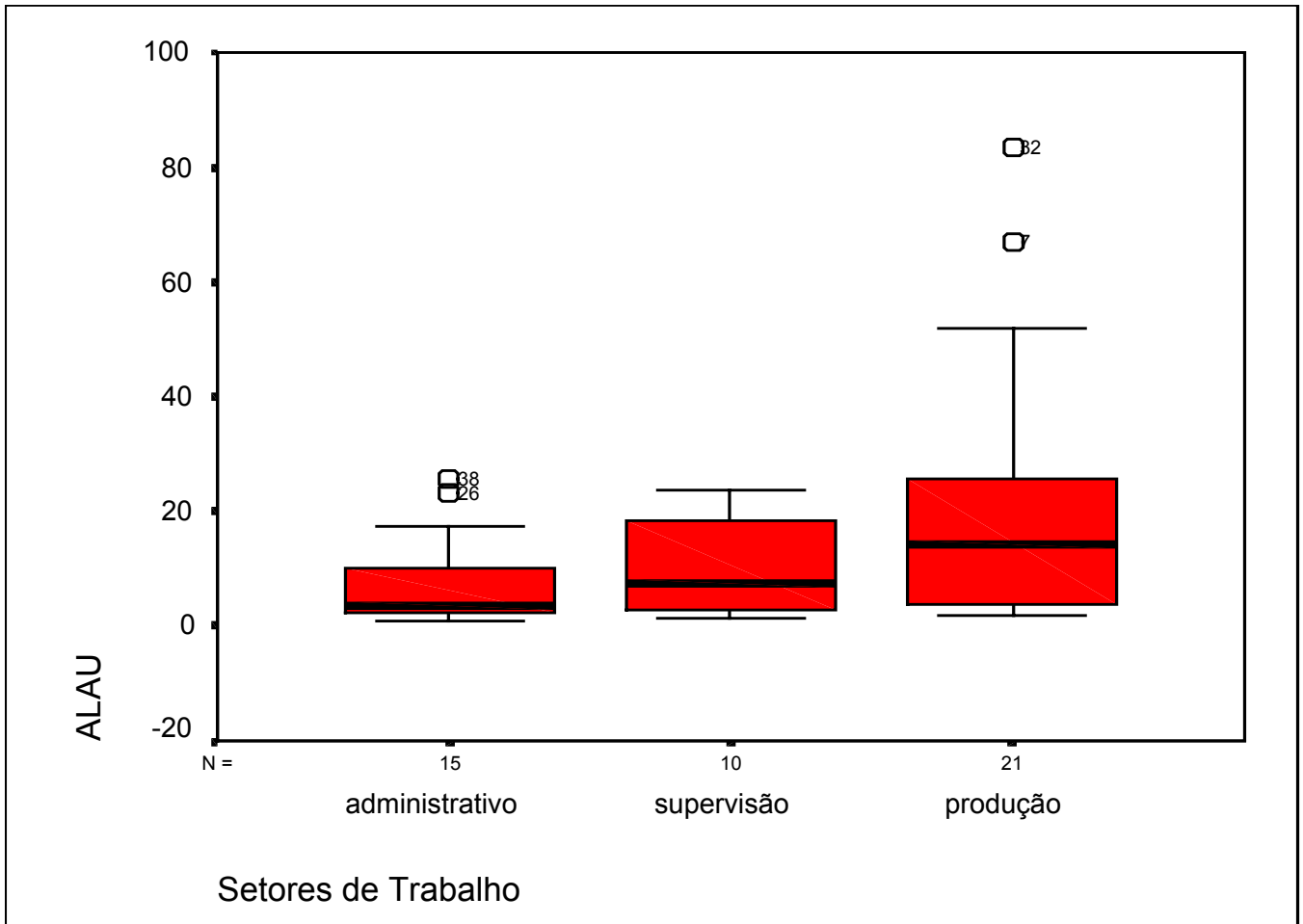


Figura 13- Distribuição das concentrações de ALA-U por categoria de trabalho

Para todos os indicadores biológicos avaliados foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,01$) entre os trabalhadores da produção e dos outros setores (Teste ANOVA- SPSS).

A frequência de distribuição dos níveis dos indicadores por percentual de trabalhadores é mostrado nas próximas figuras e apresentam perfis bastante semelhantes.

Na distribuição da frequência de Pb-S em todos os trabalhadores avaliados ($N = 47$), demonstrou que o maior número de trabalhadores apresentou concentrações entre 10,24 e 20,47 $\mu\text{g/dL}$ de Pb-S com média geral de 44,6 $\mu\text{g/dL}$ (figura 14).

Com relação ao Pb-U, a distribuição da frequência das concentrações por trabalhadores avaliados ($N = 46$) demonstrou um maior número de trabalhadores em faixas de 6,95 a 9,25 $\mu\text{g/dL cr}$, com média total de 7,3 $\mu\text{g/dL cr}$ (figura 15).

A frequência dos níveis de ALA urinário manteve o mesmo perfil que os demais. A segunda faixa das concentrações de ALA-U (entre 4,65 a 9,29 mg/g cr) apresentou o maior número de trabalhadores com média total de 14,30 mg/g cr ($N = 46$) (figura 16). Caldeira (1998), demonstrou em seu estudo, que o maior número de trabalhadores na categoria de cabistas telefônicos concentraram-se na faixa entre 0 a 2 mg/g cr ($N = 65$), e na categoria de fábricas de baterias, equilibraram-se em três faixas: 0 a 4 mg/g cr , 20 a 30 mg/g cr e 30 a 40 mg/g cr ($N = 17$).

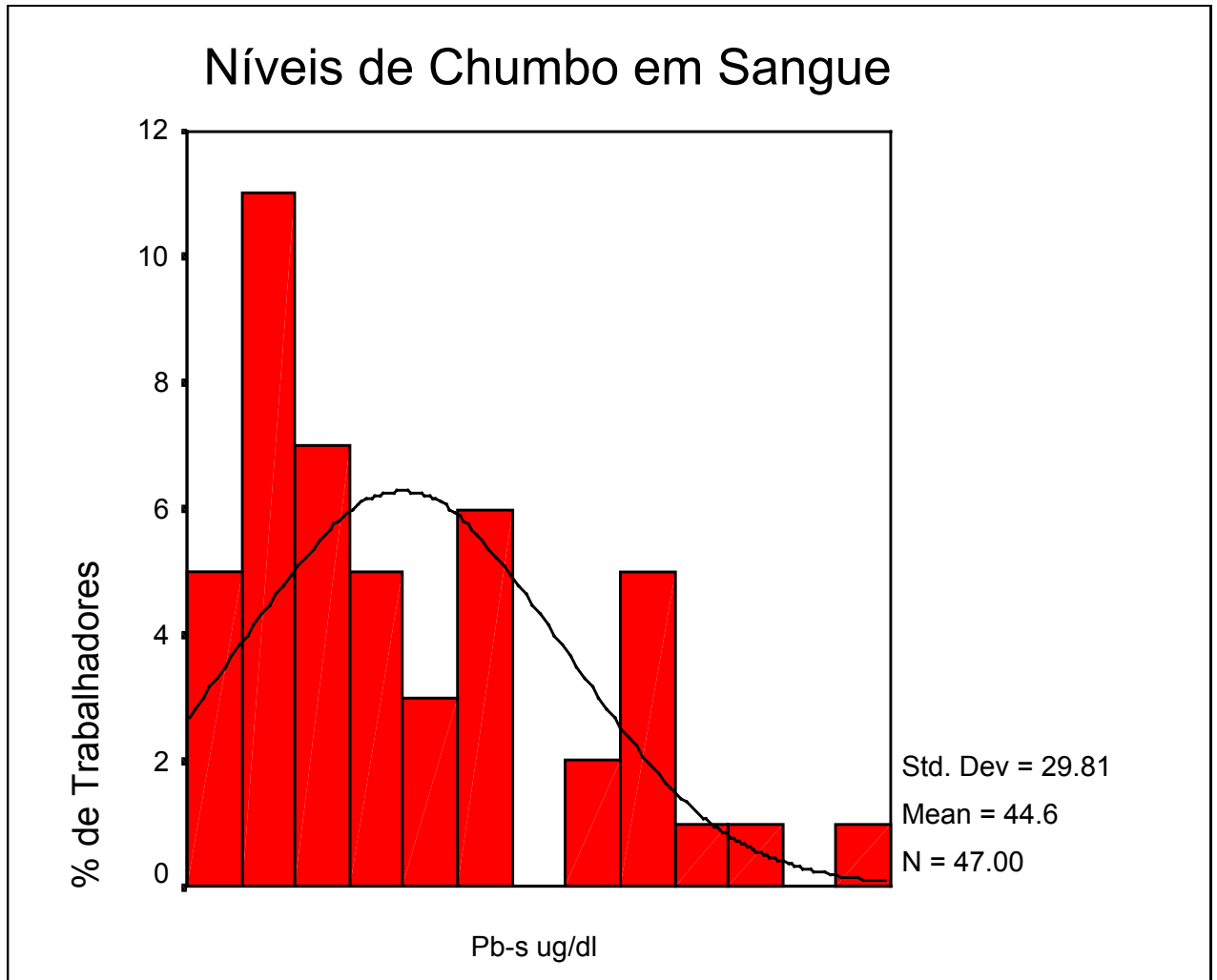


Figura 14 – Frequência dos níveis de chumbo em sangue

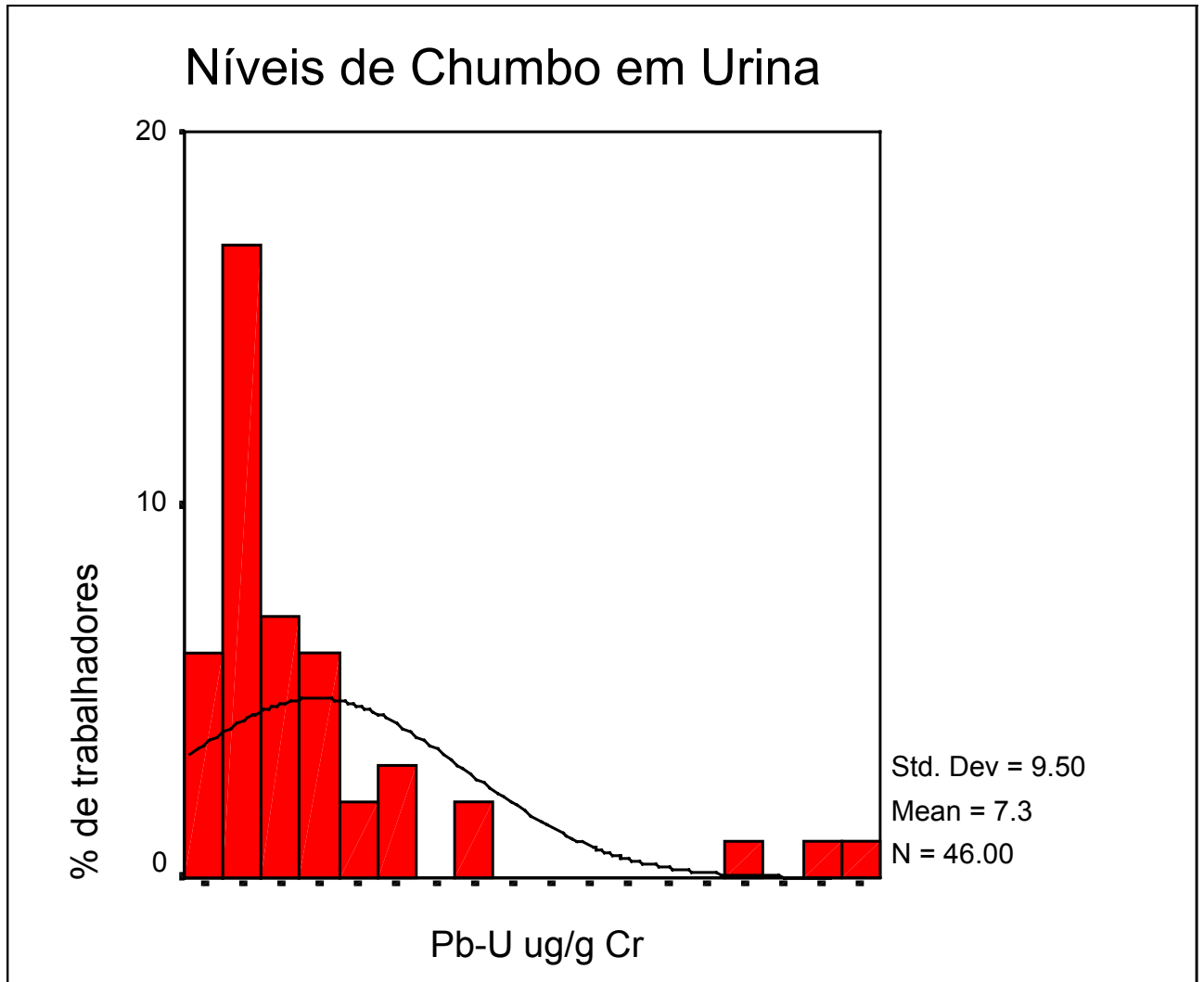


Figura 15 – Frequência dos níveis de chumbo em urina

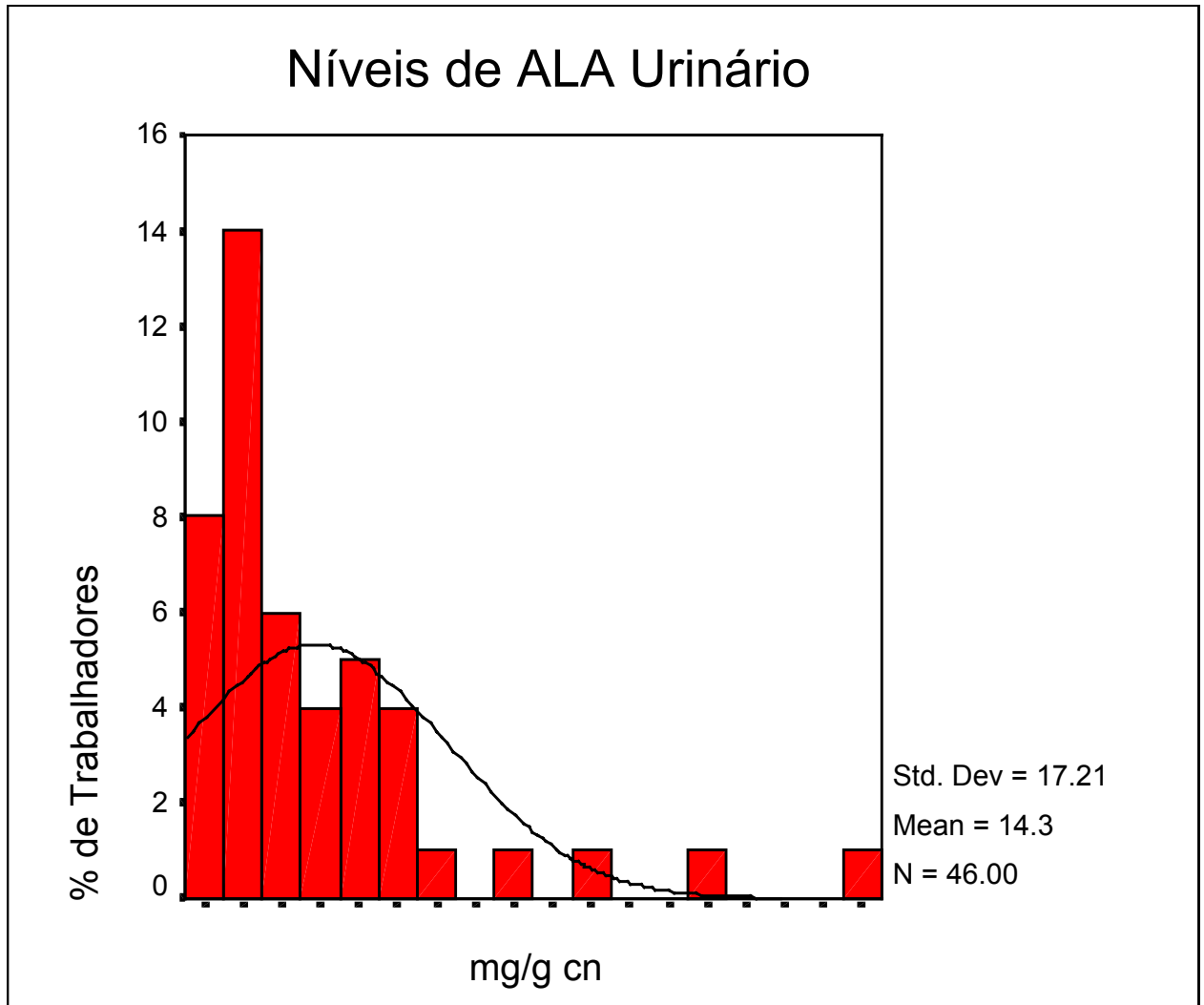


Figura 16 – Frequência dos níveis de ALA urinário

4.4 - Correlação dos indicadores biológicos com o tempo de exposição dos trabalhadores:

Conforme os objetivos deste projeto, a última etapa consistiu-se em correlacionar os níveis dos indicadores biológicos estudados, com o tempo de exposição. Entre os 47 trabalhadores analisados, o tempo de serviço variou de 1 a 444,0 meses.

De acordo com o tempo de trabalho, os trabalhadores foram divididos em três faixas: a 1^o faixa de 33% (0 – 56,96 meses (4,7 anos)); 2^o faixa de 66% (56,97 – 200,16 meses (16,6 anos)) e a 3^o faixa de 99% 200,17 – 444,0 meses (37 anos)).

Em indivíduos expostos continuamente, 4 % da carga corpórea do chumbo, localizada nos tecidos moles (fígado, rins e cérebro) dura 1 mês a meia-vida. Em 1 ano, após trocas ativas, o elemento passa dos tecidos moles para os ósseos. Com a permanência nestes tecidos ósseos (ou duros), a sua meia-vida passa para treze anos (IPCS, 1995; Marques, 1993 e ASTDR, 1990). Dentro deste modelo clássico de compartimentos de distribuição desenvolvido por Rabinowits e col. em 1976 e aplicado em diversos estudos, é possível se determinar em que momento da exposição estamos avaliando o trabalhador. Devido a este fato, em exposições crônicas, o Pb-S demonstra uma correlação imediata e direta com a exposição.

Neste estudo, a distribuição das concentrações de Pb-S por faixas de tempo apresentou valores mais superiores na 3^o faixa (200,17 – 444,0 meses), mas o maior valor individual de concentração de Pb-S encontrado foi na 2^o faixa (56,97 – 200,16 meses) com 105,70 µg/dL (figura 17).

O aumento das concentrações do indicador biológico Pb-U requer um período de latência em cerca de 2 semanas. A variação de suas concentrações ao longo do tempo de exposição é evidenciada na figura 18. Os valores mais altos do indicador

Pb-U foi encontrado na terceira faixa de tempo, embora o maior valor individual encontrado tenha sido na 2^o faixa, com 41,6 µg/dL cr.

Com o imediato efeito da indução da ALA-S e inibição da ALA-D, conseqüentemente ocorrerá a elevação da concentração do ácido aminolevulínico no plasma e em seqüência, na urina. O período de latência é de apenas algumas horas, o qual já é suficientemente perceptível notar as alterações das taxas de absorção de chumbo. Diante destes fatos, o ALA-U pode ser considerado um bom indicador biológico de exposições recentes (IPCS, 1995; Hudáck et al, 1992). Nesta avaliação, o indicador de efeito ALA-U demonstrou uma certa equivalência nas três faixas em conjunto de dados, sendo que a mediana na 3^o faixa foi superior. A concentração mais alta detectada ficou restrita na 2^o faixa com 83,60 mg/g cr (figura 19).

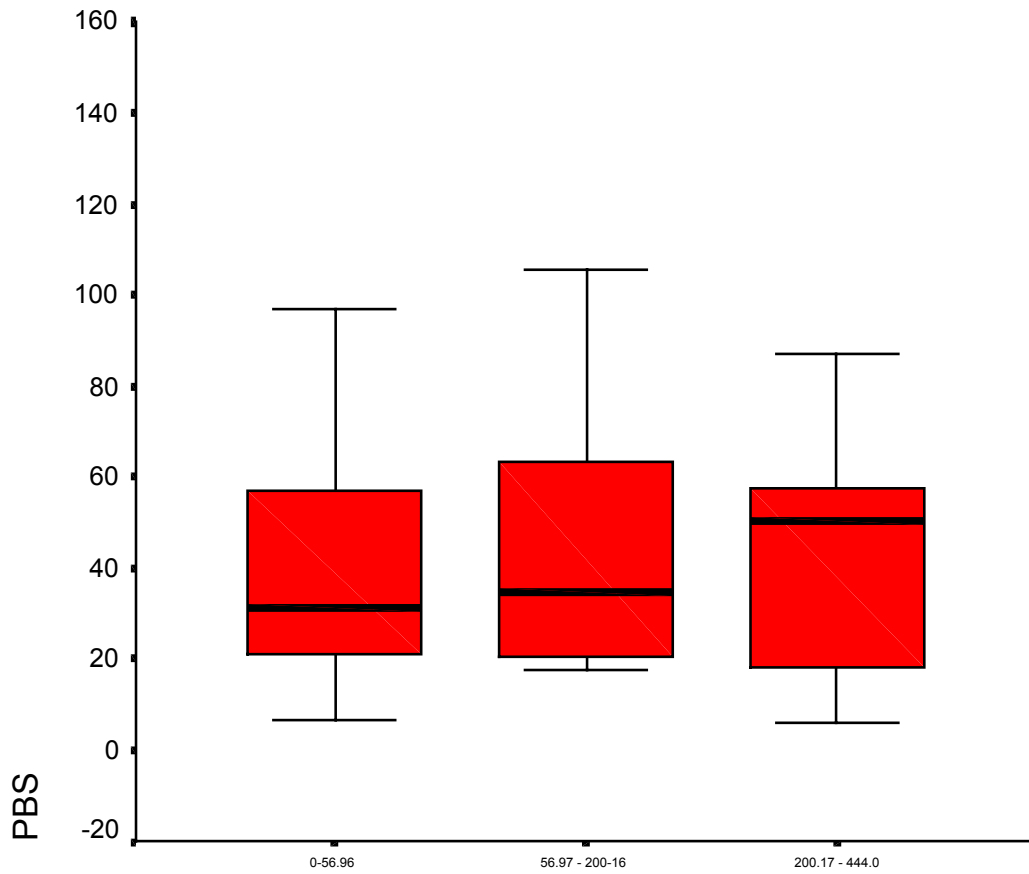


Figura 17 - Distribuição das concentrações de Pb-S por faixas de tempo

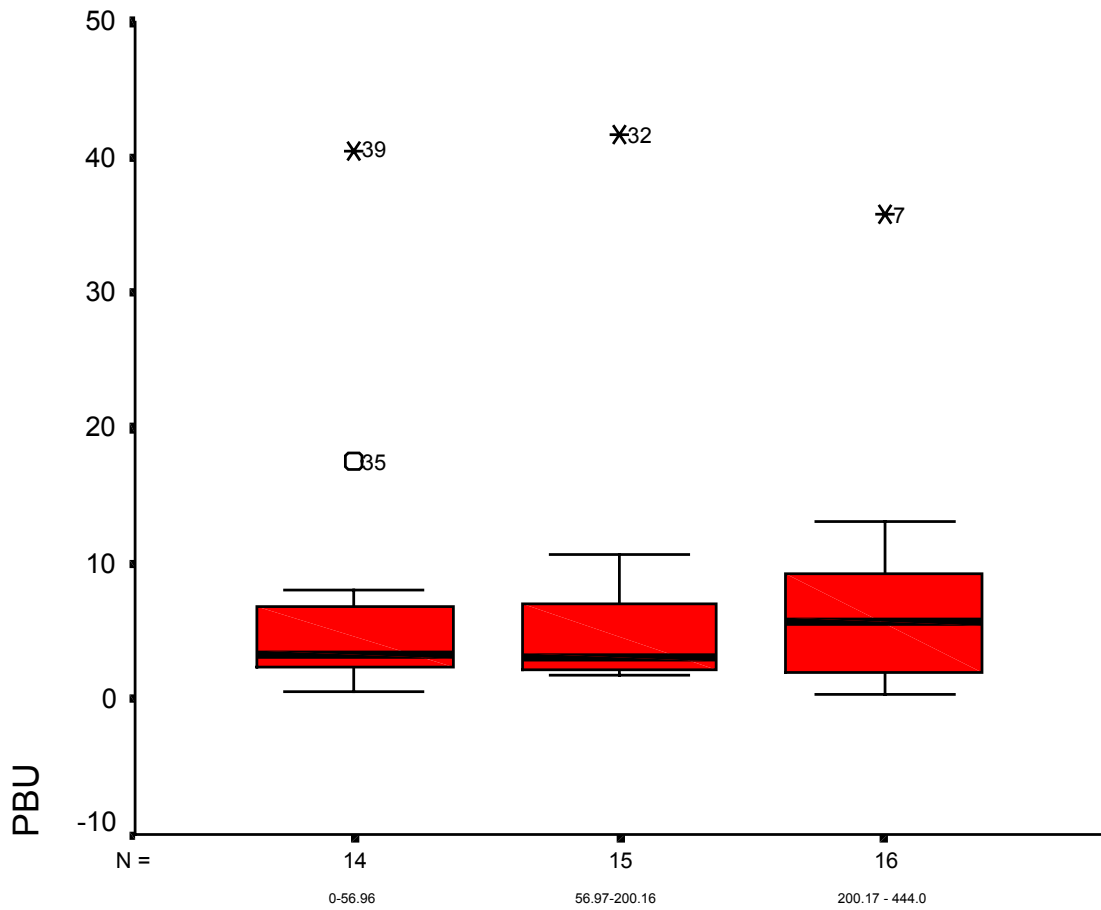


Figura 18 - Distribuição das concentrações de Pb-U por faixas de tempo

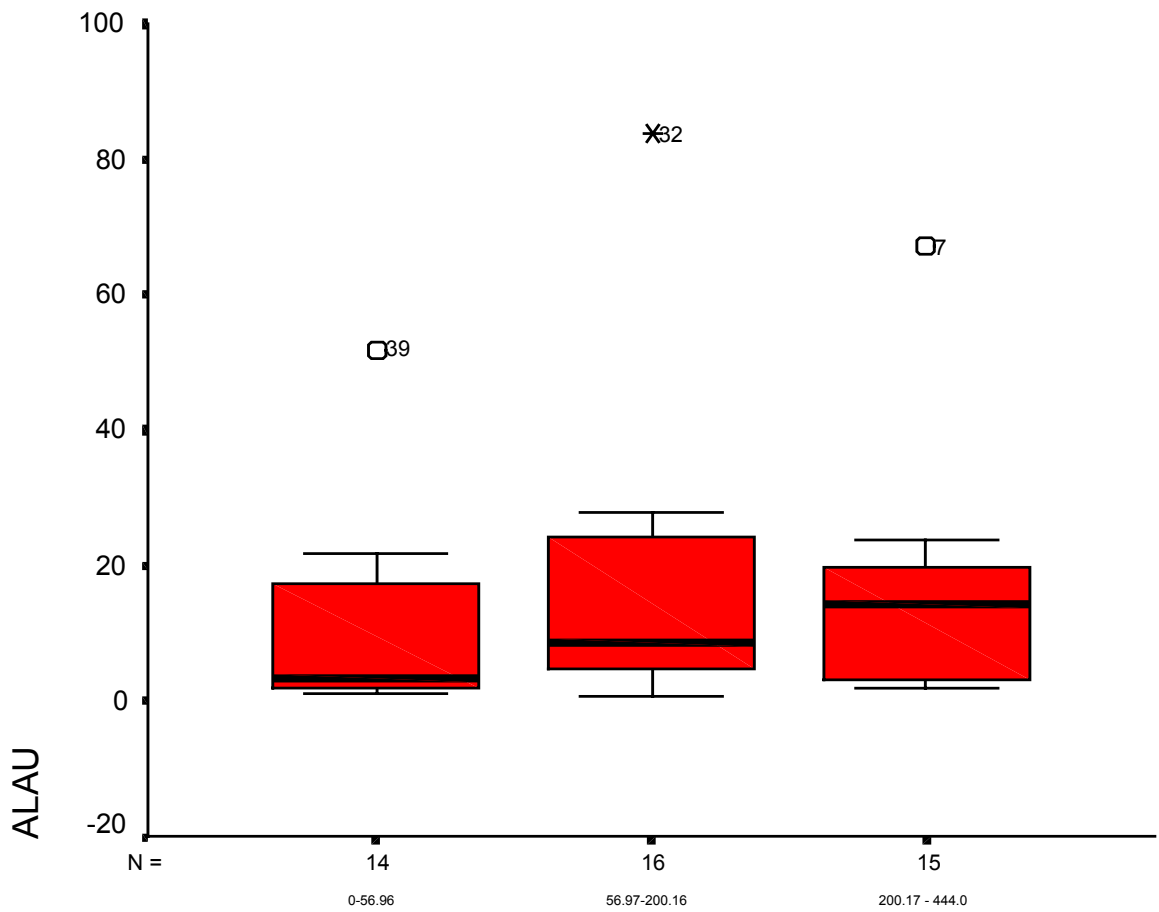


Figura 19 - Distribuição das concentrações de ALA-U por faixas de tempo

4.5 – Estudos de Validação do Pb-U e ALA-U:

Neste estudo a média de Pb-S dos trabalhadores estudados foi bem menor do que os avaliados em outros estudos (Letourneou, 1976, Tomokuni, et al, 1988), que utilizaram pontos de corte para níveis maiores do que 40 µg/dL, portanto avaliou-se a sensibilidade e especificidade do teste à níveis menores.

Os resultados foram avaliados levando-se em consideração o total de trabalhadores de 47 testes para análises de Pb-S, 46 para Pb-U e 46 para ALA-U, e isto inclui 2 fábricas de baterias, 1 reformadora de bateria e 1 fundição.

Como descrito na metodologia deste projeto, o cálculo para determinação teve como a adaptação de Hennekens (1987), através de uma tabela de contingência no formato 2X2 (representado no quadro abaixo), verificando a associação ou dependência entre os dois testes.

Fórmula - → Sensibilidade = $a/a+c$	Sendo: $\frac{A}{C} \frac{B}{D}$
Especificidade = $d/b+d$	

O valor de sensibilidade e especificidade encontrados em todos os níveis de concentração para Pb-U, obteve resultados de sensibilidade de 70% e 30% de falsos negativos e com especificidade de 88% e 12% de falsos positivos (Tabela 12).

Tabela 12 – Sensibilidade e especificidade de Pb-U todos os trabalhadores

Pb-S (27,6 µg/dL)/ Pb-U (2,7µg/dL)	< 27,6	> 27,6
< 2,7	26%	11%
> 2,7	11%	52%

Sensibilidade = 70% e Especificidade= 88%

Tomokuni et al, 1988, avaliou a sensibilidade e especificidade de ALA-U como forma de predizer diferentes níveis de Pb-S. Os autores encontraram uma

sensibilidade de 72% e especificidade de 94%. Desde Letourneau, 1976 obteve por meio da primeira padronização de ALA-U pelo método colorimétrico, uma sensibilidade de 75% (25% de falsos negativos) e uma especificidade de 52% (48% de falsos positivos). Nesta relação de ALA-U e Pb-S obteve-se uma sensibilidade de 70% (30% de falsos negativos) e especificidade de 76% (24% de falsos positivos) (Tabela 13).

Tabela 13 – Sensibilidade e especificidade de ALA-U no total de trabalhadores

Pb-S (27,6 µg/dL)/ ALA-U (5 mg/g cn)	< 27,6	> 27,6
< 5	26%	15%
> 5	11%	48%

Sensibilidade = 70% e Especificidade = 76%

4.6 – Estudos de Validação Pb-U e ALA-U por setores de trabalho:

Como foi verificado neste estudo, em todas as fábricas, reformadoras e fundições, o setor mais exposto ocupacionalmente ao chumbo foi o de produção. Diante deste fato, houve a necessidade de relacionar testes de sensibilidade e especificidade, separando a categoria da produção das outras.

Selecionando apenas o setor de produção de todas as fábricas avaliadas, 21 trabalhadores foram organizados para os testes de sensibilidade e especificidade correlacionando os testes de screening de Pb-U e ALA-U com diferentes níveis encontrados de Pb-S.

Analisando separadamente o indicador biológico Pb-U foi encontrado uma alta sensibilidade de 93% (7% de falsos-negativos), e especificidade de 80% com 20% de falsos positivos (Tabela 14).

Tabela 14 – Sensibilidade e especificidade de Pb-U em trabalhadores do setor de produção.

Pb-S (27,6 µg/dL)/ Pb-U (2,7µg/dL)	< 27,6	> 27,6
< 2,7	15%	5%
> 2,7	5%	75%

Sensibilidade = 93%* e Especificidade = 80%

O indicador biológico de efeito ALA-U demonstrou uma sensibilidade de 100%, não apresentando nenhum falso negativo já a especificidade ficou em torno de 82% com 18% de falsos-positivos (Tabela 15).

Tabela 15 – Sensibilidade e especificidade de ALA-U em trabalhadores do setor de produção.

Pb-S (27,6 µg/dL)/ ALA-U (5 mg/g cn)	< 27,6	> 27,6
< 5	19%	14%
> 5	∅	67%

Sensibilidade = 100%* e Especificidade = 82%

CONCLUSÕES

CAPÍTULO 5

Mesmo diante dos avanços observados na área de Saúde do Trabalhador, observa-se, ainda hoje, grandes contingentes da população trabalhadora submetidas a condições precárias, semelhantes aos primeiros estágios da revolução industrial. A intoxicação ocupacional pelo chumbo representa um grave problema na área de saúde pública por caracterizar-se em uma doença de alta incidência. Nesse contexto, ocorre a necessidade de utilizar de forma periódica indicadores biológicos específicos e sensíveis para que se tenha um eficiente controle do ambiente de trabalho, possibilitando assim, avaliar as condições ideais para exercer atividades profissionais sem que coloque em risco a saúde do trabalhador.

A utilização do ALA-U e do Pb-U como teste screening para este tipo de exposição, traz como vantagens para o indivíduo avaliado, uma redução dos exames invasivos periódicos, como Pb-S, reduzindo no caso de exposições leves até 71,4% o número de análises. Além desta vantagem, a matriz biológica urina possui outras como: sendo um teste não invasivo não causa nenhum tipo de desconforto para o trabalhador; possui uma grande facilidade de coleta, armazenamento, transporte e manuseio da amostra. A única desvantagem seria causada pela influência da variabilidade inter-individual da urina, o qual pode ser contornada em parte pela correção das amostras pela creatinina, os resultados sendo expressos em mg/g de creatinina.

Os dados das concentrações encontradas com o uso dos indicadores biológicos Pb-S (N=47), Pb-U (N=46) e ALA-U (N=46), foram avaliados de forma comparativa com dados obtidos de programas de monitoramento biológico (CE, NR-7 (1994)), e o resultado desta avaliação demonstrou que os valores dos indicadores

biológicos encontrados foram 50% acima dos limites permissíveis propostos pelas entidades responsáveis.

O resultado do teste de linearidade entre os indicadores biológicos de dose interna Pb-U e Pb-S aplicados neste estudo, indicaram uma correlação significativa ($P < 0,01$) com regressão de 0,677, sugerindo uma satisfatória correlação de Pb-U em todos os níveis de Pb-S.

Os resultados de correlação apresentados entre os indicadores encontram uma boa correlação entre eles com elevados níveis de significância, sugerindo uma possibilidade de utilização dos indicadores Pb-U e ALA-U com segurança no monitoramento biológico.

Um fato gerado neste estudo bastante interessante, é a correlação entre Pb-U e ALA-U em situações de alta exposição, pois na literatura recente não existem estudos que avaliem estes indicadores nestas condições, sugerindo que estudos mais aprofundados devem ser conduzidos.

Como resultados da avaliação dos indicadores biológicos em diferentes processos de trabalho, ficou caracterizado pelos três indicadores que os trabalhadores do setor de produção foram os mais expostos ao chumbo. Os indicadores Pb-U e ALA-U conseguiram identificar o setor mais poluidor, sugerindo que a partir dos valores encontrados para estes indicadores poderia se efetivar medidas preventivas com a finalidade de minimizar o risco de intoxicação profissional aos indivíduos expostos.

As concentrações dos indicadores biológicos por tempo de exposição foram avaliadas de forma pontual (com realização de uma única coleta). Todos os três indicadores analisados mostraram resultados importantes para estudos de intoxicações crônicas pelo chumbo. Os níveis biológicos mais altos de Pb-S e Pb-U

encontrados nestas avaliações, demonstraram que trabalhadores entre 16 a 37 anos de serviço, possuem em média, uma taxa de concentração corpórea de chumbo maior. O indicador ALA-U apresentou a mesma proporção de concentração na faixa de tempo de serviço de 16 a 37 anos, mas de forma mais discreta. Todos os três indicadores avaliados apresentaram trabalhadores com pontos isolados de concentração mais altos (apenas 1 trabalhador por indicador biológico) na segunda faixa proposta (de 5 a 16 anos), sugerindo que os indicadores Pb-U e ALA-U podem também identificar a temporalidade da exposição.

A validação dos indicadores em termos de especificidade e sensibilidade neste estudo demonstrou os indicadores Pb-U e ALA-U apresentam valores em relação ao Pb-S bastante satisfatórios. Desta forma, por demonstrarem uma boa sensibilidade e especificidade, podem portanto, serem usados com segurança na avaliação da exposição ao chumbo de indivíduos expostos. É necessário que estudos com uma população não exposta ocupacionalmente sejam conduzidos para complementar estes resultados.