UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e
Análises Toxicológicas

Avaliação da exposição de trabalhadores de casas-de-
farinha ao ácido cianídrico proveniente da mandioca,
Manihot esculenta, Crantz, no Agreste Alagoano

Cyro Hauaji Zacarias

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. Elizabeth Nascimento

São Paulo
2011

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Z13a	<p>Zacarias, Cyro Hauaji</p> <p>Avaliação da exposição de trabalhadores de casas-de-farinha ao ácido cianídrico proveniente da mandioca, <i>Manihot esculenta</i>, Crantz, no agreste Alagoano / Cyro Hauaji Zacarias. -- São Paulo, 2011.</p> <p>147p.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.</p> <p>Orientador: Nascimento, Elizabeth de Souza</p> <p>1. Toxicologia ocupacional 2. Intoxicação : Epidemiologia I. T. II. Nascimento, Elizabeth de Souza, orientador.</p> <p>615.902 CDD</p>
------	--

Cyro Hauaji Zacarias

Avaliação da exposição de trabalhadores de casas-de-farinha ao
ácido cianídrico proveniente da mandioca, *Manihot esculenta*,
Crantz, no Agreste Alagoano

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Elizabeth de Souza Nascimento
Orientadora e Presidente

1º. examinador

2º. examinador

3º. examinador

São Paulo, _____ de _____.

DEDICATÓRIA

*Para meus pais, **Rita** e **Amilar**, aos meus irmãos,
Tiana e **Érico**, e à minha querida e amada esposa,
Patricia, os quais são MINHA FAMÍLIA e me dão força para
seguir em frente. AMO MUITO TODOS VOCÊS!!!*

DEDICATÓRIA

Prof^a. Dr^a. Elizabeth de Souza Nascimento

*Meus agradecimentos pelo eterno incentivo,
confiança e, principalmente, amizade.*

AGRADECIMENTOS

Aos donos e trabalhadores das casas-de-farinha pela disposição e dedicação em participar da pesquisa. Obrigado pela paciência e interesse.

Aos professores do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, pelos ensinamentos.

Aos professores Dr. Sérgio Colacioppo, Dr^a. Silvia Berlanga e Dr^a Helenice Spinosa, pelas importantes sugestões e correções no exame de qualificação.

Aos funcionários do Curso de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas, pelo auxílio prestado durante a realização deste trabalho.

À pesquisadora Claudia Esteban pelo interesse e disponibilidade para participar do projeto. Obrigado pela compreensão e amizade.

À equipe da FUNDACENTRO pela contribuição que foi fundamental para a o desenvolvimento da pesquisa. Em especial ao Gilson Lúcio Rodrigues, Carlos Sérgio, Amarildo, João Apolinário e Luiz Antônio, que foram incansáveis no trabalho de campo.

Ao Sr^o Nelson do SEBRAE de Alagoas pela incansável participação e contribuição na pesquisa.

Ao CEREST de Arapiraca pelo apoio e colaboração.

À disciplina de Medicina do Trabalho da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo pela contribuição.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de Mestrado e a FAPESP pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
1.1. Toxicologia Ocupacional e risco químico	18
1.2. A importância da abordagem epidemiológica na avaliação do risco toxicológico	21
1.3. Aspectos toxicológicos do HCN	22
1.3.1. Fontes de exposição	24
1.3.2. Comportamento e destino do HCN no meio ambiente	26
1.3.3. Toxicocinética do HCN	28
1.3.4. Toxicodinâmica do HCN	29
1.3.5. Efeitos adversos à saúde humana	31
1.4. Processamento da mandioca	41
1.5. Risco de liberação de HCN durante o processamento da mandioca	46
1.6. Aspectos regulatórios relacionados ao HCN	49
1.7. Levantamento bibliográfico sobre exposição ocupacional ao HCN	50
1.7.1. Características gerais dos estudos	51
1.7.2. Métodos de avaliação da exposição nos artigos selecionados	55
1.7.3. Avaliação dos efeitos adversos relatados nos artigos selecionados	57
1.7.4. Atividades ocupacionais identificadas como fontes de exposição ao HCN	59
1.7.5. Análise crítica dos artigos selecionados	61
2. OBJETIVOS	64
2.1. Objetivo geral	64
2.2. Objetivos específicos	64
3. METODOLOGIA	65
3.1. Delineamento do estudo	65
3.2. Seleção das casas	65

3.3.	Avaliação preliminar.....	66
3.4.	Casuística.....	67
3.5.	Coleta, armazenamento e transporte de amostras de ar.....	67
3.6.	Coleta, armazenamento e transporte de amostras biológicas.....	70
3.7.	Métodos analíticos.....	72
3.7.1.	Ácido cianídrico na atmosfera.....	72
3.7.2.	Caracterização do risco com base nos níveis ambientais de HCN (Índice de Exposição).....	72
3.7.3.	Tiocianato na Urina.....	73
3.7.4.	Estimativa da concentração de cianeto no ar com base no SCN ⁻ urinário:	74
3.8.	Avaliação clínica.....	75
3.9.	Análise estatística.....	76
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
4.1.	Localização das casas-de-farinha.....	78
4.2.	Caracterização do cenário de exposição e análise qualitativa do risco ocupacional.....	79
4.2.1.	Risco de danos auditivos.....	83
4.3.	Avaliação da exposição ao HCN.....	85
4.3.1.	Avaliação ambiental.....	85
4.3.2.	Avaliação biológica.....	97
4.3.3.	Exposição extra ocupacional.....	104
4.4.	Avaliação laboratorial das amostras de sangue.....	105
4.5.	Avaliação clínica.....	108
4.5.1.	Questionário Ocupacional.....	108
4.5.2.	Exame físico.....	109
4.6.	Medidas de gerenciamento do risco toxicológico.....	110

4.7. Comunicação do risco.....	111
5. CONCLUSÕES.....	112
6. RECOMENDAÇÕES	113
7. REFERÊNCIAS.....	115
ANEXO I (TCLE)	123
ANEXO II (MODELO DE QUESTIONÁRIO E EXAME CLÍNICO).....	128
ANEXO III (DADOS DE VALIDAÇÃO).....	134
ANEXO IX (PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA)	145

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Parâmetros avaliados para caracterização dos cenários de exposição	81
Tabela 2 - Níveis de HCN determinados em amostras de ar de quatro casas-de-farinha na Microrregião de Arapiraca, Alagoas, com as respectivas médias e desvios-padrão de cada ponto.....	85
Tabela 3 - Níveis de HCN determinados em amostras de ar de quatro casas-de-farinha na Microrregião de Arapiraca, Alagoas, com as respectivas médias e desvios-padrão de cada casa.	89
Tabela 4 - Níveis de tiocianato (SCN) em mg/g creatinina determinados em amostras de urina de trabalhadores de quatro casas-de-farinha na Microrregião de Arapiraca, Alagoas.	97
Tabela 5 - - Níveis de tiocianato (SCN), em mg/g creatinina, determinados em amostras de urina de trabalhadores NÃO fumantes de quatro casas-de-farinha na Microrregião de Arapiraca, Alagoas.	99
Tabela 6 - Níveis de tiocianato (SCN), em mg/g creatinina, determinados em amostras de urina de trabalhadores fumantes de quatro casas-de-farinha na Microrregião de Arapiraca, Alagoas.	100
Tabela 7 - Valores médios dos parâmetros bioquímicos sanguíneos determinados em trabalhadores de casas-de-farinha (expostos ao HCN) com seus respectivos desvios-padrão (DP) e valores de referência.	106
Tabela 8 - Informações obtidas por meio da aplicação do questionário ocupacional ..	109

Lista de quadros

Quadro 1 - Propriedades físico-químicas do ácido cianídrico.....	23
Quadro 2 - Concentrações de HCN em ambientes ocupacionais obtidos em diferentes estudos e compilados por ECETOC (2004).	25
Quadro 3 - Estudos de toxicidade crônica e subcrônica em animais expostos ao cianeto	37
Quadro 4 - Limites de exposição ocupacional ao HCN em partes por milhão - ppm....	49
Quadro 5 - Dados da literatura associados à exposição ocupacional a cianetos	53
Quadro 6 - Comparação dos níveis médios de tiocianato sérico* entre grupos expostos e não expostos nos estudos encontrados na literatura	56
Quadro 7 - Comparação dos níveis médios de tiocianato urinário* entre grupos expostos e não expostos nos estudos encontrados na literatura	57

Lista de Figuras

Figura 1 - Degradação enzimática da linamarina (FURTADO et al., 2007).....	16
Figura 2 - Fluxograma do processamento de mandioca.....	41
Figura 3 - – Fluxograma genérico de um processo de produção.....	42
Figura 4 - Decaimento dos níveis de cianeto durante o processamento (CHISTÉ, 2010).	48
Figura 5 - Tubo adsorvente (cal sodada, 600 mg/200 mg).....	68
Figura 6 - Aparato montado para coleta de ar em ponto estático – bomba amostradora conectada ao tubo adsorvente e tripé como suporte.	69
Figura 7 - Coleta na zona respiratória do trabalhador (bomba coletora presa à cintura)	69
Figura 8 - Curva de calibração referente à análise de tiocianato urinário	74
Figura 9 - Avaliação clínica sendo realizada em local improvisado em uma das casas- de-farinha.....	75
Figura 10 - Ausência de sistema de exaustão e proximidade entre os trabalhadores e o forno durante a etapa de torrefação.	80
Figura 11 - Contato direto entre o trabalhador e a água de lavagem durante a etapa de lavagem das raízes	80
Figura 12 - Presença de pós dispersos no ambiente interno de uma das casas avaliadas	82
Figura 13 - Riscos identificados no ambiente interno das casas-de-farinha.....	83
Figura 14 - Níveis de HCN determinados em amostras de ar de quatro casas-de-farinha na Microrregião de Arapiraca, Alagoas.....	91

RESUMO

Avaliação da exposição de trabalhadores de casas-de-farinha ao ácido cianídrico proveniente da mandioca, *Manihot esculenta*, Crantz, no Agreste Alagoano

As mandiocas utilizadas na produção da farinha contêm elevadas concentrações de glicosídeos cianogênicos, compostos que, após degradação, liberam cianeto na forma de ácido cianídrico (HCN) conferindo toxicidade à raiz. O processamento adequado da mandioca, para produção da farinha, resulta na degradação dos glicosídeos cianogênicos e na obtenção de um alimento com baixo teor de cianeto, o que gera a hipótese de liberação de HCN durante o processo. Neste contexto, o presente estudo objetivou avaliar a exposição de trabalhadores de casas-de-farinha ao HCN proveniente da mandioca, assim como identificar possíveis alterações clínicas e laboratoriais associadas a tal exposição. Foram incluídas no estudo 4 casa-de-farinha localizadas no Agreste Alagoano, microrregião de Arapiraca. A determinação de HCN em amostras de ar foi realizada de acordo com o método analítico 6010 recomendado pelo NIOSH. Cada casa foi monitorada em três pontos: dois em zona respiratória e um em ponto estático. Um total de 36 trabalhadores voluntários do sexo masculino distribuídos nas 4 casas-de-farinha foram selecionados para o estudo. Cada participante foi submetido à coleta de urina, sendo uma amostra pré-jornada e outra amostra pós-jornada e a uma coleta de sangue pré-jornada. O teor de tiocianato (SCN^-) urinário foi quantificado espectrofotometricamente, enquanto que as outras avaliações bioquímicas foram realizadas em laboratório clínico. Os resultados indicam que os trabalhadores de casas-de-farinha estão expostos, cronicamente, a níveis atmosféricos de HCN dentro de um intervalo de **$0,464 \pm 0,02$ a $3,328 \pm 3,85 \text{ mg/m}^3$** no ambiente de trabalho. A comparação entre os níveis atmosféricos determinados e os Limites de Exposição Ocupacional estabelecidos pelo NIOSH e ACGIH indica que trabalhadores de casas-de-farinha, podem estar expostos a níveis de HCN capazes de causar efeitos adversos à saúde. Os níveis médios de tiocianato urinário em mg/g de creatinina (**$10,62$ – pré- jornada e $8,76$ – pós jornada**), foram significativamente superiores ao valor de referência para não fumantes e à média obtida no laboratório contratado para análise de SCN^- , referente ao período de 2008 a 2010. Os resultados dos exames laboratoriais indicaram aumento nos níveis séricos de fosfatase alcalina nos trabalhadores de casas-de-farinha expostos ao HCN, com uma prevalência de 93,3%. Os trabalhadores foram submetidos ao exame clínico e não foram detectadas alterações características de exposição ao HCN.

Palavras chave: *Ácido cianídrico, processamento de mandioca, exposição ocupacional.*

ABSTRACT

Exposure of cassava processing workers to hydrogen cyanide from *Manihot esculenta*, Crantz, in Alagoas, Brazil

Cassava used for flour production contains high amounts of cyanogenic glycosides, compounds that, after degradation, release hydrogen cyanide (HCN¹) which provide toxicity to these type of root. A suitable cassava processing results in the degradation of cyanogenic glycosides and in the production of a safety flour for consumption as food, which generates the hypothesis of HCN release during the process. In this context, the present study aimed to evaluate the HCN exposure of workers engaged in cassava processing, as well as, to identify possible clinical and laboratory alterations related to this exposure. It was included in the study 4 cassava processing facilities placed on Alagoas state, Brazil. It was conducted the determination of HCN in air samples according to the method 6010 proposed by NIOSH. Each industry was monitored in three points: two on workers respiratory zone and one static. A total of 36 male volunteers, distributed between the 4 facilities were included in the study. Each participant was submitted to urine sampling, been one before and other after work shift, and to one blood sampling before work shift. Urinary thiocyanate (SCN⁻) was spectrophotometrically determined, whereas the remaining biochemical evaluation was conducted in a commercial clinical laboratory. The results indicated that the cassava processors are chronically exposed to HCN at levels between **0,464±0,02 and 3,328±3,85 mg/m³**, in the work environment. The comparison between the levels determined at the present study with the Occupational Exposure Limits (OEL) established by NIOSH and ACGIH indicated that cassava processors may be exposed to HCN levels capable of causing adverse health effects. The mean levels of urinary thiocyanate (**10,62 – before shift and 8,76 – after shift**), were significantly higher than the reference value for non smokers and also for the history mean obtained from the laboratory employed for SCN⁻ analysis, during 2008-2010. The results of laboratorial evaluation indicated increase in the serum activity of alkaline phosphatase in cassava processors exposed to HCN, with a prevalence of 93,3%. The workers were submitted to clinical evaluation and it was not detected any alteration typical of HCN exposure.

Key words: *Hydrogen cyanide, cassava processing, occupational exposure*

1. INTRODUÇÃO

A mandioca é uma planta dicotiledônea da família *Euphorbiaceae* gênero *Manihot* e espécie *Manihot esculenta* Crantz. É uma cultura de origem brasileira (SCHAAL et al., 1994) cultivada há mais de quinhentos anos, inicialmente pelos índios, na América Latina e, posteriormente, introduzida nos continentes Africano e Asiático, onde constituiu a base da sustentação das populações mais carentes localizadas em áreas marginais destes continentes (EMBRAPA, 2002).

A mandioca é o sexto produto alimentício usado pela humanidade em volume de produção, perdendo apenas para o trigo, arroz, milho, batata e cevada. Em 2008, a produção mundial de mandioca foi de 232,9 milhões de toneladas. O Brasil tem uma participação importante, produzindo cerca de 25 milhões de toneladas/ano, representando cerca de 12,7% da produção mundial, sendo o segundo maior produtor – o primeiro é a Nigéria, com 17,1%. A produção brasileira é de 14,07 t/ha, um pouco acima da média mundial, de 12,46 t/ha (FAO/WHO, 2010).

O plantio da mandioca apresenta vantagens que podem justificar a alta produtividade como baixo custo, crescimento em solos pobres, resistência ao clima seco, além da resistência contra pragas (CARDOSO et al., 2005).

No Brasil, os Estados do Pará (17,9%), Bahia (16,7%), Paraná (14,5%), Rio Grande do Sul (5,6%) e Amazonas (4,3%) respondem por 59% da produção do país. A Região Nordeste se sobressai com uma participação de 34,7% da produção nacional, porém com rendimento médio de apenas 10,6 t/ha, enquanto as demais regiões participam com 25,9% (Norte), 23,0% (Sul), 10,4% (Sudeste) e 6,0% (Centro-Oeste). As Regiões Norte e Nordeste destacam-se como principais consumidoras, sobretudo,

sob a forma de farinha. Quase toda a mandioca do Nordeste é cultivada no Semi-Árido, que corresponde a cerca de 85% desta região (EMBRAPA, 2010).

As raízes de mandioca são constituídas basicamente de carboidratos (350 g/Kg). Os demais componentes somados não ultrapassam 50 g/Kg (OKE, 1968). Em termos de composição, é relevante destacar a presença de glicosídeos cianogênicos em toda a planta, o que confere toxicidade à mesma. As chamadas mandiocas bravas são as que podem provocar intoxicação quando ingeridas cruas ou mal cozidas, enquanto que as mansas (aipim ou macaxeiras) têm um grau mais baixo de toxicidade.

A substância responsável pela toxicidade da mandioca é a linamarina, um β -glicosídeo de acetona cianidrina e etil-metil-cetona-cianidrina, que, ao entrar em contato com o ambiente, é hidrolisada enzimaticamente por β -glicosidases, das quais destaca-se a linamarase, produzindo glicose e α -hidroxinitrilas que se dissociam espontaneamente em pHs superiores a 5,0, ou por ação da hidroxinitrila liase (HNL), formando ácido cianídrico (HCN) e as cetonas correspondentes (PANTAROTO; CEREDA, 2004). A Figura 1 ilustra a degradação enzimática da linamarina.

Figura 1 - Degradação enzimática da linamarina (FURTADO et al., 2007)

A mandioca pode oferecer risco a depender da concentração de cianeto. Nas plantas, o CN^- encontra-se ligado a glicosídeos cianogênicos, sendo necessário à hidrólise destes para a sua liberação (AMORIM et al., 2005). De acordo com a literatura científica, podem causar intoxicação variedades de mandioca contendo níveis acima de 15 mgCN^-/kg de peso fresco de raiz. Os resultados mais frequentes indicam concentrações entre 30 e 150 mgCN^-/kg (CEREDA, 1994, apud PANTAROTO; CEREDA, 2004).

Efeitos adversos à saúde humana decorrentes de exposição crônica a baixas doses de HCN em populações consumidoras de alimentos derivados de mandioca foram evidenciados em países africanos e a exposição foi atribuída ao processamento inadequado das raízes (OLUWOLE et al., 2003).

O principal produto derivado do processamento de mandioca é a farinha, um alimento consumido por todas as classes sociais e que representa a base da alimentação das camadas de baixa renda, principalmente em regiões onde a atividade se sobressai, a exemplo do Nordeste brasileiro. A farinha é obtida por meio de um processo básico no qual as raízes são submetidas às etapas de descascamento, ralação, prensagem (geração de efluente líquido), nova ralação, secagem (emissão de vapores) e peneiração (ITP, 2006).

As variedades de mandioca utilizadas na produção da farinha são, normalmente, classificadas como “bravas”, o que exige um processamento adequado para a máxima redução nos níveis de glicosídeos cianogênicos e a obtenção de um alimento seguro para consumo (ITP, 2006).

O processamento da mandioca elimina a maior parte do conteúdo de glicosídeos das raízes por meio da ralação e prensagem, etapas que resultam na liberação de um resíduo líquido, com alto teor de HCN, conhecido como manipueira. A torrefação é a

etapa responsável pela volatilização do HCN remanescente (CAGNON et al., 2002), o que, a depender da estrutura da casa-de-farinha, pode representar um risco à saúde do trabalhador responsável pelo processamento.

Desta forma, além do risco oriundo da ingestão crônica de derivados de mandioca mal processada, estudos recentes têm apontado para a possibilidade de exposição ocupacional a HCN nas unidades de processamento (OKAFOR et al., 2002; OKAFOR P.N., 2004; WHO, 1994). A análise do mecanismo de liberação do HCN após a degradação de glicosídeos cianogênicos e a associação deste mecanismo com as etapas do processamento da mandioca conferem um embasamento para a hipótese de exposição ocupacional. Este racional é discutido mais adiante no presente texto.

A Organização Mundial de Saúde, em sua publicação intitulada “*Extracts from the Occupational Hazards section of the Anthology on Women, Health and Environment*”, enfatizou que as mulheres que trabalham no processamento de mandioca podem estar expostas ocupacionalmente ao ácido cianídrico e apresentar os efeitos adversos à saúde relacionados a esta exposição (WHO, 1994).

No Brasil, a exposição de trabalhadores de indústrias de processamento de mandioca ao ácido cianídrico representaria um sério problema de saúde pública tendo em vista o potencial nocivo da substância e a grande produção e consumo de mandioca no país. Assim, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos que permitam a quantificação desta exposição em indústrias de processamento de mandioca.

1.1. Toxicologia Ocupacional e risco químico

A Saúde do Trabalhador, na sua missão de identificar e prevenir distúrbios relacionados ao trabalho, muitas vezes tem como suporte as evidências oriundas de

estudos toxicológicos (MORATA, 2002). A produção destas evidências é objetivo principal de uma importante área de aplicação da Toxicologia, que é a Toxicologia Ocupacional.

A Toxicologia Ocupacional aplica os princípios e metodologias da Toxicologia Básica visando à compreensão e gerenciamento dos riscos químicos presentes no ambiente de trabalho (KLASSEN, 2008). É uma disciplina que tem como base a Higiene Ocupacional, Epidemiologia, Medicina do Trabalho e a Toxicologia Regulatória (KLASSEN, 2008).

O objetivo do Toxicologista Ocupacional é prevenir os efeitos adversos à saúde decorrentes de exposições a agentes químicos no ambiente de trabalho. Para tanto é necessário que os riscos sejam avaliados e gerenciados sistematicamente.

No âmbito da toxicologia, risco é definido como a probabilidade de ocorrência de danos, doenças ou morte, em condições específicas de exposição (ZHAO et al. 2010). O processo de avaliação do risco químico é, classicamente, dividido em quatro etapas: identificação do perigo, caracterização do perigo ou avaliação dose-resposta, avaliação da exposição e caracterização do risco (OGA, CAMARGO, BATISTUZZO, 2008).

A identificação do perigo consiste na avaliação teórica, por meio de uma revisão extensa e detalhada da literatura, da capacidade intrínseca do agente químico causar efeitos adversos à saúde. Nesta etapa, são fundamentais as determinações de todas as características do produto em questão incluindo propriedades físico-químicas e toxicológicas, ocorrência e fontes de exposição.

A etapa de caracterização do perigo ou avaliação dose-resposta visa estabelecer doses ou concentrações limites, abaixo das quais não se espera a ocorrência de efeitos adversos na população exposta. Estes valores de referência são determinados a partir de

estudos de toxicidade em animais ou estudos epidemiológicos nos quais tenha sido identificada uma dose segura, mais conhecida como NOAEL – *No Observed Adverse Effect Level* (OGA, CAMARGO, BATISTUZZO, 2008).

Tais limites são determinados com base em avaliações de toxicidade nas quais sejam estabelecidas curvas dose-resposta. O parâmetro usado como ponto de partida, do inglês “*Point of departure*”, para o estabelecimento de um limite de exposição é o NOAEL (NIELSEN & OVREBO, 2008).

Para a extrapolação do dado obtido em um determinado estudo para as condições reais de exposição, são aplicados os fatores de incerteza que variam da ordem de 1 a 1000, dependendo da natureza do efeito tóxico, da adequabilidade dos dados utilizados na obtenção do NOAEL e das variações inter e intra-espécies (NIELSEN & OVREBO, 2008).

Em relação ao efeito carcinogênico genotóxico considera-se a possibilidade de ocorrência deste efeito em qualquer nível de exposição, não havendo, em teoria, um NOAEL. Embora vários métodos tenham sido adotados, não há, até o momento, um modelo que seja rotineiramente usado para a caracterização da dose-resposta, em se tratando de efeito carcinogênico genotóxico.

O valor de referência obtido por meio da avaliação dose-resposta pode ser aplicado em diferentes contextos e, desta forma, variar de acordo com o cenário de exposição (duração, via, organismo receptor, entre outros). No campo da saúde ocupacional, a aplicabilidade da avaliação do risco está, principalmente, no estabelecimento dos Limites de Exposição Ocupacional (LEOs).

Avaliação da exposição deve ser conduzida por meio de monitorização das concentrações do agente químico no ambiente ocupacional, embora já existam modelos matemáticos e *softwares* capazes de estimar a exposição com base nas propriedades

físicas e químicas das substâncias e nas características do cenário de exposição (AOH-BOHS, 2010).

O processo de avaliação é finalizado com o cálculo da razão entre o dado de exposição e valor de referência estabelecido, etapa conhecida como caracterização do risco.

O resultado da avaliação representa um direcionamento para o processo de gerenciamento do risco, que consiste na implantação de medidas para manutenção ou redução da exposição para níveis que atendam aos limites estabelecidos. Logo, a etapa de gerenciamento só pode ser conduzida de forma efetiva após uma avaliação adequada do risco.

1.2. A importância da abordagem epidemiológica na avaliação do risco toxicológico

A linha de evidências mais convincente para determinação do risco à saúde humana é o estudo epidemiológico bem conduzido, no qual uma associação positiva entre exposição e doença tenha sido observada (KLAASSEN, 2008).

O estudo epidemiológico visa avaliar a distribuição das doenças nas populações e os fatores que influenciam ou determinam esta distribuição (GORDIS, 2010). O princípio básico da epidemiologia é o de que as doenças não são distribuídas ao acaso na população, mas cada indivíduo apresenta características que o predispõem ou protegem contra uma variedade de doenças (GORDIS, 2010). Estas características podem ser determinadas geneticamente ou podem ser o resultado de exposições ambientais.

As exposições ambientais podem ser de diversas naturezas, sendo a exposição química, foco principal da toxicologia e da presente investigação.

São diversas as contribuições da abordagem epidemiológica para a toxicologia. Como exemplo, pode-se citar a evidência, produzida por Percival Pott, em 1775, da associação entre exposição química e indução de câncer (KLASSEN, 2008). Pott descreveu a ligação entre a ocorrência aumentada de câncer escrotal e nasal em limpadores de chaminés e a profissão. O cientista concluiu que a fuligem da chaminé era o agente etiológico de câncer nestes trabalhadores (KLASSEN, 2008).

A evidência produzida por Pott abriu as portas para uma série de investigações que fortaleceram, posteriormente, a hipótese de que esta classe de trabalhadores apresentava risco aumentado de desenvolvimento de câncer. Kennaway e Kennaway (1937), por exemplo, observaram que entre 1911 e 1935, numa população 5274 limpadores de chaminé, ocorreram 100 mortes causadas por câncer de escroto, uma incidência muito alta se comparada a outras ocupações e à população em geral (KLASSEN, 2008).

Em outro exemplo, Doll e Hill (1950), por meio de um estudo caso-controle, conseguiram produzir cientificamente uma das evidências mais consistentes da associação entre tabagismo e câncer de pulmão, uma das grandes contribuições da epidemiologia para as ciências toxicológicas e para a Saúde Pública.

1.3. Aspectos toxicológicos do HCN

Cianetos compreendem uma ampla variedade de compostos de diversos graus de complexidade dos quais todos contêm uma molécula composta de um átomo de carbono

ligado a um átomo de nitrogênio ($-C\equiv N$) (ATSDR, 2006). Apesar de tantas formas químicas de cianeto, o íon CN^- é o agente tóxico primário.

O ácido cianídrico (HCN) é um líquido volátil incolor e com odor característico de amêndoas amargas e é a principal forma na qual o cianeto está presente na atmosfera. Sendo assim, o HCN representa um grande interesse para a toxicologia ocupacional oferecendo risco de exposição aos trabalhadores através da inalação.

A importância de se conhecer as propriedades físico-químicas de uma substância está no fato de que estas características influenciam diretamente nos perigos a saúde humana e ao meio ambiente. Propriedades como pH, constante de dissociação, solubilidade em água e coeficiente de partição octanol-água, por exemplo, influenciam diretamente no destino de um agente químico no organismo após exposição (PATNAIK, 2002).

O Quadro 1 apresenta as propriedades físico-químicas do HCN.

Quadro 1 - Propriedades físico-químicas do ácido cianídrico

Fórmula molecular	C-H-N
Peso molecular	27,03
Aspecto	Líquido ou gás incolor
Odor	Adocicado como amêndoa. Odor característico de amêndoas amargas.
Sabor	Amargo
Ponto de ebulição	25,6°C
Ponto de fusão	-13,4°C

Ponto de fulgor	-18°C
Temperatura de autoignição	538°C
Temperatura e pressão críticas	183,5°C e 5,4 Mpa
Densidade/Gravidade específica	0,687 (Água = 1)
Constante de dissociação	pKa = 9,2
pH	Levemente ácido
Solubilidades	Hidrossolúvel
Densidade de vapor	0,94 (Ar = 1)
Pressão de vapor	742 mmHg (25°C)

Fonte: HSDB (2010).

O baixo ponto de ebulição e a alta pressão de vapor do HCN são responsáveis pelo alto risco decorrente da exposição inalatória ao composto. Por outro lado, a baixa densidade de vapor faz com que o HCN se disperse rapidamente na atmosfera, de modo que, não havendo exposição imediatamente após uma emissão, os riscos tendem a se tornar insignificantes.

1.3.1. Fontes de exposição

As fontes de exposição ao HCN podem ser divididas em antropogênicas e naturais. Há teorias de que o cianeto desempenhe um papel importante na origem da fauna e da flora na Terra por meio da formação dos aminoácidos. Muitas bactérias, fungos e algas podem produzir cianeto e, além disso, a substância pode estar naturalmente presente em muitas plantas e alimentos (HSDB, 2010). Segundo ECETOC (2004) a maior fonte de HCN atmosférico são as queimadas naturais.

A concentração de HCN no ar não poluído (*background*) é inferior a 0,2 ppm ou 0,224 mg/m³ (ATSDR, 2006), enquanto que em ambientes ocupacionais com alto potencial de liberação de HCN, níveis de até 13,9 mg/m³ foram registrados em estudos de monitoramento (Quadro 2).

Quadro 2 - Concentrações de HCN em ambientes ocupacionais obtidos em diferentes estudos e compilados por ECETOC (2004).

Referência*	Indústria (setor industrial)	Faixa de concentração (mg/m ³)
NIOSH, 1982	Galvanização	0,001 - 0,004
NIOSH, 1976	Tanque de decapagem de uma instalação de placas de uma empresa de elétricos e eletrônicos, na Virgínia	4,3
NIOSH, 1982	Galvanização – Ohio	1,7
Knapic et al (1981)	Galvanização – USSR	1,8
El Ghawabi et al (1975)	Galvanização – Índia	4,7 - 13,9
Chandra et al, 1980	Galvanização – Índia	0,2 - 0,8 (ponto estático) 0,1 - 0,2 (zona respiratória)
Leeser et al (1990)	Produção de sais de cianeto (indústria química)	1,1 - 3,4 (ponto estático) 0,01 - 3,6 (zona respiratória)

*apud ECETOC (2004)

Na água de consumo, nos Estados Unidos e Canadá, a concentração de cianeto varia de 0,001 a 0,011 ppm (ATSDR, 2006).

O consumo de tabaco é uma das maiores fontes de exposição ao HCN para indivíduos que não atuam em indústrias nas quais esta exposição é esperada (ATSDR, 2006). Assim, indivíduos fumantes, e expostos ocupacionalmente, tendem a receber uma concentração de cianeto muito mais elevada.

A presença natural de HCN em muitas espécies vegetais, como na mandioca brava, por exemplo, pode representar um risco a saúde humana, uma vez que, em muitas regiões, estas plantas são utilizadas para fins alimentícios.

Boa parte do cianeto presente no ambiente é oriunda de processos industriais sendo, os processos de mineração, indústrias químicas e metalúrgicas e instalações de tratamento de resíduos líquidos, as principais fontes (ATSDR, 2006). Sais de cianeto e HCN são utilizados na galvanização, metalurgia, síntese orgânica, desenvolvimento de fotografias, manufatura de plástico e na mineração (ATSDR, 2006).

O HCN é produto da pirólise de plásticos contendo nitrogênio tais como poliuretano e acrilonitrila e de alguns materiais orgânicos como algodão, lã e seda, de modo que processos de combustão, principalmente grandes incêndios, são fontes de emissão importantes de HCN.

1.3.2. Comportamento e destino do HCN no meio ambiente

O conhecimento acerca do comportamento ambiental de um agente químico é fundamental no processo da avaliação do risco, pois representa uma ferramenta para identificação das possíveis vias de contato entre o agente e os organismos receptores (AZEVEDO & CHASIN, 2004).

No solo, os principais destinos do HCN tendem a ser a volatilização, devido à alta pressão de vapor, a biodegradação imediata e a complexação com metais (HSDB, 2010). Os dois primeiros processos contribuem para a rápida eliminação do HCN, de modo que o composto dificilmente persistirá neste compartimento (HSDB, 2010). A

complexação com metais reduz a eliminação do HCN e, no entanto, o composto formado tende a ser menos tóxico (MERG, 2001).

Apesar da baixa persistência, o HCN apresenta alta solubilidade em água e, conseqüentemente, alta mobilidade no solo, o que justifica a sua capacidade de alcançar águas subterrâneas em casos de grandes vazamentos ou despejo de resíduos líquidos em grandes quantidades (HSDB, 2010). Nas águas subterrâneas, espera-se uma alta persistência do HCN, uma vez que os processos de volatilização e biodegradação tornam-se, praticamente, insignificantes (ATSDR, 2006).

A capacidade do HCN em alcançar águas subterrâneas está relacionada, principalmente, com a quantidade eliminada no solo, embora diversos fatores ambientais como pH e composição do solo interfiram no processo. Em solos onde os níveis de HCN estão muito elevados, a toxicidade aos microrganismos e a percolação que antecede a eliminação completa, fazem com que a substância alcance águas subterrâneas. Este fenômeno, a depender da localidade, pode representar sério risco à saúde pública (ATSDR, 2006).

De acordo com o *International Cyanide Management Code For The Manufacture, Transport and Use of Cyanide In The Production of Gold* - ICMI (2010), o processo de biodegradação aeróbica do cianeto é eficaz em concentrações de até 200 ppm, enquanto, em condições anaeróbicas, concentrações de cianeto acima de 2 ppm são suficientes para diminuir a taxa de biodegradação. Esta redução na capacidade de biodegradação está associada à toxicidade do composto para os microrganismos. A capacidade reduzida de microrganismos anaeróbicos degradarem o cianeto é um fator determinante na persistência aumentada do composto em águas subterrâneas.

No ambiente aquático, o HCN apresenta alta solubilidade e, conseqüentemente, a adsorção aos sólidos suspensos e sedimentação não são considerados destinos relevantes. Espera-se que, a exemplo do que ocorre no solo, a volatilização e/ou biodegradação do composto dissolvido na água sejam os processos dominantes (HSDB, 2010), embora possam também ocorrer a complexação com metais e a degradação abiótica.

Com uma pressão de vapor de 742 mm Hg a 25°C, o HCN está presente na atmosfera apenas na forma de gás e é degradado através da reação com radicais hidroxilas fotoquimicamente formados. Este composto apresenta resistência a fotólise direta, e a meia-vida na atmosfera é estimada em 530 dias. Esta taxa de degradação relativamente baixa associada a uma densidade de vapor de 0,94 ($\text{ar}=1$) sugere que o composto pode ser transportado por longas distâncias antes de ser removido por processos físicos e químicos (HSDB, 2010).

1.3.3. Toxicocinética do HCN

O HCN pode ser absorvido após inalação, exposição oral ou dérmica. A absorção pulmonar é a mais eficiente, sendo os efeitos quase que imediatos e mais intensos se comparados com a via gastrointestinal (ATSDR, 2006; IPCS INCHEM HOME, 2004). O HCN, após absorvido, alcança rápida e uniformemente diversos tecidos e esta distribuição se dá, principalmente, através dos eritrócitos com uma proporção consideravelmente menor sendo transportada dissolvida no plasma. O pH levemente ácido do HCN e um valor de pK_a de 9,11, fazem com que, em pH fisiológico de 7, o composto seja distribuído na sua forma ácida, e não como íon CN^- .

A biotransformação se dá principalmente no fígado onde o HCN é convertido em tiocianato (SCN) através de uma reação catalisada pela enzima tiosulfato sulfotransferase – “rodanase”. A reação consiste na transferência de um átomo de enxofre dos tiosulfatos para o íon CN^- sendo a fonte primária de enxofre os aminoácidos metionina e cisteína (HAQUE e BRADBURY, 1999; AZEVEDO e CHASIN, 2004).

A maior estabilidade do tiocianato, comparado ao cianeto, o torna mais adequado para fins de avaliação biológica, no entanto, é preciso que se leve em consideração os fatores interferentes oriundos de exposições extra-ocupacionais como tabagismo e alimentação (SANTOS et al., 1990).

1.3.4. Toxicodinâmica do HCN

O HCN é uma substância tóxica, pois ao entrar na célula tem a capacidade de interromper a cadeia respiratória através do bloqueio da enzima citocromo oxidase, causando anóxia celular (HODGSON, 2004). Nesta reação ocorre um bloqueio na produção de energia com redução nos níveis intracelulares de trifosfato de adenosina - ATP, acidose intracelular, devido à produção de ácido láctico em meio à anaerobiose e, finalmente, morte celular (FORTIN, et al, 2010).

O sistema nervoso é um dos primeiros alvos da toxicidade do HCN devido a sua grande necessidade de energia aeróbica e baixa capacidade anaeróbica (KAMENDULIS et al, 2002). De acordo com Okolie e Osagie (1999), as células nervosas que constituem

o centro respiratório são altamente susceptíveis à hipóxia o que explica a ocorrência de falência respiratória em casos de intoxicação aguda.

De acordo com Fortin et al. (2010), o bloqueio energético da citocromo oxidase causado pelo HCN, pode produzir um efeito precoce sobre a homeostase do cálcio, particularmente na célula cardíaca, com um aumento dose-dependente nas concentrações intracelulares deste íon após exposição. Há correlação positiva entre os níveis intracelulares de cálcio e a intensidade das manifestações cardíacas.

Segundo Manzano et al. (2006), o produto da biotransformação do HCN, tiocianato, apresenta propriedade inibitória sobre a captação de iodo na glândula tireóide, o que resulta na diminuição da produção dos hormônios tireoideanos. Este mecanismo é mais relevante em casos de exposição crônica a doses mais baixas, uma vez que, as exposições mais elevadas afetam diretamente o sistema nervoso causando danos imediatos.

A glândula tireóide desempenha função endócrina, produzindo e liberando, para a corrente sanguínea, dois hormônios fundamentais para o metabolismo humano: triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4). Os íons iodetos (I^-) representam a matéria prima essencial para formação dos hormônios da tireóide e são capturados ativamente pelas células foliculares a partir do plasma, contra um gradiente de concentração (KLASSEN, 2008).

Os íons tiocianato (SCN^-) e iodeto (I^-) apresentam cargas similares e volumes iônicos comparáveis de modo a competir entre si pelo co-transportador sódio-iodeto (NIS), uma proteína de membrana intrínseca responsável pelo transporte de iodetos para o interior das células da tireóide. Desta forma, o tiocianato representa um potente

inibidor da captação de iodetos pela glândula tireóide, além de competir por enzimas responsáveis pelo processo metabólico que resulta na formação dos hormônios da tireóide (KLASSEN, 2008).

Os níveis reduzidos de iodo na tireóide resultam na diminuição da síntese, secreção e dos níveis sanguíneos dos hormônios T_3 e T_4 (ECETOC, 2004). Os níveis reduzidos de T_3 e T_4 exercem efeito estimulante sobre o hipotálamo que aumenta a secreção do hormônio liberador de tireotrofina (TRH). O TRH, por sua vez, age sobre a glândula pituitária estimulando a secreção do hormônio tireoestimulante (TSH). O resultado dos altos níveis de TSH pode ser o aumento das células produtoras de hormônios na tireóide e desenvolvimento de hipertireoidismo (ECETOC, 2004).

1.3.5. Efeitos adversos à saúde humana

A inalação de concentrações suficientes de HCN pode rapidamente causar a morte, o que levou ao uso desta substância em câmeras de gás para execução (ATSDR, 2006). Uma concentração fatal média para humanos foi estimada em 546 ppm de ácido cianídrico após 10 minutos de exposição, embora muitos casos de morte tenham sido relatados em concentrações mais baixas (ATSDR, 2006).

A exposição aguda, em humanos, a níveis elevados de HCN causa um breve estágio de estimulação do sistema nervoso central (SNC) seguida de depressão, convulsões, coma e em alguns casos morte por falência respiratória. Em casos de exposição aguda a doses não-letais são comuns sintomas menos severos como tontura, respiração ofegante, entorpecimento e cefaleias (ATSDR, 2006).

A exposição crônica a baixas doses está relacionada com distúrbios neurológicos e disfunção da glândula tireóide, efeitos que já foram citados em estudos epidemiológicos em trabalhadores expostos cronicamente ao HCN (IPCS, 2006).

1.3.5.1. Efeitos observados em animais de experimentação

Em ratos, uma concentração letal 50% (CL₅₀) inalatória de 143 ppm após 1h de exposição ao HCN foi relatado por Ballantyne (1983). O GHS – *Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals*, que é um sistema de classificação de perigo de produtos químicos mundialmente aceito, possibilita a conversão do valor de toxicidade obtido em 1h de exposição para 4h de exposição através da divisão do valor de 1h por um fator de 2, no caso de gases e vapores. O HCN, em particular, apresentaria uma CL₅₀ de 71,5 ppm, valor que inclui a substância na Categoria 1 – “Fatal se inalado” para a classe de perigo de “Toxicidade Aguda”.

Animais intoxicados de forma letal ou sub-letal por cianeto apresentaram danos ao nervo óptico e à retina, danos cardíacos, pulmonares e gastrointestinais, hemorragia pulmonar e congestão hepática e renal (OSHA, 2010). Esta capacidade do HCN em afetar múltiplos órgãos é justificada pelo seu alto volume de distribuição.

Okolie e Osagie (1999) avaliaram, em coelhos brancos *New Zeland*, os efeitos da exposição crônica ao cianeto sobre a estrutura hepática e renal e sobre algumas atividades enzimáticas e metabólicas. Dois grupos de coelhos foram alimentados durante 40 semanas com ração contendo 702 ppm de cianeto inorgânico. Os resultados obtidos no estudo indicaram que coelhos alimentados com cianeto apresentaram atividade reduzida no fígado das enzimas fosfatase alcalina, alanina aminotransferase e

sorbitol desidrogenase, em relação ao grupo controle. Por outro lado, no soro, houve aumento significativo nas atividades destas enzimas nos animais tratados. A atividade renal da fosfatase alcalina também se mostrou significativamente diminuída nos animais tratados. Outras alterações laboratoriais incluíram níveis séricos aumentados de ureia e creatinina e atividade sérica e tecidual de lactato desidrogenase aumentadas. Foram observadas alterações degenerativas marcantes nos cortes histológicos de fígado e rins de coelhos tratados com cianeto, incluindo congestão e necrose no fígado e necrose tubular e glomerular nos rins (OKOLIE e OSAGIE, 1999). Estes resultados apontam o fígado e os rins como potenciais órgãos-alvo do cianeto em caso de exposição crônica. No entanto, sabe-se que o sistema nervoso e a glândula tireóide também apresentam alta susceptibilidade a esta exposição.

Em outra publicação, Okolie e Osagie (2000) relataram os efeitos adversos do KCN sobre o coração, pulmões e pâncreas de coelhos. Após o período de exposição oral, foram determinadas as atividades séricas das enzimas aspartato aminotransferase, amilase e fosfatase alcalina; foi determinada a glicemia de jejum e conduzida uma avaliação histológica. Os resultados evidenciaram toxicidade pulmonar com base na diminuição significativa da atividade de fosfatase alcalina nos pulmões e correspondente aumento significativo na atividade sérica desta enzima. O exame histológico do tecido pulmonar evidenciou edema e necrose pulmonar em animais tratados com cianeto.

Os efeitos adversos do tiocianato à glândula tireóide foram relatados em camundongos expostos durante o período de desmame através da água de bebida (GHORBEL et al. 2008). Animais prenhes (n=18) foram divididos em três grupos de seis indivíduos, o que possibilitou a avaliação de 48 filhotes por grupo. Foram submetidos à avaliação dos efeitos: um grupo controle, um grupo tratado com tiocianato

do 15º dia de gravidez ao 25º dia pós-parto e um terceiro grupo tratado do 15º dia de gravidez até o 15º dia pós-parto. Os animais do terceiro grupo foram submetidos à eutanásia após 10 dias isentos de exposição. O autor não menciona se durante o período de lactação os filhotes tinham acesso à água da mãe, a qual foi utilizada como veículo de exposição ao cianeto. De acordo com os resultados, os animais do segundo e terceiro grupo apresentaram hipertrofia da tireóide, aumento nos níveis de TSH, diminuição nos níveis dos hormônios T_3 e T_4 e alterações morfológicas na glândula tireóide. Os resultados obtidos no terceiro grupo indicaram que a retirada do tiocianato possibilitou a recuperação total ou parcial dos animais, sendo que o aumento nos níveis de TSH observado no segundo grupo foi reduzido no terceiro grupo ao ponto de se tornar significativamente inferior ao próprio grupo controle. O autor atribui esta redução à hipertrofia reversível da glândula pituitária associada à incapacidade de transdiferenciação celular (GHORBEL et al. 2008).

Ghorbel et al. (2008) ainda associaram os efeitos citados acima a alterações comportamentais como redução no consumo de água e alimentos, e a efeitos adversos ao desenvolvimento como diminuição no ganho de peso e no crescimento. Estes efeitos seriam secundários às alterações tireoidianas. O estudo evidenciou a capacidade do tiocianato em atravessar a barreira placentária, atingindo o feto em caso de exposição durante a gestação, assim como a possibilidade de exposição durante o período de lactação, através do leite materno.

O significado das conclusões obtidas por Ghorbel et al. (2008), para o presente estudo, é limitado pelo fato de que os animais foram expostos diretamente ao SCN^- o que, certamente, resulta em uma biodisponibilidade superior àquela que ocorre após a biotransformação do HCN.

Fechter et al. (2002) avaliaram a capacidade do ácido cianídrico de potencializar a perda auditiva causada pelo ruído. Ratos foram divididos em diferentes grupos de exposição: grupos expostos apenas ao HCN (10, 30 e 50 ppm) por 3,5h, grupos expostos às mesmas concentrações de HCN + ruído (100dB), ainda um grupo foi exposto apenas ao ruído e outro apenas colocado na câmara de inalação com ar isento de impurezas. Quatro semanas após a exposição foi conduzida uma avaliação fisiológica da função auditiva dos animais e alguns foram submetidos a uma avaliação histopatológica da cóclea, porção do ouvido interno que contém os terminais nervosos responsáveis pela audição. O parâmetro utilizado para a avaliação fisiológica da audição foi o limiar de Potencial de Ação Composto (CAP) que determina o nível de ruído necessário para gerar um potencial de ação detectável em um osciloscópio, instrumento de medida eletrônica. Os resultados indicaram que a exposição ao HCN em associação ao ruído durante 3,5h aumenta, de forma dose-dependente, a perda auditiva permanente. Foi observado que o HCN, *per se*, apresenta efeitos mínimos sobre a capacidade auditiva, no entanto, potencializa significativamente o efeito induzido pelo ruído. Os dados histopatológicos sugerem que a exposição ao HCN + ruído aumenta ligeiramente a extensão dos danos celulares sobre a cóclea com maior perda das células capilares externas (FECHTER et al., 2002).

O Quadro 3 apresenta os estudos experimentais de toxicidade crônica ao cianeto em diferentes formas, doses, vias de exposição e diferentes espécies animais. De modo geral, observa-se que o cianeto, cronicamente, tem a capacidade de afetar diferentes órgãos. No entanto, os estudos experimentais indicam que alguns órgãos como a tireóide e o sistema nervoso apresentam maior susceptibilidade. Órgãos como o fígado e os rins, embora não aparentem ser alvos principais do cianeto, apresentam comumente

susceptibilidade maior à ação de xenobióticos e foi evidenciado que também podem ser afetados pelo cianeto (OKOLIE N.P.; OSAGIE, A.U., 1999). Alguns estudos apresentaram resultados mais diferenciados em relação à literatura, a exemplo do estudo publicado por Okolie e Osagie (2000), que identificaram danos pulmonares em animais expostos por via oral, e o publicado por *National Toxicology Program* - NTP (1993) que identificou danos aos órgãos reprodutores em ratos e camundongos.

Não foram encontrados na literatura estudos de toxicidade crônica do HCN em exposição por via inalatória.

Quadro 3 - Estudos de toxicidade crônica e subcrônica em animais expostos ao cianeto

Composto	LOAEL/NOAEL	Exposição	Espécie	Efeitos observados	Referência
KCN	LOAEL: 4,3 mg/Kg/dia	Oral – 70 dias	Suínos	Aumento do peso da tireóide. Danos hepáticos, renais e neurológicos.	Manzano et al. (2007)
KCN	Não determinado.	Oral – 12 semanas	Ratos	Danos neurológicos.	Soto-Blanco et al. (2002a)
KCN	LOAEL: 20 mgCN/Kg/dia	Oral – 40 semanas	Coelhos	Aumento no níveis séricos de fosfatase alcalina, lactato desidrogenase e sorbitol desidrogenase. Necrose hepática e renal	Okolie and Osagie, (1999).
KCN	LOAEL: 20 mgCN/Kg/dia	Oral – 40 semanas	Coelhos	Aumento no níveis séricos de fosfatase alcalina. Danos pulmonares.	Okolie and Osagie (2000)
SCN	LOAEL: 2.03 mgSCN/dia	Oral	Camundongos	Hipertrofia da tireóide, aumento nos níveis de TSH, diminuição nos níveis dos hormônios T ₃ e T ₄ e alterações morfológicas na glândula tireóide	Ghorbel et al. (2008)
NaCN	LOAEL: 1,4 mg/Kg/dia	Oral - 13 semanas	Ratos	Aumento no peso do fígado. Danos aos órgãos reprodutores em machos.	NTP (1993)
NaCN	LOAEL: 8,6	Oral – 13	Camundongos	Aumento no peso do fígado. Danos aos órgãos reprodutores	NTP (1993)

	mg/Kg/dia	semanas		de machos.	
NaCN	LOAEL: 1,04 mgCN/Kg/dia	Oral – 14 semanas	Cães	Diminuição dos níveis séricos de T ₃ , alterações histopatológicas e aumento de peso da tireóide.	Kamalu and Agharanya (1991)
KCN	NOAEL: 0,7 mg/Kg/dia	Oral – 24 semanas	Suínos	Alterações comportamentais e diminuição dos níveis de T ₃ e T ₄ .	Jackson (1988)
NaCN	LOAEL: 1,04 mgCN/Kg/dia	Oral – 14 semanas	Cães	Toxicidade aos órgãos reprodutores de machos. Alterações histopatológicas nos rins, testículos e glândulas adrenais.	Kamalu (1993)
KCN e KSCN	LOAEL: 44 mg/Kg/dia	Oral – 11,5 meses	Ratos	Aumento do peso da tireóide, diminuição de T ₄ e alterações histopatológicas na medula espinhal.	Philbrick et al. (1979)
KCN	LOAEL: 0,3 mg/Kg/dia	Oral – 15 dias	Ratos	Danos hepáticos, renais e tireoideanos.	Souza et al. (2002)
HCN	LOAEL: 10 ppm	Inalação – 3,5h	Ratos	Danos a audição.	Fechter et al. (2002)

Modificado de USEPA (2010)

1.3.5.2. Efeitos observados em estudos epidemiológicos

Uma alta prevalência de polineuropatia periférica em determinadas regiões africanas tem sido atribuída ao consumo de alimentos contendo cianeto, e esta hipótese é baseada principalmente nos estudos que mostraram alto consumo de alimentos derivados de mandioca e altos níveis de tiocianato no plasma e urina de indivíduos residentes destas áreas endêmicas (IPCS, 2006). No entanto, Oluwole et al. (2003), na Nigéria, testando esta hipótese em um estudo de caso-controle aninhado, não encontraram diferença significativa entre casos de polineuropatia periférica e os controles, no que se refere ao consumo de alimentos derivados de mandioca ou exposição a cianeto.

O tiocianato, principal metabólito do cianeto, apresenta baixa toxicidade aguda. No entanto, estudos epidemiológicos envolvendo trabalhadores indicaram a ocorrência de efeitos adversos à tireóide após exposição crônica ao cianeto e tais efeitos foram atribuídos ao tiocianato (CHANDRA *et al.* 1980; EL GHAWABI *et al.* 1975; BLANC *et al.*, 1985; BANERJEE *et al.*, 1997). De acordo com Soto-Blanco *et al.* (2001), a relação entre consumo de mandioca e efeitos bociogênicos está bem definida tanto em animais como em humanos e é amplamente reconhecido que este efeito é produzido pelo tiocianato.

Brauer *et al.* (2006) investigaram o papel do tiocianato na etiologia do bócio em uma área industrial metropolitana da Alemanha. Foi conduzido um estudo transversal no qual 708 indivíduos foram investigados quanto aos níveis de I^- e SCN^- na urina e quanto à prevalência de bócio e nódulos na tireóide. Os resultados indicaram que indivíduos com bócio (n=79, 11%) apresentaram níveis de SCN^- significativamente

aumentados e uma razão I/SCN⁻ significativamente reduzida, em relação aos indivíduos saudáveis.

Apesar do amplo conhecimento científico a respeito dos perigos do HCN, há uma carência de dados epidemiológicos consistentes associando exposição não letal e possíveis efeitos adversos. Embora a presença de HCN em vários ambientes ocupacionais seja bem conhecida, não foi encontrado, na literatura, nenhum estudo de coorte ou de caso-controle, que fornecesse uma estimativa do risco à saúde humana, associado à exposição ocupacional crônica ao HCN. Os estudos publicados (CHANDRA *et al.* 1980; EL GHAWABI *et al.* 1975; BLANC *et al.*, 1985; BANERJEE *et al.*, 1997) são todos transversais e referentes a ambientes ocupacionais nos quais espera-se exposições químicas diversas, o que dificulta a interpretação dos resultados.

1.4. Processamento da mandioca

No Brasil o processamento de mandioca para a produção de farinha inclui basicamente as etapas de descascamento, ralação, prensagem (geração de resíduo líquido), nova ralação, torrefação ou secagem e peneiração. A Figura 2 mostra as etapas mais comuns do processamento da mandioca no Brasil e aponta os estágios que, supostamente, são os mais críticos em termos de potencial de liberação de HCN.

Figura 2 - Fluxograma do processamento de mandioca

As raízes são descascadas manualmente com o auxílio de facas e em seguida são lavadas para remoção do excesso de sujeira do solo. Após a lavagem, as raízes inteiras

passam por uma máquina de ralação que funciona por meio de eletricidade resultando na obtenção de uma massa com elevado teor de umidade. Esta massa ralada é transferida para sacos de nylon e submetidas a uma prensa para eliminação do excesso de líquido. Após a prensagem e eliminação da maior parte do conteúdo líquido da mandioca, a massa é submetida a uma nova ralação para, em seguida, ir para os fornos de torrefação. Com a peneiração, a farinha está teoricamente pronta para o consumo. Obviamente, este processo sofre variações dependendo da disponibilidade de recursos tecnológicos e das dimensões de cada indústria.

O processamento da mandioca apresenta as características comuns a qualquer processo, conforme representação genérica da **Erro! Fonte de referência não encontrada.** (ITP, 2006).

ENTRADAS:

Matéria-prima
Água
Energia elétrica
Combustível
Mão-de-obra
Outros insumos

SAÍDAS:

Produtos
Resíduos sólidos
Efluentes líquidos
Emissões atmosféricas
Calor

Figura 3 - – Fluxograma genérico de um processo de produção

Entradas:

Matéria-prima:

A única matéria-prima utilizada no processo é a mandioca, que é transportada para as casas-de-farinha em veículos de tração animal, camionetes e caminhões entre outros, a depender do porte do produtor. A qualidade da mandioca varia bastante em função da espécie, da idade das plantas, da época da colheita, das características do solo em que foi plantada e dos cuidados durante o seu cultivo (ITP, 2006).

Água:

A água é utilizada principalmente nas casas-de-farinha que fazem a extração de fécula. Nas unidades que produzem unicamente farinha, o uso da água se restringe apenas ao consumo dos trabalhadores para satisfazer suas necessidades fisiológicas e de higiene. Várias localidades ainda não têm acesso à água tratada, o que tem grande implicação na higiene e na qualidade do produto final (ITP, 2006).

Energia elétrica:

Com os programas de eletrificação rural que vêm sendo desenvolvidos pelo Governo Federal e pelos governos estaduais, grande parte das casas-de-farinha já tem energia elétrica, o que facilita o processamento da mandioca, uma vez que a mecanização de algumas atividades reduz o esforço físico das pessoas envolvidas na produção (ITP, 2006).

Combustível:

O combustível, em geral, é a lenha – recurso já bastante escasso no estado e em quase toda a região Nordeste. A madeira queimada nos fornos provém da derrubada de

árvores silvestres: manguezais, manchas de mata atlântica, capoeiras, caatinga, e de árvores frutíferas que adoecem e morrem, a exemplo da laranjeira, do cajueiro, entre outras (ITP, 2006).

Mão-de-obra:

Na maioria das casas-de-farinha a mão-de-obra é familiar. As unidades de maior porte empregam pessoas da comunidade circunvizinha, servindo como uma importante atividade geradora de emprego principalmente para as mulheres (ITP, 2006).

Outros insumos:

Os demais insumos utilizados no processamento da mandioca não são numerosos. São basicamente utensílios: facas, recipientes plásticos ou de cipó, sacaria, entre outros (ITP, 2006).

Saídas:

Produtos:

Os principais produtos fabricados são a farinha e a fécula de mandioca, com maior destaque para o primeiro. Em menor escala também são produzidos os beijos. A partir da tapioca, vários outros produtos são elaborados (ITP, 2006).

Resíduos sólidos:

- Cascas de mandioca;
- Resíduos de varrição de piso e da limpeza do maquinário;

- Massa lavada – resultante da extração de fécula. Em algumas unidades a massa lavada é misturada com massa bruta para produção de farinha;
- Carços – resultante do peneiramento da farinha;
- Cinzas – resultante da queima da lenha na fornalha.

Efluentes líquidos:

- Manipueira – resultante da prensagem da mandioca ralada (contem elevado teor de cianeto);
- Água-mãe da fécula – sobrenadante do processo de decantação que separa a fécula;
- Água de lavagem de piso e maquinário – geração eventual em virtude da prática de lavagem não ser usual.

Emissões atmosféricas:

- Fumaça – oriunda da queima da lenha;
- Vapores e particulados – resultantes da torrefação da massa (risco de exposição ao HCN);
- Odores – gerados na decomposição dos resíduos indevidamente descartados no lado de fora das casas de farinha.

Calor:

Resultante dos mecanismos de condução, irradiação e convecção, que se traduz em perdas energéticas significativas, responsáveis pelo baixo rendimento térmico do forno.

Na produção da farinha, os principais resíduos gerados são a manipueira, as cascas e a água de lavagem das raízes. O maior potencial de impacto ambiental nesta fase está associado ao consumo de água, com conseqüente geração de efluentes, e à queima de lenha na fabricação de farinha e de outros derivados da mandioca (ITP, 2006).

1.5. Risco de liberação de HCN durante o processamento da mandioca

O risco ocupacional causado pelo ácido cianídrico durante o processamento da mandioca em larga escala foi primeiramente sugerido por Akinrele (1986), na Nigéria. O autor atribuiu às etapas de descascamento e ralação os maiores riscos para os trabalhadores, com base nos teores de HCN determinados nas raízes de mandioca em diferentes estágios do processo e a quantidade máxima teórica de HCN que poderia ser liberada no ar durante cada etapa.

Foram determinados os níveis de HCN no ar em pontos próximos às máquinas usadas nas diferentes etapas e os resultados indicaram que a área ao redor da máquina de ralação apresentava as maiores concentrações (Akinrele, 1986). A utilização deste estudo como parâmetro para o Brasil é inviável devido às diferenças no processo produtivo. A etapa de torrefação, por exemplo, a qual se suspeita apresentar alto potencial para liberação de HCN, não faz parte do processamento avaliado por Akinrele (1986).

Okafor, em estudos realizados em 2002 e 2004, evidenciou esta exposição comparando níveis de tiocianato urinário entre processadores de mandioca e consumidores de alimentos derivados da mandioca.

De acordo com McMahon et al. (1995), os glicosídeos cianogênicos das raízes de mandioca ficam armazenados no interior de vacúolos citoplasmáticos, enquanto as β -glicosidases metabolizadoras situam-se na parede celular, de modo que a integridade do tecido da raiz garante a separação entre enzima e substrato, não havendo degradação. Quando o tecido é dilacerado, o que inevitavelmente ocorre durante o processamento da mandioca, a destruição da integridade celular permite o contato entre a β -glicosidase e o substrato, causando a degradação do glicosídeo e liberação do cianeto na forma de ácido cianídrico para a atmosfera (BAINBRIDGE et al., 1998).

Cagnon et al. (2002) apontaram duas etapas do processamento de mandioca como sendo críticas para a redução nos níveis de compostos cianogênicos e conseqüente detoxificação do produto: (1) **a ralação** que permite a ruptura das células e liberação das β -glicosidases do interior dos vacúolos resultando em degradação de glicosídeos cianogênicos e formação de ácido cianídrico; (2) **a torrefação** que remove o ácido cianídrico por volatilização o que, possivelmente, contamina o ambiente interno das unidades de processamento.

Chisté et al. (2010) mediram os níveis de cianeto na mandioca em diferentes etapas do processamento. Eles observaram a redução de 150,4 mg CN/Kg, na raiz ralada, para 5,19 mg CN/Kg na farinha, indicando uma alta capacidade do método tradicional em reduzir o conteúdo de cianeto. Os maiores decréscimos ocorreram após a prensagem, de 167,68 para 66,59 mg HCN/Kg, e após a torração, de 66,59 para 5,19 mg

HCN/Kg (Figura 4). Após a ralação foi observado aumento de 150,04 para 167,68 mg HCN/Kg, o que foi atribuído à atividade cianogênica aumentada.

Figura 4 - Decaimento dos níveis de cianeto durante o processamento (CHISTÉ, 2010).

A prensagem, etapa que sucede a ralação e antecede a torrefação, é responsável pela remoção da maior parte dos glicosídeos cianogênicos e do cianeto dissolvido, uma vez que produz grandes quantidades de resíduo líquido (manipueira) carregando estes compostos. No entanto, considerando a possibilidade de exposição ocupacional, as etapas de ralação e torrefação tendem a ser mais críticas, uma vez que a manipueira oriunda da prensagem é despejada diretamente no ambiente externo através de canulações.

1.6. Aspectos regulatórios relacionados ao HCN

As principais agências internacionais voltadas para área de Saúde Ocupacional e controle de exposição ocupacional a agentes químicos contemplam o ácido cianídrico (HCN) em seus inventários, determinando limites máximos permitidos para presença desta substância na atmosfera do ambiente de trabalho. O Quadro 4 apresenta os valores dos limites de exposição ao ácido cianídrico determinados pelas diferentes agências.

Quadro 4 - Limites de exposição ocupacional ao HCN em partes por milhão - ppm

Substância	TLV – Ceiling (ACGIH)	REL – STEL (NIOSH)	PEL – TWA (OSHA)	Limite de Tolerância - MPT (NR-15)
HCN	4,7	4,7	10	8

TLV: *Threshold Limit Value*; REL: *Recommended Exposure Limit*; PEL: *Permissible Exposure Limit*; STEL: *Short Term Exposure Limit*; TWA: *Threshold Weighted Average*; ACGIH: *American Conference of Governmental Industrial Hygienists*; NIOSH: *National Institute of Occupational Safety and Health*; Occupational Safety and Health Administration; NR: Norma Regulamentadora; MPT: Média Ponderada pelo Tempo.

A notificação “*skin*”, que aparece nos documentos publicados pela maioria das agências regulatórias que contemplam o ácido cianídrico, indica que a substância presente no ar oferece risco de absorção dérmica, além da inalatória, o que representa uma dificuldade maior para o controle da exposição (NIOSH, 2010).

Como pode ser observado no Quadro 4, cada agência regulatória apresenta limites referentes a tempos de exposição distintos. O TWA representa a média das concentrações ponderada pelo tempo, e é aplicado a substâncias que produzem efeitos a médio e longo prazo. O STEL representa uma concentração a qual o trabalhador pode se expor por um período máximo de 15 minutos enquanto que o *Ceiling* representa um

limite máximo que não deve ser ultrapassado em momento algum da jornada de trabalho.

De acordo com *United States Department of Labor* (2011), o limite estabelecido pelo NIOSH é baseado no risco de efeitos adversos à tireóide, ao sangue e ao sistema respiratório, enquanto que o limite estabelecido pela ACGIH é baseado no risco de intoxicação aguda.

Seguindo a legislação brasileira, por meio da Norma Regulamentadora 15, considera-se que os limites referentes à média ponderada pelo tempo (*TWA*) não devem ser ultrapassados pelas médias aritméticas das concentrações obtidas em cada ponto. Os limites referentes a valores “teto” (*Ceiling*), por sua vez, não devem ser ultrapassados por nenhuma concentração obtida na amostragem (BRASIL, 1978).

Outros conceitos importantes adotados pela NR-15 e aplicados na avaliação dos resultados obtidos no presente estudo incluem: 1) Índice de Exposição (IE), que consiste na razão entre a concentração medida em uma determinada amostra e o Limite de Exposição Ocupacional (LEO) regulamentado e 2) Nível de Ação (NA), que corresponde a 50% do LEO. Considera-se que uma concentração maior ou igual ao NA representa um risco suficiente para que medidas de intervenção no ambiente avaliado sejam implementadas (OGA, CAMARGO, BATISTUZZO, 2008).

1.7. Levantamento bibliográfico sobre exposição ocupacional ao HCN

Uma das principais fontes de exposição ao cianeto é o ambiente de trabalho uma vez que a substância é utilizada em vários segmentos industriais, tais como: extração e refino de metais preciosos (ouro, prata etc.), indústrias metalúrgicas e em eletrodeposição de metais (galvanoplastia), disposição eletrolítica de revestimentos metálicos (cobre, zinco, cádmio etc.), tratamentos térmicos de aços, síntese de produtos químicos inorgânicos e orgânicos, aditivos especiais e fabricação de plásticos (FIGUEREDO & TRAPÉ, 2007). A utilização do cianeto nestes processos resulta no risco de exposição ocupacional, possibilidade esta, que já foi avaliada em alguns estudos, embora venha sendo negligenciada nas últimas décadas.

Por meio de um levantamento bibliográfico, foi possível identificar algumas limitações dos estudos de avaliação de exposição ocupacional a cianetos publicados nos últimos 35 anos, onde pode-se selecionar apenas 7 artigos, sendo que as bases de dados empregadas foram *Science Direct* e *Pubmed*. Para a busca, foram usadas as palavras-chave: “*hydrogen cyanide*”, “*cyanide*” e “*occupational exposure*”.

Os estudos para os quais não foi possível a obtenção do texto completo foram excluídos da avaliação.

1.7.1. Características gerais dos estudos

Apenas sete publicações permitiram acesso ao texto completo e, para facilitar a discussão, as mesmas foram enumeradas e organizadas no Quadro 5. Os estudos 1, 3 e 5 foram realizados em indústria de galvanização, o estudo 2 envolveu brigadistas, o estudo 4 foi realizado em uma indústria de recuperação de prata a partir de filmes

fotográficos, e os estudos 6 e 7 foram realizados em indústrias de processamento de mandioca.

O monitoramento ambiental foi conduzido em apenas dois estudos enquanto que, o monitoramento biológico utilizando-se como amostras sangue e/ou urina, foi conduzido em seis dos sete estudos. Em um dos estudos, a avaliação baseou-se apenas em entrevista.

Não foi encontrado, por meio do levantamento bibliográfico realizado, nenhum estudo de coorte ou do tipo caso-controle relativo à exposição ocupacional a cianeto, sendo todos eles caracterizados como estudos transversais.

A presença de grupo controle foi observada nos estudos 1, 2, 3 e 5. Os dois estudos conduzidos em indústria de processamento de mandioca não apresentaram grupo controle, no entanto, dividiram os indivíduos em grupos com base nas diferentes fontes de exposição: por exemplo, grupo de processadores de mandioca, grupo de consumidores de alimentos a base de mandioca e grupo de fumantes.

No estudo 4, publicado por Blanc et al. (1985), foram obtidos, com base em entrevistas, grupos com diferentes graus de exposição a cianetos e, a partir desta divisão, foi verificada a correlação entre o grau de exposição e a severidade dos efeitos adversos.

Quadro 5 - Dados da literatura associados à exposição ocupacional a cianetos

Estudo	Ambiente do estudo	Amostra	Parâmetros avaliados	Resultados e observações
1. El Ghawabi et al. (1975)	Indústria de galvanização	Ar; sangue e urina	Cianeto no ar; Tiocianato urinário; Alterações clínicas e laboratoriais	Ocorrência de sintomas compatíveis com exposição a cianeto; ocorrência de aumento da tireóide em 56% dos trabalhadores expostos; aumento da concentração de ¹³¹ I na glândula tireóide*; níveis mais elevados de tiocianato urinário*; aumento nos níveis de hemoglobina e linfócitos totais*.
2. Levine & Radford (1978)	Combate a incêndio	Sangue	Tiocianato sérico	Níveis mais elevados de tiocianato sérico*
3. Chandra et al. (1980)	Indústria de galvanização	Ar, sangue e urina	Cianeto no ar; Cianeto e tiocianato no sangue; Cianeto e tiocianato urinário;	Nível de cianeto no ar bem abaixo do limite preconizado pela ACGIH; níveis mais elevados de cianeto e tiocianato em sangue e urina*; ocorrência de sintomas compatíveis com exposição a cianeto
4. Blanc et al. (1985)	Indústria de recuperação de prata a partir de filmes fotográficos	-	Práticas no trabalho; tempo e frequência de exposição a cianetos; ocorrência de sintomas; alterações clínicas e laboratoriais	Correlação positiva entre índice de exposição e índice de sintomas estabelecidos através de sistema de <i>scores</i> ; níveis séricos de vitamina B12 e ácido fólico anormais; níveis elevados de TSH
5. Banerjee et al. (1997)	Indústria de galvanização	Sangue	Tiocianato sérico; Hormônios T ₃ , T ₄ e TSH	Níveis mais elevados de tiocianato sérico* e de TSH*; níveis diminuídos de T ₃ e T ₄ *

Cont...

6. Okafor (2002)	Indústria de processamento de mandioca	Urina	Tiocianato urinário; proteínas totais e albumina sérica	Níveis mais elevados de tiocianato urinário; ocorrência de sintomas compatíveis com exposição a cianeto
7. Okafor (2004)	Indústria de processamento de mandioca	Urina	Tiocianato urinário e sérico; Cianeto em sangue total; parâmetros bioquímicos	Níveis mais elevados de tiocianato urinário; aumento na atividade de enzimas hepáticas e da glicemia

*Resultados comparados com grupo controle (não-exposto)

Todos os estudos são tipo transversal

1.7.2. Métodos de avaliação da exposição nos artigos selecionados

Dentre os parâmetros utilizados como indicadores de exposição ao cianeto nos estudos analisados estão: cianeto no ar, cianeto no sangue e na urina e tiocianato no sangue e na urina.

A utilização do tiocianato, no sangue ou na urina, prevaleceu tendo sido adotado como método de biomonitorização em seis dos sete estudos, com exceção apenas do estudo publicado por Blanc et al. (1985). Neste estudo, a exposição foi apenas avaliada por meio de entrevista. Os autores, com base em informações como função desempenhada e tempo de trabalho, categorizaram o grau de exposição de cada trabalhador. A partir destes dados, foi possível calcular a correlação entre grau de exposição e intensidade dos efeitos observados.

A determinação dos níveis atmosféricos de ácido cianídrico foi conduzida em apenas dois estudos: EL GHAWABI et al., 1975 e CHANDRA et al., 1980.

El Ghawabi et al. (1975) determinaram níveis de HCN na zona respiratória de trabalhadores dos setores de eletrodeposição de três indústrias galvânicas no Egito. As concentrações variaram entre 4,2 e 12,4 ppm (4,63 – 13,69 mg/m³), com médias entre 6,4 e 10,4 ppm (7,07 – 11,45 mg/m³). Chandra et al. (1980), no mesmo setor industrial, porém na Índia, determinaram níveis atmosféricos de HCN variando entre 0,2 e 0,9 mg/m³ no ambiente e entre 0,1 e 0,2 mg/m³ na zona respiratória dos trabalhadores.

Analizando os dados de monitorização biológica obtidos nos estudos 2, 3, 5, 6 e 7, percebe-se a diferença significativa entre os níveis de tiocianato sérico ou urinário em trabalhadores expostos comparados a indivíduos não expostos. Os quadros 6 e 7

apresentam a razão entre as médias de tiocianato em sangue e urina, respectivamente, entre indivíduos expostos e não expostos. Observa-se que em todos os estudos nos quais este parâmetro foi analisado, os níveis foram mais elevados nos expostos, com destaque para os resultados obtidos por Chandra et al. (1980) que avaliaram exposição ao HCN em uma indústria de galvanização. A razão de tiocianato entre indivíduos não fumantes expostos e não expostos foi de 10,5 (Quadro 6) e 7,13 (Quadro 7) em sangue e urina respectivamente.

O cianeto foi utilizado como biomarcador em dois estudos: Chandra et al. (1980) e Okafor et al. (2002). No primeiro foi obtida diferença significativa entre grupo exposto e não exposto, enquanto no segundo tal diferença não foi observada.

Quadro 6 - Comparação dos níveis médios de tiocianato sérico* entre grupos expostos e não expostos nos estudos encontrados na literatura

Estudo	Grupos	Fumantes	Não-fumantes
Levine & Radford (1978)	Expostos	7,78	5,69
	Não expostos	6,53	4,36
	E/NE	1,19	1,31
Chandra et al. (1980)	Expostos	0,48	0,42
	Não expostos	0,10	0,04
	E/NE	4,80	10,50
Banerjee et al. (1997)	Expostos	-	316,00
	Não expostos	-	90,80
	E/NE	-	3,48
Okafor (2002)	Expostos	-	126,73
	Não expostos	-	54,70
	E/NE	-	2,32

E/NE – Expostos/Não-expostos

***Os estudos listados adotaram diferentes unidades, as quais não foram incluídas na tabela por não interferirem na razão E/NE.**

Quadro 7 - Comparação dos níveis médios de tiocianato urinário* entre grupos expostos e não expostos nos estudos encontrados na literatura

Estudo	Grupos	Fumantes	Não fumantes
Okafor (2002)	Expostos	-	153,50
	Não expostos*	-	59,30
	E/NE	-	2,59
Okafor (2004)	Expostos	-	8,55
	Não expostos*	-	3,57
	E/NE	-	2,39
Chandra et al. (1980)	Expostos	0,62	0,57
	Não expostos	0,41	0,08
	E/NE	1,51	7,13

E/NE – Expostos/Não-expostos

***Os estudos listados adotaram diferentes unidades, as quais não foram incluídas na tabela por não interferirem na razão E/NE.**

El Ghawabi et al. (1975) observaram em seu estudo que há correlação entre os níveis de tiocianato urinário e as concentrações individuais de HCN na zona respiratória dos trabalhadores de indústrias de galvanização.

1.7.3. Avaliação dos efeitos adversos relatados nos artigos selecionados

Dentre os efeitos adversos observados nos estudos analisados neste levantamento, destacam-se os sintomas típicos de exposição aguda a doses não letais de HCN, citados nos estudos 1, 3, 4 e 6. O efeito crônico sobre a glândula tireoide foi observado por El Ghawabi et al. (1975), Blanc et al. (1985) e por Banerjee et al. (1997). Outros efeitos observados, porem de forma isolada, foram alteração do metabolismo de vitamina B₁₂ e ácido fólico (BLANC et al., 1985), aumento nos níveis de hemoglobina e de linfócitos totais (EL GHAWABI et al. 1975) e aumento na atividade de transaminases e na glicemia (OKAFOR 2002).

Depreende-se que sintomas característicos de exposição aguda não letal ao HCN são comuns em trabalhadores expostos ocupacionalmente. Certamente estes sintomas

são decorrentes de eventuais exposições a níveis superiores ao que normalmente ocorre nestes ambientes. Esta conclusão se baseia no fato de que as doses necessárias para causar tais efeitos são muito maiores do que as relacionadas com alterações tireoideanas características de exposições prolongadas a doses baixas. El Ghawabi et al. (1975) e Blanc et al. (1985) observaram os dois efeitos em seus estudos, evidenciando uma exposição crônica a baixas doses, com momentos isolados de exposição mais elevada. O mecanismo de ação responsável pelos sintomas agudos, que incluem tontura, sonolência, fraqueza, dores de cabeça e falta de ar, é o bloqueio da cadeia respiratória em nível celular que afeta primariamente o sistema nervoso e, persistindo a exposição, acomete os demais sistemas.

A alteração da função da tireóide, além de ter sido citada nos estudos ocupacionais 1, 4 e 5, foi também mencionada em diversos estudos experimentais crônicos, em estudos epidemiológicos envolvendo populações expostas através da alimentação e em pacientes que fizeram uso do anti-hipertensivo nitroprussiato de sódio, que libera cianeto (ECETOC, 2004). O mecanismo de ação envolvido neste efeito é bem estabelecido e está descrito com detalhes no item 1.3.4., que fala sobre a ação tóxica do cianeto.

As alterações nos níveis séricos de vitamina B12, relatadas por Blanc et al. (1985) e citadas em outros estudos epidemiológicos e experimentais representam um efeito adverso que não está bem definido em relação ao mecanismo de ação. Sabe-se que uma das vias metabólicas de biotransformação do cianeto ocorre através da ligação com a hidroxycobalamina formando ciano-hidroxycobalamina (vitamina B12) e, desta forma, alguns autores acreditam que a deficiência nutricional de vitamina B12 esteja relacionada com uma maior sensibilidade ao cianeto.

Okafor et al. (2002) observaram aumento na atividade da aspartato aminotransferase (AST) e aumento da glicemia em trabalhadores expostos ao HCN. O cianeto interfere diretamente no metabolismo energético e, desta forma, há grande possibilidade de ocorrência de alterações bioquímicas após exposição aguda ou crônica. No entanto, tais efeitos precisam ser confirmados por meio de estudos experimentais e por meio de outros estudos epidemiológicos.

1.7.4. Atividades ocupacionais identificadas como fontes de exposição ao HCN

O Quadro 5 mostra que a indústria de galvanização, descrita nos artigos 1,3 e 5, aparece com maior frequência em estudos de exposição ocupacional ao HCN. Trata-se de um processo no qual a finalidade é dar revestimento em peças de metal para proteger às mesmas contra ferrugem e corrosão, mudar a aparência e reduzir a resistência elétrica no contato, ser base para operações de soldagem, fornecer isolamento elétrico e melhorar a resistência ao desgaste abrasivo. Dentre todos os artigos selecionados, Chandra et al. (1980), relataram a maior diferença entre os níveis de tiocianato do grupo exposto em relação ao não exposto, corroborando o potencial de exposição a HCN em indústrias de galvanização.

Burgess (1997) ressalta que os sais de cianeto estão relacionados com os principais riscos químicos existentes na área de galvanoplastia. São utilizados no desengraxe eletrolítico, etapa que antecede a eletrodeposição de metal e faz parte do processo de limpeza para remoção de óleos, graxa e impurezas das peças. A solução cianídrica contida nos banhos de desengraxe forma, com facilidade, gás cianídrico em

contato até com o gás carbônico existente no ar atmosférico e, dependendo da concentração, pode ser letal (FIGUEREDO & TRAPÉ, 2007).

O Quadro 5 mostra ainda que Levine & Radford (1978) avaliaram a exposição de trabalhadores envolvidos no combate a incêndio ao ácido cianídrico. De acordo com os autores, o HCN é produto da pirólise de plásticos contendo nitrogênio tais como poliuretano e acrilonitrila e de alguns materiais orgânicos como algodão, lã e seda. O processo de pirólise ocorre sob calor intenso e tem início a partir do momento em que o oxigênio é consumido pela combustão, ou seja, em estágios mais avançados de um incêndio.

A presença ou ausência de ácido cianídrico na fumaça de incêndio depende muito da composição dos materiais em combustão. Quanto maior o teor de compostos de nitrogênio nos materiais, maior será o potencial de liberação de ácido cianídrico durante o incêndio (FORTIN, et al., 2010).

O Quadro 5 mostra também que o processamento da mandioca tem sido apontado como possível fonte de exposição ocupacional ao HCN (OKAFOR, 2002; OKAFOR, 2004). De acordo com a CETESB (2002), os riscos desta exposição precisam ser avaliados.

Os dados publicados por Okafor et al. (2002) e Okafor (2004) representam um alerta importante para países em desenvolvimento que produzem mandioca em larga escala como o Brasil. Deve ser destacado que indivíduos com deficiências nutricionais são mais sensíveis à toxicidade do HCN devido ao baixo consumo de proteínas, principal fonte de aminoácidos sulfurados, fundamentais para a biotransformação do composto. A realidade de subnutrição de muitos municípios brasileiros que processam

mandioca em larga escala, sobretudo daqueles localizados no Agreste e Sertão nordestino, pode representar risco elevado de efeitos nocivos causados pelo HCN.

De acordo com Pombo & Dutra (2008), usinas de minérios auríferos utilizam cianeto como agente lixiviante em seu processo, no entanto não foram encontrados estudos na literatura sobre avaliação de exposição ocupacional nessas usinas.

1.7.5. Análise crítica dos artigos selecionados

O baixo número de artigos obtidos por meio do levantamento bibliográfico aponta para a carência de pesquisas voltadas para a exposição ocupacional ao HCN, o que dificulta a obtenção de parâmetros necessários para otimização de estudos posteriores.

Analisando os resultados obtidos com os diferentes indicadores de exposição (Quadro 5), ficou evidenciado que o tiocianato continua sendo o mais apropriado biomarcador para avaliação de exposição crônica ao HCN, sendo tal evidência baseada no aumento significativo deste biomarcador em todos os estudos que o utilizaram. Chandra et al. (1980) também obtiveram diferença estatisticamente significativa nos níveis de cianeto em sangue e urina entre trabalhadores expostos e não-expostos, resultado este, não obtido por Okafor et al. (2002) que, embora tenha encontrado níveis de cianeto em sangue total superiores em trabalhadores, a diferença não foi relevante do ponto de vista estatístico.

A ineficiência da dosagem de cianeto em sangue e urina como método de biomonitorização é explicada pela sua curta meia vida biológica, de modo que seus níveis tendem a estar elevados apenas alguns minutos após a exposição. Por outro lado, o tiocianato, com uma meia vida em torno de 2 a 4 dias, é capaz de identificar

exposições regressas aumentando a probabilidade de se detectar eventos ou etapas de um processo industrial onde tenha havido uma exposição a cianeto mais elevada do que o comum.

Uma observação importante diz respeito a não utilização da avaliação ambiental na maior parte dos estudos analisados (apenas os estudos 1 e 3 fizeram este tipo de avaliação). No caso particular do HCN, a determinação da substância no ambiente atmosférico é de extrema relevância, tendo em vista que o tiocianato está sujeito a interferentes extra ocupacionais como tabagismo e alimentação, por exemplo. A obtenção de uma correlação positiva entre níveis de HCN no ar e tiocianato urinário seria uma evidência muito forte de que, naquela situação, a principal fonte de exposição é o ambiente ocupacional. Dentre os estudos avaliados, esta correlação foi obtida apenas por El Ghawabi et al. (1975).

Com relação à amostra mais apropriada, sangue e urina apresentaram concentrações de tiocianato muito próximas no estudo de Okafor (2002), no entanto, o desconforto da punção venosa torna o sangue uma amostra menos conveniente para fins de biomonitoramento. É recomendável que os níveis de tiocianato na urina sejam expressos em relação à concentração de creatinina na tentativa de minimizar a variação decorrente das diferenças de função renal. Tal medida não foi adotada em nenhum dos estudos analisados.

Além da carência de estudos voltados para exposição ocupacional ao HCN, os que foram encontrados mostraram uma grande variação no que se refere à metodologia empregada e aos resultados obtidos. Além disso, os estudos não produziram resultados suficientemente consistentes para que conclusões adequadas pudessem ser obtidas.

Confrontando os achados dos estudos incluídos neste levantamento com os estudos de caráter experimental foi possível fortalecer as evidências e chegar a algumas conclusões: os maiores riscos observados em exposição ocupacional ao HCN estão relacionados a efeitos agudos não-letais típicos de sistema nervoso central, tais como tontura e dor de cabeça, assim como efeitos decorrentes da propriedade asfixiante do HCN, como fadiga e dispnéia. Estes sintomas seriam decorrentes de situações esporádicas de exposições mais elevadas do que o comum. Alteração na função da tireóide parece ser o efeito crônico mais relevante na exposição ocupacional ao HCN, embora outras alterações bioquímicas e hematológicas tenham sido observadas. É aconselhável a realização de estudos epidemiológicos melhor planejados e conduzidos para que sejam produzidos resultados de maior confiabilidade sejam produzidos.

O HCN no ambiente de trabalho oferece risco aos indivíduos ali presentes. Sendo assim, estudos de avaliação deste risco são de extrema importância para que medidas de gerenciamento sejam tomadas e a saúde e bem estar dos trabalhadores sejam preservados.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- O presente estudo objetivou avaliar quantitativamente a exposição ocupacional ao ácido cianídrico (HCN) em casas-de-farinha na região do agreste alagoano.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar a concentração de HCN no ar de casas-de-farinha;
- Avaliar o risco à saúde dos processadores de mandioca decorrente da exposição ocupacional ao HCN;
- Determinar os níveis de tiocianato urinário nos trabalhadores das casas-de-farinha;
- Realizar avaliação clínico-laboratorial dos trabalhadores das casas-de-farinha para identificação de efeitos associados à exposição ocupacional ao HCN;
- Propor medidas de gerenciamento em caso de exposição elevada.

3. METODOLOGIA

3.1. Delineamento do estudo

O presente estudo foi conduzido por meio de duas abordagens essencialmente distintas, uma ambiental e outra epidemiológica. A abordagem ambiental consistiu basicamente na coleta e análise de amostras de ar para determinação dos níveis de HCN no ambiente de trabalho objetivando a obtenção de uma estimativa da exposição. A abordagem epidemiológica consistiu na associação entre uma avaliação da exposição e uma avaliação de efeitos adversos à saúde dos trabalhadores. Embora distintas, é evidente que as duas abordagens estão estritamente relacionadas, de modo que os dados obtidos na avaliação ambiental são fundamentais no embasamento da avaliação epidemiológica.

Dentre as possibilidades de delineamentos epidemiológicos a presente investigação caracteriza-se como sendo um estudo transversal ou seccional uma vez que os dados foram coletados uma única vez para cada indivíduo participante (GORDIS, 2009), não tendo sido realizado nenhum tipo de acompanhamento ou monitoramento ao longo do tempo.

3.2. Seleção das casas

Foi conduzida a seleção de casas-de-farinha para inclusão no estudo. Os critérios avaliados foram: localização, número de trabalhadores, condições de higiene, estrutura das casas e produtividade.

Por motivos logísticos, foram selecionadas casas localizadas relativamente próximas entre si e próximas à região central do município de Arapiraca, local onde os pesquisadores ficaram hospedados e organizaram os trabalhos em termos de obtenção de material para coleta, recarga e divisão de bombas coletoras e planejamento do trabalho.

Casas-de-farinha com menos de dez funcionários foram excluídas do estudo, uma vez que resultariam em desgaste e investimento equivalente às casas maiores e, no entanto, o retorno em termos de dados epidemiológicos seria mínimo.

Em princípio, seriam incluídas no estudo apenas casas-de-farinha com condições mais precárias de higiene e com estrutura inadequada, no intuito de se obter os piores cenários de exposição possíveis. No entanto, optou-se pela inclusão de uma casa mais bem estruturada, exatamente para comparação entre cenários distintos. O mesmo raciocínio foi utilizado para o critério produtividade.

3.3. Avaliação preliminar

Foi realizada uma avaliação preliminar, de caráter qualitativo, dos riscos à saúde aos quais os trabalhadores das instalações estariam possivelmente expostos. Esta avaliação foi feita com base na simples observação dos ambientes. Alguns parâmetros considerados relevantes, tais como espaço interno (m^3), volume de produção (toneladas/dia) e número de fornos, foram mensurados.

Foi possível avaliar, quantitativamente, por meio das bombas coletoras e de um decibelímetro, a temperatura interna e a intensidade aproximada de ruído, respectivamente, nas casas de farinha incluídas no estudo.

3.4. Casuística

Um total de 36 trabalhadores do sexo masculino distribuídos nas 4 casas-de-farinha selecionadas, todas elas localizadas no Agreste Alagoano, microrregião de Arapiraca, foi incluído no estudo formando o grupo teste.

Todos os participantes foram informados sobre o estudo e se propuseram a participar voluntariamente. O consentimento de cada trabalhador foi registrado por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Anexo I).

Cada trabalhador passou pelos seguintes processos de avaliação:

- Coleta de sangue venoso para avaliação laboratorial;
- Coleta de urina antes e após a terceira jornada de trabalho da semana para determinação de tiocianato;
- Avaliação clínica composta pelo questionário ocupacional e exame físico.

Dois trabalhadores de cada casa foram selecionados, de acordo a função que desempenhavam no dia da amostragem, para instalação do aparato para coleta de ar na zona respiratória.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (Protocolo CEP/FCF/521; CAAE-0019.0.018.000-09) (Anexo IV).

3.5. Coleta, armazenamento e transporte de amostras de ar

A coleta de ar foi realizada de acordo com o método recomendado pelo NIOSH (6010) (NIOSH, 1994). Foi utilizado um amostrador SKC, Inc. 226-28 que consiste em

um tubo de vidro de 9 cm de comprimento e 7 mm de diâmetro externo e 5 mm de diâmetro interno. O tubo contém duas seções de cal sodada granular, utilizada como material adsorvente (Figura 5).

Figura 5 - Tubo adsorvente (cal sodada, 600 mg/200 mg)

Foram utilizadas bombas coletoras, modelo VSS-5 da A.P. Buck, Inc (Figura 6), as quais são apropriadas para uma faixa de fluxo constante de 800 a 5000 cc/min (0,8 à 5 L/min). O equipamento é provido de sensores internos que controlam o fluxo com uma acurácia de $\pm 3\%$, após um simples ajuste por meio do *Main Menu*. No entanto, atendendo às boas práticas da higiene industrial, o fluxo das bombas foi previamente verificado por meio de um calibrador, *Mini-Buck Calibrator*TM.

As bombas foram calibradas, de acordo com o *Validated Sampling System Instruction Manual*, para uma vazão de 2 L/min. Como o método utilizado exige uma vazão máxima de 0,2 L/min, foi necessária a utilização de um redutor de fluxo, *Mini-Buck Calibrator M1*, para o ajuste através do tubo adsorvente.

Ao término do trabalho, as bombas foram submetidas a uma nova aferição junto ao calibrador para que fosse verificada a variabilidade em relação à calibração inicial.

Figura 6 - Aparato montado para coleta de ar em ponto estático – bomba amostradora conectada ao tubo adsorvente e tripé como suporte.

Figura 7 - Coleta na zona respiratória do trabalhador (bomba coletora presa à cintura)

A amostragem foi realizada em três dias consecutivos. Foram selecionados três pontos em cada casa de farinha, dois na zona respiratória de trabalhadores e um ponto estático, totalizando 36 amostras nas quatro casas após três dias de avaliação. Os

trabalhadores monitorados foram aqueles que, no dia da avaliação, estavam na função de forneiro e de ralador. Para a coleta no ponto estático, um tripé foi posicionado próximo ao forno na tentativa de se simular o pior cenário, no qual o trabalhador estaria a todo instante posicionado no ponto de maior emissão de vapores.

As coletas tiveram duração aproximada de 4h por dia que, numa vazão de 0,2 L/min, permitiram coletar um volume de até 48 L por amostra.

Após a coleta, os tubos adsorventes, previamente identificados, foram devidamente vedados e armazenados em isopor, a temperatura ambiente. Ao término da amostragem (3º dia de coleta) as amostras foram transportadas, via aérea, de Maceió para São Paulo e imediatamente encaminhadas ao laboratório ECOLABOR Comercial Consultoria e Análises Ltda.

3.6. Coleta, armazenamento e transporte de amostras biológicas

A coleta de sangue foi realizada por profissionais de enfermagem do CEREST – Centro de Referência em Saúde do Trabalhador de Arapiraca. A coleta foi realizada antes da jornada de trabalho e, para tanto, foi montada em cada casa-de-farinha, uma estrutura para que o trabalho pudesse ser conduzido dentro dos critérios básicos de análise, higiene e salubridade.

Um laboratório comercial, localizado no centro de Arapiraca-AL, foi contratado para realização das dosagens bioquímicas clínicas. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em isopor contendo gelo reciclável e transportadas diretamente para o laboratório.

Para a coleta de urina, cada trabalhador recebeu, no dia que antecedeu a coleta, dois frascos coletores estéreis previamente etiquetados com nome completo. Os trabalhadores foram instruídos para utilizar um dos frascos para coletar a primeira urina da manhã (pré-jornada) e o outro para coletar a primeira urina após o término do trabalho ou após as 17h (pós-jornada).

O plano de ação incluiu a distribuição de coletores e instrução dos trabalhadores no dia que antecedeu a coleta, uma visita no dia da coleta pela manhã para retirada e identificação da primeira amostra e uma segunda visita no mesmo dia ao final da tarde para retirada e identificação da segunda amostra.

Após a coleta, as amostras foram armazenadas em geladeira por aproximadamente 12h e em seguida foram transferidas para isopores contendo gelo reciclável para serem transportadas via aérea de Maceió-AL para São Paulo-SP, onde foram encaminhadas para análise no Laboratório TOXIKON ASSESSORIA TOXICOLÓGICA.

O transporte das amostras de urina foi feito de acordo com as exigências estabelecidas pela IATA – *International Airport Transport Associations*, sendo atribuído à carga o número ONU 3373 e nome apropriado para embarque “Substância Biológica, Categoria B. As amostras foram imediatamente encaminhadas ao laboratório para análise.

3.7. Métodos analíticos

3.7.1. Ácido cianídrico na atmosfera

A determinação do ácido cianídrico nas amostras de ar foi realizada pelo Laboratório ECOLABOR Comercial Consultoria e Análises Ltda., o qual é especializado em análises ambientais e certificado pelas ISO 9001:2000 e ISO/IEC/17025.

Foi aplicado o método espectrofotométrico seguindo o mesmo protocolo (NIOSH 6010) utilizado para coleta das amostras de ar. O método estabelece, na sequência, o procedimento para detecção e quantificação de ácido cianídrico em amostras de ar. O laboratório contratado disponibilizou os dados de validação referente às análises, incluindo curvas de calibração para cada lote analisado, limites de detecção e de quantificação, valor obtido no branco e valores de incerteza (Anexo III).

3.7.2. Caracterização do risco com base nos níveis ambientais de HCN

(Índice de Exposição)

A caracterização do risco toxicológico foi realizada, no presente estudo, com base nos conceito de Índice de Exposição (IE) e de Nível de Ação, conforme recomendado pela NR-15. As concentrações obtidas em cada amostra foram divididas pelo Limite de Exposição (LEO) para determinação do IE e foi verificada a ocorrência de valores acima do NA.

Além deste critério, foi seguido também, no processo de caracterização do risco, a recomendação da NR-15 de que os limites referentes a valores “teto” (*Ceiling*) não

devem ser ultrapassados por nenhuma concentração obtida na amostragem (BRASIL, 1978).

3.7.3. Tiocianato na Urina

A determinação do tiocianato nas amostras de urina foi realizada pelo Laboratório TOXIKON ASSESSORIA TOXICOLÓGICA, o qual é especializado em análises toxicológicas para monitorização biológica da exposição ocupacional a agentes químicos e certificado pela ISO 9001:2008.

A quantificação foi realizada por espectrofotometria na região do visível. O método utilizado tem como princípio a reação entre o brometo de cianogênio, a piridina e uma amina aromática (p-fenilenodiamina), que resulta na formação de um complexo de piridina colorido. A intensidade da cor, medida espectrofotometricamente, é proporcional a concentração do tiocianato.

A Figura 8 apresenta a curva de calibração referente à análise, fornecida pelo laboratório.

Figura 8 - Curva de calibração referente à análise de tiocianato urinário

3.7.4. Estimativa da concentração de cianeto no ar com base no SCN⁻ urinário:

No intuito de se avaliar a coerência dos resultados da avaliação ambiental em relação aos resultados da avaliação biológica, foi aplicada uma fórmula proposta por ECETOC (2004) para estimativa da concentração de cianeto no ar com base nos níveis de tiocianato na urina:

$$[\text{CN}^-]\text{mg/m}^3 = \frac{\frac{[\text{SCN}^-]\text{mg}}{\text{L}} \times \frac{0,25\text{L}}{\text{Kg}} \times 26 \times 70 \text{ Kg}}{10\text{m}^3 \times 0,5 \times 0,8 \times 58 \times 3,9}$$

Onde:

- 0,25 L/Kgbw = volume de distribuição do SCN⁻

- 26 = massa molecular do CN^-
- 70 Kg = peso corpóreo do trabalhador
- 10 m^3 = volume respiratório durante uma jornada de 8h de trabalho
- 0,5 = absorção de cianeto pela via respiratória: 50%
- 0,8 = conversão do cianeto para tiocianato: 80%
- 58 = massa molecular do SCN^-
- 3,9 = eliminação do tiocianato, meia-vida = 2,7 dias, tempo de permanência = 3,9 dias

3.8. Avaliação clínica

Foi conduzido exame médico composto por anamnese ocupacional e questionário, conforme descrito no Anexo V e exame físico completo. As avaliações foram realizadas em sala providenciada em cada casa de farinha, conforme ilustra a figura 9.

Figura 9 - Avaliação clínica sendo realizada em local improvisado em uma das casas-de-farinha

O questionário ocupacional foi aplicado verbalmente pelo pesquisador e incluiu, dentre outras questões, idade, cor, grau de escolaridade, consumo de tabaco e bebida alcoólica e história ocupacional. A anamnese ocupacional foi conduzida pela médica pesquisadora e registrada no Conselho Regional de Medicina, Cláudia Esteban, mediante o preenchimento dos itens constantes no Anexo V.

Em seguida foi realizado o exame físico de cada trabalhador, inicialmente com medição do peso, altura e cálculo de índice de massa corpórea e foram avaliados os seguintes itens conforme região corpórea:

- Cabeça e Pescoço: orofaringe, exame de mucosas, otoscopia e palpação de linfonodos em cadeia ganglionar;
- Tórax: ausculta pulmonar, cardíaca;
- Abdome: ausculta, percussão e palpação;
- Membros superiores e inferiores;

A realização de manobras ou avaliações mais específicas ficou a critério médico, sendo conduzidas conforme queixas ou outras suspeitas.

3.9. Análise estatística

As concentrações de HCN em amostras de ar foram apresentadas na forma de média e desvio-padrão e em diagrama de blocos apresentando mediana, percentil 25 e percentil 75. Foi aplicado o teste t de *Student* para comparação entre os níveis médios de HCN determinados em cada casa-de-farinha com os Limites de Exposição Ocupacional estabelecidos por diferentes países. O mesmo foi feito para comparação entre as médias

de tiocianato urinário do grupo avaliado com a média obtida a partir de um histórico recente de dosagens de tiocianato urinário fornecido pelo laboratório analítico.

A comparação entre as médias obtidas nas quatro casas foi realizada através do Teste de Tukey (teste para comparação múltipla).

A associação entre os níveis de tiocianato urinário e os diferentes parâmetros laboratoriais foi determinada por meio do teste de correlação de Pearson.

O nível de significância de $p < 0,05$ foi adotado para todos os cálculos estatísticos realizados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Localização das casas-de-farinha

O Estado de Alagoas foi escolhido para o desenvolvimento do estudo com base em dois fatores considerados determinantes: 1) número elevado de casas-de-farinha em uma área relativamente pequena e 2) desenvolvimento recente, por parte das instituições parceiras, de trabalhos em casas-de-farinha desta região.

A mandioca é a principal cultura de subsistência do Estado de Alagoas e todo o seu processo de produção ainda é realizado artesanalmente. De acordo com dados da Associação dos Beneficiadores de Mandioca do Estado de Alagoas (Abemam), o Estado produz, em média, 250 mil toneladas de mandioca por ano. O Agreste Alagoano abriga hoje 557 casas-de-farinha, dentro da zona do APL (Arranjo Produtivo Local) da mandioca, sendo que 70% de toda a produção de mandioca do Estado concentram-se na microrregião de Arapiraca.

Por estes motivos e pelo fato de a FUNDACENTRO (Fundação Jorge Duprat Figueredo de Segurança e Medicina do Trabalho), em parceria com o SEBRAE/AL (Serviço de Apoio as Micro e Pequenas Empresas do Estado de Alagoas), terem desenvolvido recentemente estudos de campo nesta região, optou-se pelo desenvolvimento do projeto no Agreste Alagoano, onde, certamente, haveria grande disponibilidade de unidades de processamento de mandioca.

Foram selecionadas, com base nos critérios estabelecidos e discutidos anteriormente, cinco casas-de-farinha de municípios e povoados localizados na zona do APL, pertencentes a microrregião de Arapiraca e mesorregião do Agreste Alagoano. Os municípios que fizeram parte do presente estudo foram: Arapiraca (povoado Canaã), Feira Grande, Girau do Ponciano e Lagoa da Canoa.

Das cinco casas selecionadas, uma foi excluída do estudo por motivo de desistência por parte do proprietário do estabelecimento. O mesmo alegou o receio quanto à reação dos funcionários como motivo da desistência.

4.2. Caracterização do cenário de exposição e análise qualitativa do risco ocupacional

Além da possível exposição ao HCN, outros potenciais riscos a saúde dos processadores de mandioca foram identificados por meio de uma análise, de caráter qualitativo, baseada na simples observação dos ambientes internos, dos trabalhadores e do processo de produção como um todo.

O que se observou na maioria das casas-de-farinha visitadas, inclusive naquelas selecionadas para o presente estudo, foi total descaso com relação aos critérios básicos de higiene e salubridade. De fato, isso pode ser visualizado nas Figuras 10 e 11. A Figura 10 ilustra a etapa de torrefação e evidencia que não há o menor cuidado com relação aos vapores emitidos pelos fornos. Na Figura 11, foi registrada a etapa de lavagem das raízes e percebe-se que há contato direto entre o trabalhador e a água de lavagem.

A água de lavagem, além de conter as impurezas do solo, inicialmente presentes nas raízes, pode conter níveis consideráveis de cianeto dissolvido, uma vez que o descascamento também resulta na degradação de glicosídeos cianogênicos. Sendo assim, a não utilização de botas impermeáveis nesta etapa pode resultar em risco químico e microbiológico.

Figura 10 - Ausência de sistema de exaustão e proximidade entre os trabalhadores e o forno durante a etapa de torrefação.

Figura 11 - Contato direto entre o trabalhador e a água de lavagem durante a etapa de lavagem das raízes

Todas as casas apresentaram, aparentemente, estrutura inadequada principalmente em termos de exaustão.

A Tabela 1 apresenta os parâmetros que, por serem considerados fundamentais na caracterização do cenário de exposição, foram avaliados em cada casa.

Tabela 1 - Parâmetros avaliados para caracterização dos cenários de exposição

Parâmetros avaliados	Casa 1	Casa 2	Casa 3	Casa 4
Produtividade (ton/dia)	15 – 30	15	15 – 20	5
Espaço interno (m ³)	2140	276	843	176
Nº de Fornos	7	6	6	3
Variedade de mandioca	Campina	Campina	Campina	Campina
Destino da manipueira	Terreno	Terreno	Terreno	Terreno

A produtividade, determinada em toneladas de raiz de mandioca processadas por dia, representa um dado importante em termos de exposição. A raiz da mandioca é considerada a fonte primária de HCN, enquanto o processamento promove a liberação da substância, ou seja, quanto maior a quantidade de raiz processada, maior será o potencial de liberação de HCN. Nas quatro casas-de-farinha estudadas, apenas a Casa 4 apresentou uma produtividade nitidamente inferior, o que é compatível com a estrutura da casa. Por outro lado, as casas 1, 2 e 3 apresentaram níveis de produção semelhantes entre si.

O número de fornos e espaço interno de cada casa também são parâmetros determinantes para o potencial de exposição. Foi observado que, embora as casas 1, 2 e 3, apresentem níveis semelhantes de produção, os espaços internos (m³) reduzidos das casas 2 e 3 com desproporcional número de fornos podem representar um risco mais elevado de exposição aos contaminantes atmosféricos nestes dois ambientes.

A grande quantidade de fornos em um espaço fechado e restrito contribui para o aumento de temperatura no interior das unidades. Além da temperatura elevada (30-33°C), outras consequências da estrutura inadequada incluem acúmulo de material particulado no ar (Figura 12) e exposição a ruído elevado gerado pelo triturador.

Figura 12 - Presença de pós dispersos no ambiente interno de uma das casas avaliadas

A variedade de mandioca utilizada em cada casa foi identificada, uma vez que as concentrações de cianeto podem variar consideravelmente entre diferentes cultivares. Não foram encontrados, na literatura, dados de concentração de HCN na variedade Campina, a qual predomina na região. No entanto, considerando que esta variedade é utilizada nas quatro casas de farinha avaliadas, espera-se que este fator não seja um interferente para os níveis de exposição à HCN medidos no presente estudo.

Com relação à jornada de trabalho, os funcionários trabalham em média 8 a 10h diárias e 5 ou 6 dias na semana. Segundo alguns proprietários, dependendo da demanda, esta jornada pode se estender, tendo havido relatos de até 24h seguidas de trabalho.

Os principais pontos críticos levantados a partir desta primeira análise estão esquematizados na Figura 13. Observou-se que a falta de higiene, o calor excessivo e a intensidade de ruído são fatores críticos a serem considerados nestes ambientes, e carecem de avaliações mais aprofundadas.

Figura 13 - Riscos identificados no ambiente interno das casas-de-farinha

4.2.1. Risco de danos auditivos

Estudos indicam que o ruído está comumente presente em ambientes ocupacionais nos quais exposições químicas também ocorrem e os distúrbios auditivos observados nestas circunstâncias são, erroneamente, atribuídos unicamente ao ruído (MORATA, 2002). Fechter et al. (2001) ressaltaram que, embora o ruído seja o fator ambiental que mais contribua para a perda auditiva, num ambiente ocupacional os efeitos adversos causados pelo ruído podem ser potencializados pela exposição concomitante a asfixiantes químicos como o HCN.

Do ponto de vista da Toxicologia Ocupacional, os dados publicados por Fechter et al. (2001) são importantes, uma vez que possibilitaram, experimentalmente, o estabelecimento de uma relação dose-resposta entre exposição ao HCN + ruído e

comprometimento auditivo, a determinação da dose de efeito adverso não observado (NOAEL) e da Concentração de Referência (*Benchmark concentration*). De acordo com o autor, a concentração de *Benchmark* estaria em um intervalo de 0,5 a 4 ppm de HCN, considerando um nível de ruído de 100 dB.

Associando os dados quantitativos de exposição ao HCN nas casas-de-farinha, obtidos no presente estudo, com uma avaliação quantitativa de exposição ao ruído seria possível obter uma estimativa do risco de potencialização dos danos auditivos pelo HCN nesta população de trabalhadores.

Não foi possível, e não é escopo do presente estudo, desenvolver uma avaliação de exposição ao ruído, levando-se em conta todas as variáveis pertinentes como tempo de exposição e níveis médios obtidos em monitorização individual durante toda a jornada. No entanto, foi possível, com auxílio de um decibelímetro fornecido pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, a obtenção de uma estimativa da intensidade de ruído nas casas-de-farinha. As medições foram feitas próximo aos raladores, uma vez que este processo era, nitidamente, a principal fonte de ruído.

O aparelho indicou níveis máximos de 100 decibéis e não foi registrado em nenhuma das casas intensidade inferior a 84 decibéis.

De acordo com a Norma Regulamentadora 15 do Ministério do Trabalho e Emprego, em uma jornada de 8h de trabalho o nível médio de ruído não deve ultrapassar 85 dB, o que indica que a intensidade sonora medida nas casas-de-farinha está elevada e pode, independente da exposição ao HCN, causar danos auditivos aos trabalhadores.

4.3. Avaliação da exposição ao HCN

4.3.1. Avaliação ambiental

A Tabela 2 apresenta os níveis de HCN determinados em amostras de ar das casa-de-farinha, com médias e desvios-padrão dos três dias em cada ponto, assim como os índices de exposição (IEs).

Tabela 2 - Níveis de HCN determinados em amostras de ar de quatro casas-de-farinha na Microrregião de Arapiraca, Alagoas, com as respectivas médias e desvios-padrão de cada ponto.

Amostra	Ponto	Data	Volume (L)	Concentração (mg/m ³)	Índice de exposição ^a
1	Casa 1 – Forno	03/08	46,17	0,442	0,088
2	Casa 1 – Forno	04/08	45,6	0,489	0,098
3	Casa 1 – Forno	05/08	45,6	0,461	0,092
Média ± DP				0,464±0,02	0,093
4	Casa 2 – Forno	03/08	16,15	2,235	0,447
5	Casa 2 – Forno	04/08	30,59	2,233	0,447
6	Casa 2 – Forno	05/08	45,067	1,584	0,317
Média ± DP				2,017±0,37	0,403
7	Casa 3 – Forno	03/08	22,99	2,932	0,586
8	Casa 3 – Forno	04/08	16,91	3,61	0,722
9	Casa 3 – Forno	05/08	19,44	1,77	0,354
Média ± DP				2,770±0,93	0,554
10	Casa 4 – Forno	03/08	47,5	1,61	0,322
11	Casa 4 – Forno	04/08	51,11	0,399	0,080
12	Casa 4 – Forno	05/08	14,63	1,702	0,340
Média ± DP				1,237±0,72	0,247
13	Casa 1 – Ralador	03/08	48	0,488	0,098

14	Casa 1 – Ralador	04/08	42,18	0,654	0,131
15	Casa 1 – Ralador	05/08	36,66	0,597	0,119
Média ± DP				0,579±0,08	0,116
16	Casa 2 – Ralador	03/08	24,6	1,146	0,229
17	Casa 2 – Ralador	04/08	15,3	3,830	0,766
18	Casa 2 – Ralador	05/08	46,754	1,390	0,278
Média ± DP				2,122±1,48	0,424
19	Casa 3 – Ralador	03/08	46,2	1,226	0,245
20	Casa 3 – Ralador	04/08	51,2	0,988	0,198
21	Casa 3 – Ralador	05/08	11,16	7,77	1,554
Média ± DP				3,328±3,85	0,666
22	Casa 4 – Ralador	03/08	49,2	1,40	0,280
23	Casa 4 – Ralador	04/08	53,4	0,375	0,075
24	Casa 4 – Ralador	05/08	48,8	0,510	0,102
Média ± DP				0,762±0,55	0,152
25	Casa 1 – P. Estático	03/08	49,78	2,99	0,598
26	Casa 1 – P. Estático	04/08	45,6	0,507	0,101
27	Casa 1 – P. Estático	05/08	12,35	0,235	0,047
Média ± DP				1,244±1,52	0,249
28	Casa 2 – P. Estático	03/08	45,98	0,987	0,197
29	Casa 2 – P. Estático	04/08	45,79	0,692	0,138
30	Casa 2 – P. Estático	05/08	27,081	2,123	0,425
Média ± DP				1,267±0,75	0,253
31	Casa 3 – P. Estático	03/08	48,64	2,21	0,442
32	Casa 3 – P. Estático	04/08	47,04	1,39	0,278
33	Casa 3 – P. Estático	05/08	46,74	2,33	0,466

Média ± DP				1,976±0,51	0,395
34	Casa 4 – P. Estático	03/08	49,02	1,58	0,316
35	Casa 4 – P. Estático	04/08	52,25	0,957	0,191
36	Casa 4 – P. Estático	05/08	46,55	0,696	0,139
Média ± DP				1,077±0,45	0,216

^aÍndice de exposição: Razão entre concentração determinada e Limite de Exposição Ocupacional de 5 mg/m³ estabelecido pelo NIOSH e ACGIH. Os valores em itálico e negrito representam os de índice de exposição acima de 0,5, Nível de ação - um risco passível de intervenção por meio de ações de Monitoramento do Ambiente de Trabalho, Monitoramento Biológico e de Vigilância da Saúde.

O plano estabelecido para coleta das amostras previa, inicialmente, 4h de coleta por dia que, num fluxo de 0,2 L/min, resultaria em um volume diário de 48 L. No entanto, os dados apresentados na Tabela 2, indicam que algumas amostras tiveram um volume consideravelmente inferior à meta estabelecida. Os tempos reduzidos de coleta resultaram de problemas técnicos em algumas bombas coletoras. Ainda na Tabela 2, observa-se que das cinco amostras que tiveram concentração de HCN acima do nível de ação, quatro apresentam volume reduzido, o que gera uma suspeita de que estes valores aumentados estejam associados a erros de interpretação dos dados de coleta registrados pelas bombas. Nesta condição, o funcionamento das bombas coletoras foi considerado uma limitação técnica do estudo. A exclusão dos valores obtidos a partir de coletas reduzidas seria uma forma de melhorar a relevância dos resultados, mas, devido ao número reduzido de amostras, optou-se por considerar todos os dados e discutir suas limitações.

Das quatro casas avaliadas, a Casa 3 apresentou as maiores médias em todos os pontos, inclusive no ponto estático onde as bombas funcionaram perfeitamente nos três

dias, coletando o volume que havia sido inicialmente planejado, com uma vazão sempre próxima a 0,2 L/min, ou seja, dentro da faixa de calibração.

A Casa 1 apresentou as médias mais baixas, tanto para o forneiro como para o ralador. No ponto estático, a média foi mais elevada devido ao valor de 2,99 mg/m³ obtido no primeiro dia. Este resultado de 2,99 mg/m³, embora isolado, tem um impacto importante na avaliação do risco na Casa 1, pois representa um valor acima do nível de ação, e que foi obtido a partir de uma coleta realizada conforme planejado, sem registro de problemas técnicos.

Em alguns pontos foi observada uma grande variabilidade na concentração atmosférica de HCN entre os três dias, mesmo havendo pouca diferença no volume amostrado. Na Casa 4, onde as bombas tiveram o melhor aproveitamento, observou-se que os três pontos coletados no dia 03/08 apresentaram valores muito próximos: 1,61; 1,4 e 1,58 mg/m³, no entanto, os desvios-padrão, em cada ponto, entre os três dias, foram relativamente elevados.

A Casa 4 apresenta uma peculiaridade relacionada a sua estrutura. É uma casa que, apesar do espaço reduzido, não possui paredes fechadas, possibilitando uma boa circulação de ar. Desta forma, a circulação de ar naquela casa, torna-se um fator climático fundamental na determinação das concentrações atmosféricas de HCN, o que poderia explicar a alta variação entre os três dias e baixa variação entre os pontos num mesmo dia.

A Tabela 3 apresenta os mesmos resultados da Tabela 2, sendo que as médias e desvios-padrão são referentes aos nove pontos monitorados em cada casa durante os três dias.

Tabela 3 - Níveis de HCN determinados em amostras de ar de quatro casas-de-farinha na Microrregião de Arapiraca, Alagoas, com as respectivas médias e desvios-padrão de cada casa.

Amostra	Ponto de coleta	Data	Volume coletado (L)	Concentração de HCN (mg/m ³)	Índice de exposição ^a
1	Casa 1 – Forno	03/ago	46,17	0,44	0,09
2	Casa 1 – Forno	04/ago	45,60	0,49	0,10
3	Casa 1 – Forno	05/ago	45,60	0,46	0,09
13	Casa 1 – Ralador	03/ago	48,00	0,49	0,098
14	Casa 1 – Ralador	04/ago	42,18	0,65	0,13
15	Casa 1 – Ralador	05/ago	36,66	0,60	0,12
25	Casa 1 – Estático	03/ago	49,78	2,99	0,60
26	Casa 1 – Estático	04/ago	45,6	0,51	0,10
27	Casa 1 – Estático	05/ago	12,35	0,23	0,05
Média ± DP				0,76±0,84	0,15
4	Casa 2 – Forno	03/ago	16,15	2,23	0,45
5	Casa 2 – Forno	04/ago	30,59	2,23	0,45
6	Casa 2 – Forno	05/ago	45,07	1,58	0,32
16	Casa 2 – Ralador	03/ago	24,60	1,15	0,23
17	Casa 2 – Ralador	04/ago	15,30	3,83	0,77
18	Casa 2 – Ralador	05/ago	46,75	1,39	0,28
28	Casa 2 – Estático	03/ago	45,98	0,99	0,20
29	Casa 2 – Estático	04/ago	45,79	0,69	0,14
30	Casa 2 – Estático	05/ago	27,08	2,12	0,42

Média ± DP				1,80±0,94	0,36
7	Casa 3 – Forno	03/ago	22,99	2,93	0,59
8	Casa 3 – Forno	04/ago	16,91	3,61	0,72
9	Casa 3 – Forno	05/ago	19,44	1,77	0,35
19	Casa 3 – Ralador	03/ago	46,20	1,23	0,24
20	Casa 3 – Ralador	04/ago	51,20	0,99	0,20
21	Casa 3 – Ralador	05/ago	11,16	7,77	1,55
31	Casa 3 – Estático	03/ago	48,64	2,21	0,44
32	Casa 3 – Estático	04/ago	47,04	1,39	0,28
33	Casa 3 – Estático	05/ago	46,74	2,33	0,47
Média ± DP				2,69±2,08	0,54
10	Casa 4 – Forno	03/ago	47,5	1,61	0,32
11	Casa 4 – Forno	04/ago	51,11	0,40	0,08
12	Casa 4 – Forno	05/ago	14,63	1,70	0,34
22	Casa 4 – Ralador	03/ago	49,20	1,40	0,28
23	Casa 4 – Ralador	04/ago	53,40	0,38	0,08
24	Casa 4 – Ralador	05/ago	48,80	0,51	0,10
34	Casa 4 – Estático	03/ago	49,02	1,58	0,32
35	Casa 4 – Estático	04/ago	52,25	0,96	0,19
36	Casa 4 – Estático	05/ago	46,55	0,70	0,14
Média ± DP				1,03±0,55	0,20

^aÍndice de exposição: Razão entre concentração determinada e Limite de Exposição Ocupacional de 5 mg/m³ estabelecido pelo NIOSH e ACGIH. Os valores em *itálico e negrito* representam os de índice de exposição acima de 0,5, *Nível de ação* - um risco passível de intervenção por meio de ações de Monitoramento do Ambiente de Trabalho, Monitoramento Biológico e de Vigilância da Saúde.

A Figura 14 representa, por meio de um diagrama de blocos, a distribuição das concentrações de HCN medidas no ar de cada casa-de-farinha. Desta forma o gráfico permite visualizar a mediana, os percentis 25 e 75 (quartil superior e inferior, respectivamente) e os valores que mais se distanciam das médias (*outliers*), os quais são representados pelas hastes inferior e superior.

Figura 14 - Níveis de HCN determinados em amostras de ar de quatro casas-de-farinha na Microrregião de Arapiraca, Alagoas.

Comparando-se as médias obtidas nas casas 2 e 3, que apresentaram os níveis mais elevados, observa-se que, embora a Casa 3 tenha apresentado um valor maior, a

diferença não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Provavelmente, isso está relacionado ao desvio padrão mais elevado na Casa 3.

Conforme comentado anteriormente, as casas 2 e 3 apresentam características estruturais que permitem maior potencial de exposição aos contaminantes atmosféricos internos, sobretudo ao HCN. Com produtividade e número de fornos comparáveis a Casa 1, as casas 2 e 3 tendem a concentrar mais os contaminantes gerados durante o processo por apresentarem dimensões consideravelmente reduzidas em relação à Casa 1.

Os fatores considerados determinantes para os níveis de exposição observados em cada casa foram apresentados no item 4.2 (Tabela 1). A casa 1, com espaço interno medido em 2140,11 m³, contendo 7 fornos e processando 15 – 30 toneladas de mandioca/dia apresenta um cenário muito mais adequado se comparado, por exemplo, a casa 3 que mede 843,6 m³, contém 6 fornos e processa 15 – 20 toneladas de mandioca/dia.

Os dados obtidos permitem interpretar que, nas casas-de-farinha analisadas, trabalhar na função de forneiro ou ralador não interfere no potencial de exposição, tendo em vista que, agrupando os valores das quatro casas por ponto a diferença entre as médias de cada ponto não é significativa estatisticamente ($p > 0,05$). Por exemplo, não há diferença entre a média obtida a partir de todas as amostras coletadas em forneiros em relação à média de todas as amostras coletadas em raladores.

O único dado encontrado na literatura referente a níveis de HCN em unidades de processamento de mandioca foi publicado há mais de duas décadas por Akinrele, (1986). Esse autor determinou a concentração de HCN no ar próximo às máquinas

utilizadas nas diferentes etapas do processamento de mandioca em uma instalação de 6000 m³ processando 3,5 toneladas de raiz por dia. O ar próximo a máquina de ralação apresentou uma concentração de 10 ppm de HCN, nível consideravelmente superior às médias obtidas no presente estudo. No entanto, o estudo foi conduzido na Nigéria e diversos fatores, sobretudo a variedade de mandioca, a tecnologia aplicada e diferenças na estratégia de amostragem dificultam a comparação com os dados produzidos na presente investigação.

Os resultados obtidos no presente estudo indicaram níveis baixos quando comparados ao estudo de El Ghawabi et al. (1975), realizado em galvanicas. Esses autores, investigando três indústrias de galvanização, detectaram, níveis de HCN na zona respiratória dentro de uma faixa de 4,2 a 12,4 ppm (4,7 a 13,9 mg/m³). As médias obtidas a partir de doze amostras por indústria foram de 10,375, 6,416 e 8,083 ppm.

Chandra et al. (1980), avaliando a exposição a cianeto também em uma indústria de galvanização, determinou níveis de HCN no ambiente de trabalho em uma faixa 0,2 a 0,8 mg/m³, enquanto na zona respiratória os valores foram de 0,1 a 0,2 mg/m³. Comparando-se os resultados de El Ghawabi et al. (1975) e Chandra et al. (1980) aos dados obtidos nas casa-de-farinha, conclui-se que o processamento de mandioca pode representar um risco por exposição a HCN comparável, senão superior, à indústria de galvanização.

De acordo com ECETOC (2004), níveis de HCN registrados em diversas indústrias de galvanização variaram de 0,001 a 13,9 mg/m³. Este dado remete à existência de fatores diversos que podem influenciar o grau de exposição ao HCN e corrobora a grande variabilidade observada no presente estudo, no qual os níveis variaram de 0,235 a 7,77 mg/m³.

4.4.1.1. Caracterização do risco toxicológico com base nos níveis ambientais de HCN

Das trinta e seis amostras coletadas nas quatro casas-de-farinha durante os três dias de amostragem, cinco (13,8%) apresentaram concentração de ácido cianídrico acima de 50% (2,5 mg/m³) do Limite de Exposição estabelecido pelo NIOSH de 5 mg/m³, resultando em um IE superior ao nível de ação (NA) de 0,5 (Tabela 2). No entanto, com relação à média aritmética dos três dias de coleta, apenas em dois pontos foi obtida concentração acima do NA.

O Limite de Exposição Ocupacional de 5 mg/m³ (4,7 ppm) adotado tanto pelo NIOSH e pela ACGIH, representa um valor “Teto”, o que, conforme discutido anteriormente, significa que esta concentração não deve ser ultrapassada em momento algum da jornada de trabalho.

Apenas uma amostra apresentou concentração de HCN acima do LEO de 5 mg/m³. No entanto, é importante salientar que os valores obtidos na presente investigação representam a média ponderada das concentrações de HCN no ar num período máximo de 4h de coleta. Sendo assim, os valores situados abaixo do limite de 5 mg/m³ não excluem a possibilidade de que, em algum momento crítico do processamento da mandioca, tenha havido liberação aumentada de ácido cianídrico resultando em concentrações atmosféricas acima do LEO.

Comparando-se a média das nove amostras (Tabela 3) obtidas em cada casa com o nível de ação de 2,5 mg/m³ por meio do teste *t-Student*, foi observado que as casas 1, 2 e 4 apresentaram níveis significativamente inferiores ($p < 0,001$, $p < 0,001$ e $p < 0,05$, respectivamente) ao NA. A Casa 3, embora tenha apresentado uma média acima do

nível de ação, este aumento não foi estatisticamente significativo ($p>0,05$). Em virtude do baixo número de amostras por ponto ($n=3$) e da grande variabilidade nas concentrações, não foi possível atribuir uma significância estatística aos resultados obtidos em cada ponto.

Comparando-se os valores obtidos nas casas-de-farinha com os limites adotados por alguns países europeus mais restritivos como França (2,2 mg/m³), Alemanha (2,1 mg/m³) e Suíça (2,0 mg/m³), a interpretação dos resultados seria mais preocupante, uma vez que muitos valores estiveram próximos, ou até mesmo acima dos limites (ECETOC, 2007).

Considerando o limite de exposição de 2 mg/m³, as casas 2 e 3 apresentaram médias acima do NA ($p<0,05$), enquanto na casa 4, embora a média tenha sido superior ao NA, a diferença não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$). A média obtida na Casa 1, esteve abaixo do NA, mas também sem significância do ponto de vista estatístico ($p>0,05$).

No Brasil, a NR-15, de 1978, adota um Limite de Tolerância (LT) para o ácido cianídrico de 9 mg/m³, valor referente à média ponderada pelo tempo. Os níveis obtidos nas casas-de-farinha avaliadas estiveram abaixo do LT de 9 mg/m³ e nenhuma das médias dos três dias de coleta ultrapassou o NA de 4,5 mg/m³. Desta forma, tomando como base o limite estabelecido no Brasil, a interpretação seria que as casas-de-farinha avaliadas não oferecem risco à saúde do trabalhador decorrente de exposição ao HCN.

Nesta condição, observa-se que as diferenças nas regulamentações de diversos países podem resultar em diferentes percepções do risco. Com base nos limites apontados acima e nas concentrações determinadas no presente estudo, no Brasil, os

trabalhadores de casas-de-farinha não estão expostos a níveis de HCN capazes de produzir efeitos adversos. No entanto, se considerarmos os limites estabelecidos por entidades americanas como ACGIH e NIOSH, ou por outros países europeus mais restritivos, há risco de efeitos adversos, o que remete a uma necessidade imediata de intervenção.

Foram encontrados apenas dois estudos na literatura que resultaram na determinação de Concentrações de Referência para o HCN (FECHTER et al., 2001; EL GHAWABI et al., 1975).

De acordo com Fechter et al. (2001), a concentração de *Benchmark* para o HCN potencializar os danos auditivos causados pelo ruído no ambiente de trabalho estaria em um intervalo de 0,5 a 4 ppm, considerando um nível de ruído de 100 dB. Comparando os níveis de HCN quantificados no presente estudo com a concentração de *Benchmark* calculada por Fechter et al. (2001), conclui-se que os trabalhadores estão expostos a níveis de HCN capazes de potencializar os danos ocasionados pelo ruído, o qual também foi detectado.

O estudo de El Ghawabi et al. (1975) foi utilizado pela U.S. EPA – *Environmental Protection Agency* para determinação de uma concentração de referência para exposição crônica contínua ao ácido cianídrico (USEPA, 2010). O limite de 0,0008 mg/m³ foi estabelecido com base nos sintomas de sistema nervoso central e efeitos adversos a glândula tireóide observados em indivíduos expostos ocupacionalmente a níveis $\geq 6,416$ ppm ou 7,07 mgHCN/m³.

A dose de 7,07 mg HCN/m³ foi considerada pela EPA como sendo o nível mais baixo de efeito observado (LOAEL - *Lowest Observed Adverse Effect Level*) e, após

aplicação dos fatores de incerteza referentes à falta de um NOAEL (10), à variação entre indivíduos de uma mesma espécie (10), à extrapolação de uma exposição subcrônica de 5 – 15 anos para uma exposição crônica (3) e à carência de dados sobre exposição inalatória ao cianeto (10), obteve-se o valor de 0,0008 mg/m³.

A comparação deste limite com os resultados obtidos na presente investigação não se aplica, uma vez que o valor de 0,0008 mg/m³ foi estabelecido considerando-se uma exposição contínua por todo o período de vida do indivíduo, o que não condiz com a realidade de trabalhadores expostos ocupacionalmente.

4.3.2. Avaliação biológica

A Tabela 4 apresenta os níveis de tiocianato urinário, em mg/g de creatinina, dos trabalhadores de casas-de-farinha. Nota-se que, embora esforços tenham sido feitos na tentativa de se obter amostras antes e após a jornada de trabalho e, desta forma, excluir a possibilidade de interferências de exposições extra ocupacionais no resultado da avaliação, a dificuldade de acesso aos locais de estudo e, principalmente, a falta de colaboração por parte de vários trabalhadores prejudicaram a amostragem.

Tabela 4 - Níveis de tiocianato (SCN) em mg/g creatinina determinados em amostras de urina de trabalhadores de quatro casas-de-farinha na Microrregião de Arapiraca, Alagoas.

Casa	Amostra	SCN (Pré-jornada)	SCN (Pós-jornada)	Razão (pós/pré)	Hábito de fumar
1	1	Ausente	Ausente	-	Não fumante
	2	-	10,3	-	Fumante
	3	Ausente	Ausente	-	Não fumante
	4	-	2	-	Não fumante
	5	-	7,2	-	Não fumante
	6	-	4,7	-	Não fumante
	7	Ausente	Ausente	-	Não fumante
	8	4	5,5	1,38	Não fumante
	9	7,4	-	-	Não fumante
	10	-	3	-	Não fumante

	11	Ausente	Ausente	-	Não fumante
	12	-	-	-	Fumante
	13	2,3	1,8	0,78	Não Fumante
	14	-	6,8	-	Não Fumante
	15	-	11,4	-	Não Fumante
	16**	-	4,3	-	Não fumante
	17	-	7,5	-	Não fumante
	18	Ausente	Ausente	-	Não fumante
	19	-	4,8	-	Não fumante
2	20*	1,3	-	-	
	21	11	2,9	0,26	Não fumante
	22	8,8	8,6	0,98	Não fumante
	23	17	4,8	0,28	Não fumante
	24	34,9	48,1	1,38	Fumante
	25	7,3	3,6	0,49	Fumante
	26	20,1	8,6	0,43	Fumante
3	27	Ausente	Ausente	-	
	28	2,3	-	-	Não fumante
	29	6,1	2,8	0,46	Fumante
	30	Ausente	Ausente	-	Fumante
	32	Ausente	Ausente	-	
	33	13,2	-	-	
	34	22,5	23,6	1,05	Fumante
4	35	11,3	17,7	1,57	Fumante
	36	-	2,8	-	
	Média±DP	10,62±9,54	8,76±10,48	0,83	
	Valores de referência***	≤ 2,5	≤ 2,5		
	IBMP	≤ 6,0	≤ 6,0		

*Filho do dono da casa - trabalha apenas quando algum funcionário falta

**Funcionário parado há três dias

***Valor de referência, para não fumantes, adotado pelo Laboratório Toxikon

Índice Biológico Máximo Permitido (IBMP) – Representa a concentração de tiocianato na urina que, sendo superada, indica exposição excessiva ao agente químico.

Observa-se que as médias, pré-jornada e pós-jornada, estiveram muito acima do valor de referência, para não fumantes, adotado pelo laboratório analítico. O índice biológico máximo permitido (IBMP) para não fumantes, que representa uma exposição inaceitável do ponto de vista toxicológico, também foi superado tanto nas amostras pré como pós-jornada.

Analisando os valores individualmente, observa-se que 81,5% dos trabalhadores apresentaram nível de tiocianato na urina acima do valor de referência para não fumantes. Quando o parâmetro de referência é o IBMP de 6 mg/g creatinina, 57,7% dos trabalhadores apresentaram nível superior ao índice.

A Tabela 5 apresenta os níveis de SCN urinário dos trabalhadores, após exclusão dos valores obtidos em fumantes. Nota-se que as médias permanecem acima do valor de referência para não fumantes e que 83,3% dos trabalhadores apresentaram nível acima da referência. Em relação ao IBMP, 50% dos trabalhadores apresentaram valores superiores ao índice.

Tabela 5 - - Níveis de tiocianato (SCN), em mg/g creatinina, determinados em amostras de urina de trabalhadores NÃO fumantes de quatro casas-de-farinha na Microrregião de Arapiraca, Alagoas.

Amostra	SCN (Pré-jornada)	SCN (Pós-jornada)	Razão (pós/pré)
4	-	2	NA
5	-	7,2	NA
6	-	4,7	NA
8	4	5,5	1,38
9	7,4	-	NA
10	-	3	NA
13	2,3	1,8	0,78
14	-	6,8	NA
15	-	11,4	NA
16*	-	4,3	NA
17	-	7,5	NA
19	-	4,8	NA
21	11	2,9	0,26
22	8,8	8,6	0,98
23	17	4,8	0,28
28	2,3	-	NA
33	13,2	-	NA
36	-	2,8	NA
Média±DP	8,25±5,33	5,21±2,69	0,7
Valores de referência	≤ 2,5	≤ 2,5	
IBMP	≤ 6,0	≤ 6,0	

*Funcionário parado há três dias

A Tabela 6 apresenta os níveis de SCN urinário apenas em trabalhadores fumantes apenas. Nota-se que os níveis estão muito acima do que foi observado em não fumantes, e isso está relacionado, certamente, com a exposição extra ao cianeto oriundo do cigarro.

Tabela 6 - Níveis de tiocianato (SCN), em mg/g creatinina, determinados em amostras de urina de trabalhadores fumantes de quatro casas-de-farinha na Microrregião de Arapiraca, Alagoas.

Amostra	SCN (Pré-jornada)	SCN (Pós-jornada)	Razão (pós/pré)
1	-	10,3	NA
2	34,9	48,1	1,38
3	7,3	3,6	0,49
4	20,1	8,6	0,43
5	6,1	2,8	0,46
6	22,5	23,6	1,05
7	11,3	17,7	1,57
Média	17,03	16,39	
DESVPAD	11,01	15,84	

Embora o tabagismo tenha contribuído significativamente para elevação da média da população, ele não interferiu significativamente no resultado da avaliação biológica, tendo em vista que, após exclusão dos fumantes, as proporções de valores acima dos limites se mantiveram.

A Tabela 3 indica, ainda, que apenas 11 trabalhadores dos 27 avaliados coletaram urina pré e pós-jornada e que, destes, apenas 4 apresentaram aumento na concentração de SCN na 2ª amostra em relação a 1ª (amostras 8, 24, 34 e 35). Do ponto

de vista da exposição ocupacional, espera-se que a 2ª amostra apresente nível mais elevado, no entanto, como a coleta foi conduzida na 3ª jornada de trabalho semanal, as exposições dos dois primeiros dias, por algum motivo, podem ter sido superior a do 3º dia. Por exemplo, uma das observações discutidas anteriormente é que condições climáticas, como circulação do ar, podem causar diferenças de exposição entre um dia e outro. Outra hipótese para este resultado seria uma possível exposição extra-ocupacional, além do cigarro, tendo em vista que a redução da concentração também foi observada entre os não-fumantes. Dentre as possibilidades, será discutida mais adiante a questão da manipueira, resíduo líquido com elevada carga de cianeto dissolvido, que é frequentemente despejada livremente nos terrenos circunvizinhos às casas-de-farinha.

O teste de correlação de Pearson indicou que as médias de tiocianato urinário, em cada casa, correlacionam-se positivamente com as médias de HCN no ar ($r=0,94$), no entanto, o número reduzido de casas avaliadas torna este dado pouco relevante do ponto de vista estatístico ($p>0,05$).

O Laboratório Toxikon, que realizou a determinação do tiocianato, gentilmente, forneceu um resumo estatístico referente aos resultados de tiocianato urinário medidos no laboratório no período de 01/01/08 a 14/05/10. Estes resultados foram utilizados como um controle laboratorial.

A média obtida na presente avaliação, incluindo todas as amostras pré e pós-jornada ($n=38$), foi de 9,56 mg/g creatinina com um desvio-padrão de 9,61 e uma faixa de resultados entre 1,8 e 48,1 mg/g creatinina. Segundo o resumo estatístico fornecido pelo laboratório, a média das dosagens de tiocianato realizadas entre 01/01/08 a 14/05/10 ($n=134$) é de 2,85 mg/g creatinina com um desvio-padrão de 1,34 e uma faixa de valores entre 0,5 e 8,8 mg/g creatinina.

A comparação das médias, por meio do teste t de *Student*, indica que os níveis de tiocianato urinário nos trabalhadores de casa-de-farinha incluídos no estudo são superiores aos níveis de tiocianato urinário obtidos em análises realizadas pelo laboratório Toxikon no período de 01/01/08 a 14/05/10 ($p < 0,001$). É importante ressaltar que o resumo estatístico fornecido pelo laboratório, embora esteja representando um grupo “controle”, é composto por trabalhadores de indústrias diversas para as quais se suspeita haver exposição a cianeto, o que fortalece, ainda mais, a evidência de que a população avaliada no presente estudo está exposta a níveis elevados de cianeto.

Chandra et al. (1980), avaliando a exposição de trabalhadores de uma galvanica ao cianeto, determinaram os níveis de tiocianato em urina de 24h. As médias obtidas foram de 0,62 mg/100mL em fumantes e 0,57 mg/100 mL em não fumantes. Após conversão dos valores obtidos no presente estudo, de mg/g de creatinina para mg/100 mL, foi obtida uma média em fumantes de 1,5 mg/100 mL e em não fumantes de 0,8 mg/100 mL, níveis superiores aos obtidos por Chandra et al. (1980). É importante ressaltar que Chandra et al. (1980) evidenciaram exposição ocupacional ao cianeto, uma vez que obtiveram diferença estatisticamente significativa entre os trabalhadores e o grupo controle, quanto aos níveis de tiocianato urinário.

Em outro estudo, esses mesmos autores avaliaram a exposição de trabalhadores de duas fábricas de galvanização na Índia ao cianeto (CHANDRA et al., 1988 apud ECETOC, 2004). O tiocianato urinário, esteve entre 0,1 e 8 mg/L, em uma fábrica, e entre 0,22 e 5,23 mg/L em outra. Os autores avaliaram fumantes e não fumantes em um mesmo grupo (CHANDRA et al., 1988 apud ECETOC, 2004). Comparados a uma

média total de 9,9 mg/L, obtida na presente investigação, os níveis de tiocianato urinário publicados por Chandra et al. (1988) foram baixos.

Os níveis de tiocianato urinário determinados no presente estudo também foram superiores aos níveis determinados por Santos et al. (1990) que obtiveram, em trabalhadores de galvanicas na cidade de São Paulo, concentrações médias de 7,76 e 9,9 mg/L em não fumantes e fumantes, respectivamente.

Por outro lado, os níveis de tiocianato urinário determinados no presente estudo são comparáveis aos níveis determinados por Okafor (2004), que encontrou valores médios de 9,48, 8,7 e 7,46 mg/L em trabalhadoras não-fumantes de três unidades de processamento de mandioca na África. Considerando a média dos valores das três unidades africanas (de 8,54 mg/L), observa-se que esta está próxima da média de 8 mg/L obtida na presente investigação, para não fumantes.

Okafor et al. (2001), obtiveram uma média de tiocianato urinário de 153,5 µmol/L em trabalhadoras de processamento de mandioca. Este valor equivale à aproximadamente 8,7 mg/L, média também próxima aos 8 mg/L obtidos no presente estudo.

Fatores como sexo, etnia e metodologia de quantificação, certamente, comprometem a comparação entre os estudos publicados por Okafor, na África, e o presente estudo, realizado no agreste brasileiro. No entanto, a concordância entre os resultados, em termos de SCN urinário, é algo que deve ser levado em consideração. Deve-se ressaltar, ainda, que as populações avaliadas na África apresentam um hábito alimentar que inclui subprodutos mal processados da mandioca como principal item, o que significa que os trabalhadores avaliados por Okafor recebem uma carga extra de

cianeto oriunda da alimentação. Esta exposição alimentar não é esperada no Brasil, uma vez que o processamento brasileiro é capaz de reduzir o cianeto da raiz a níveis insignificantes do ponto de vista toxicológico.

De acordo com ECETOC (2004), em humanos, os níveis fisiológicos de tiocianato na urina podem variar entre 2,1 e 12 mg/L em não fumantes e entre 3 e 17,5 mg/L em fumantes. No presente estudo, os níveis em não fumantes estiveram entre 1,29 e 21,12 mg/L enquanto que, em fumantes, os valores foram de 7,93 a 31,41. A análise individual dos dados indica que alguns trabalhadores estão expostos a níveis de cianeto muito acima da média esperada em termos fisiológicos.

4.3.3. Exposição extra ocupacional

A possibilidade de exposição ao cianeto fora do ambiente de trabalho nas casas-de-farinha foi evidenciada pelos elevados níveis de tiocianato em amostras pré-jornada, comparados as amostras pós jornada e em amostras de trabalhadores que, no período da coleta, estavam afastados.

Aplicando a fórmula proposta por ECETOC (2004) para estimativa da concentração de cianeto no ar com base nos níveis de tiocianato na urina, conclui-se que, com uma média de 8 mgSCN/L de urina, a concentração de HCN ao qual os trabalhadores de casas de farinha estariam expostos no ambiente de trabalho estaria em torno de 4 mg/m³.

As médias obtidas nas casas de farinha, após a avaliação ambiental, estiveram significativamente abaixo dos 4 mg/m³. Embora as avaliações, ambiental e biológica, tenham sido conduzidas em momentos distintos, esta diferença entre a estimativa e o

valor quantificado não deixa de ser uma evidência de que a população avaliada está exposta ao cianeto através de outras fontes.

Uma hipótese a ser considerada é a contaminação do solo e, possivelmente, de lençóis freáticos, causada pela liberação da manipueira, gerada durante o processamento da mandioca, para terrenos próximos. A manipueira é um resíduo líquido com elevados teores de cianeto que costuma ser despejado diretamente para meio ambiente. O resultado deste destino inadequado é a possibilidade de intoxicação de animais e plantas que habitam aquela região, além da contaminação do solo, dos corpos hídricos e do ar.

O destino do cianeto liberado para o ambiente junto com a manipueira depende de diversos fatores e esse processo já foi discutido de forma mais detalhada no item 1.3.2. Uma possibilidade que precisa ser avaliada é a de contaminação da água de consumo da população pela manipueira despejada diretamente no solo, uma vez que o cianeto, após infiltração, se torna mais persistente.

4.4. Avaliação laboratorial das amostras de sangue

Os resultados dos exames laboratoriais indicaram aumento da fosfatase alcalina no grupo de trabalhadores de casas-de-farinha com uma prevalência de 93,5%. Os valores de AST estiveram aumentados em 30% da população estudada, enquanto nos demais parâmetros não foram observadas alterações significativas (Tabela 7).

Kumar et al. (1992- apud ECETOC (2004)) também encontraram alteração da fosfatase alcalina em trabalhadores expostos ao cianeto. Os autores avaliaram uma série de parâmetros clínicos e laboratoriais em trabalhadores de uma indústria de galvanização, onde foi observado aumento na atividade sérica de fosfatase alcalina em 10 trabalhadores, dos 15 avaliados. A falta de dados de exposição limita a obtenção de

uma conclusão a respeito da associação entre os efeitos observados e a exposição a cianeto neste estudo.

Tabela 7 - Valores médios dos parâmetros bioquímicos sanguíneos determinados em trabalhadores de casas-de-farinha (expostos ao HCN) com seus respectivos desvios-padrão (DP) e valores de referência.

Parâmetro	Trabalhadores expostos (média $\pm$ DP) (n=31)	Valor de referência
AST (U/L)	37,43 $\pm$ 14,69	$\leq$ 37,43
ALT (U/L)	19,29 $\pm$ 8,55	$\leq$ 45,00
Fosfatase alcalina (U/L)	240,43 $\pm$ 80,17	50,00 – 136,00
Proteínas totais (g/dL)	6,99 $\pm$ 0,41	6,00 – 8,00
Albumina Sérica (g/dL)	4,61 $\pm$ 0,21	3,50 – 5,50
T₃ (ng/mL)	1,15 $\pm$ 0,19	0,60 – 2,15
T₄ (ng/dL)	1,13 $\pm$ 0,12	0,61 – 1,01
TSH (uUI/mL)	2,35 $\pm$ 0,83	0,34 – 4,11

Os estudos publicados por Okolie & Osagie (1999) e Okolie & Osagie (2000) evidenciaram aumento da fosfatase alcalina sérica em coelhos expostos cronicamente ao

cianeto de potássio por via oral. De acordo com esses autores, a fosfatase alcalina está, praticamente, em todos os tecidos, mais especificamente na superfície das membranas celulares ou no interior das mesmas. Como os danos celulares associados à hipóxia são mediados pelo aumento da permeabilidade de membrana, a localização da fosfatase alcalina no interior destas membranas a torna altamente suscetível à liberação em casos de lesão induzida por cianetos. Este mecanismo foi utilizado pelos autores para justificar a diminuição na atividade tecidual da fosfatase alcalina, seguida pelo aumento na atividade sérica desta enzima.

O aumento na atividade sérica de AST em indivíduos expostos ao HCN foi evidenciado por Okafor et al. (2002). Os autores encontraram esta alteração em 40% das amostras provenientes de processadores de mandioca. Este tipo de alteração, a exemplo da fosfatase alcalina, é indicativo de danos hepáticos, e pode estar associada a outras exposições além do cianeto.

Poucos dados da literatura revisada associam exposição a cianeto às alterações bioquímicas observadas nesta avaliação. Desta forma, acredita-se que o consumo excessivo de bebidas alcoólicas seja o principal fator etiológico. Mas esta relação causal ainda não está bem estabelecida.

Foi observada uma correlação moderadamente negativa ($r = -0,37$) entre os níveis de T3 e os níveis de tiocianato urinário, o que é compatível com o mecanismo de inibição da captação de iodo do tiocianato e conseqüente redução na síntese de hormônios da tireóide. Apesar da importância biológica, esta correlação não foi significativa do ponto de vista estatístico ($p > 0,05$).

4.5. Avaliação clínica

4.5.1. Questionário Ocupacional

A Tabela 8 apresenta algumas informações importantes obtidas por meio do questionário ocupacional. No total, vinte e sete trabalhadores estiveram disponíveis para a avaliação clínica e percebe-se que a população é composta basicamente por indivíduos com idade entre 16 e 42 anos, de cor parda ou negra e com baixo grau de escolaridade. De acordo com as respostas, o grau de escolaridade máximo registrado foi o de 1º grau completo, sendo que, seis dos vinte e sete entrevistados (22,2%) nunca frequentaram a escola e se disseram analfabetos.

Com relação ao consumo de tabaco, 59% dos entrevistados se dizem não fumantes. Um dado relevante é que os fumantes consomem, além do cigarro comercial (convencional), o cigarro conhecido como de palha, composto basicamente por um punhado de fumo envolvido por uma palha de milho ou algo semelhante.

Com relação ao consumo de bebidas alcoólicas, 85,1% da população entrevistada se diz consumidora. A frequência de consumo varia entre 1 e 3 vezes por semana e, a maioria dos alcoolistas, relataram consumir além de cerveja (em maior quantidade), bebidas destiladas como cachaça, vodca. entre outras. Este dado é importante pois pode estar relacionado à alta prevalência de níveis séricos elevados de fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase.

Tabela 8 - Informações obtidas por meio da aplicação do questionário ocupacional

Trabalhador	Idade (anos)	Cor	Escolaridade	Tabagista	Etilismo
1	28	Pardo	1º grau incompleto	Não	Sim
2	19	Pardo	1º grau incompleto	Não	Sim
3	32	Negro	1º grau incompleto	Não	Sim
4	40	Negro	Analfabeto	Sim	Sim
5	30	Pardo	1º grau incompleto	Não	Sim
6	26	Negro	1º grau incompleto	Sim	Sim
7	21	Pardo	1º grau incompleto	Não	Sim
8	25	Pardo	1º grau incompleto	Não	Sim
9	16	Pardo	1º grau 5 série em curso	Sim	Sim
10	16	Pardo	1º grau 5 série em curso	Sim	Sim
11	22	Pardo	1º grau completo	Não	Não
12	18	Negro	1º grau incompleto	Não	Sim
13	20	Pardo	1º grau completo	Não	Não
14	24	Pardo	1º grau incompleto	Sim	Sim
15	32	Pardo	Analfabeto	Não	Sim
16	20	Branco	1º grau completo	Sim	Sim
17	37	Branco	Analfabeto	Sim	Sim
18	36	Pardo	Analfabeto	Sim	Sim
19	23	Pardo	1º grau incompleto	Sim	Sim
20	42	Pardo	1º grau incompleto	Sim	Sim
21	32	Pardo	1º grau incompleto	Não	Sim
22	30	Negro	Analfabeto	Não	Não
23	28	Pardo	1º grau incompleto	Não	Sim
24	34	Branco	Analfabeto	Não	Sim
25	36	Pardo	1º grau incompleto	ex fumante	ex-etilista (há 8 meses)
26	23	Pardo	1º grau incompleto	Não	Sim
27	41	Pardo	1º grau incompleto	Não	Sim

4.5.2. Exame físico

Não foram identificadas, ao exame físico, alterações características de exposição crônica ao HCN, com base no que tem sido observado na literatura. O aumento da glândula tireóide, que seria um achado condizente com a exposição crônica ao HCN não

foi verificado em nenhum dos trabalhadores examinados e este resultado está de acordo com as dosagens séricas de T₃, T₄ e TSH dentro da normalidade.

Aproximadamente 15% dos trabalhadores avaliados apresentaram problemas de hérnia umbilical, supra umbilical e/ou inguinal que, provavelmente, está relacionada ao esforço físico elevado no trabalho (carregamento de peso). Outra alteração detectada e associada às condições de trabalho foi o rompimento de membrana timpânica diagnosticado em quatro dos vinte e sete trabalhadores. Conforme discutido anteriormente, a intensidade de ruído elevada é uma das exposições consideradas críticas nas casas-de-farinha avaliadas e pode ser a causa dos danos auditivos observados.

Outros problemas observados, como carie dentária, detectada na maioria dos trabalhadores avaliados, e dermatoses diversas foram associados aos maus hábitos de higiene pessoal.

4.6. Medidas de gerenciamento do risco toxicológico

Com base na detecção de HCN, em baixas concentrações, no ar interno das casas-de-farinha, recomenda-se como medida principal de gerenciamento do risco toxicológico, que alterações estruturais sejam realizadas, de modo a permitir o aumento da ventilação no interior das casas, sobretudo nas casas 2 e 3, onde se observou os piores cenários. Esta medida, obviamente, deverá ser gerenciada e monitorada por profissionais especializados.

Iniciativas de conscientização desta população são outras medidas que certamente contribuirão para redução dos riscos de intoxicação. Hábitos comumente

observados como: consumo de alimentos, bebidas e fumo no interior das instalações devem ser coibidos, pois contribuem para o aumento da exposição e podem aumentar consideravelmente o risco de intoxicação aguda. Medidas básicas de higiene como lavar as mãos antes de comer, beber ou fumar também podem ser efetivas para redução da exposição.

Os trabalhadores das casas-de-farinha devem estar cientes dos sintomas característicos de exposição a baixas doses de HCN e devem ser orientados a interromper as atividades imediatamente caso incidentes venham a ocorrer.

4.7. Comunicação do risco

No dia 26 de novembro de 2010 foi realizado, no Auditório do SEBRAE de Arapiraca, o Fórum da Mandioca, evento que reuniu produtores, donos de casas-de-farinha, consultores e outros profissionais envolvidos com a cadeia produtiva da mandioca. Na oportunidade, foram apresentados e discutidos os resultados parciais obtidos no projeto “Avaliação da exposição de trabalhadores de casas-de-farinha ao ácido cianídrico proveniente da mandioca, *Manihot esculenta*, Crantz, no Agreste Alagoano”. Além disso, planeja-se uma visita final as casas-de-farinha para apresentação dos resultados deste trabalho. Bem como sugestões para implementação de melhorias.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que trabalhadores de casas-de-farinha estão expostos cronicamente ao ácido cianídrico (HCN) devido à liberação deste gás durante o processamento da mandioca.

Considerando os limites de exposição ocupacional estabelecidos pelo NIOSH e ACGIH, conclui-se que há necessidade de implementação de medidas de gerenciamento do risco nas casas-de-farinha avaliadas, uma vez que este nível de exposição a HCN pode resultar na ocorrência de efeitos adversos à saúde dos trabalhadores.

A monitorização biológica, realizada por meio da determinação de tiocianato na urina, evidenciou que os trabalhadores das casas-de-farinha estão expostos a níveis elevados de cianeto em relação aos dados da literatura. No entanto não foi possível, com base nos valores pré-jornada e pós-jornada, concluir que a exposição é exclusivamente ocupacional e, por isso, foi levantada a hipótese de exposição a cianeto fora do ambiente de trabalho.

Os dados obtidos por meio das análises de sangue indicaram que os trabalhadores das casas-de-farinha avaliadas, apresentam atividade sérica aumentada para fosfatase alcalina, com uma prevalência de 93,5%, e para aspartato aminotransferase (AST), com uma prevalência de 30%. Estas alterações podem estar associadas ao elevado consumo de bebida alcoólica, registrado nesta população, por meio do questionário ocupacional.

A avaliação clínica não detectou nenhuma alteração característica de exposição crônica ao HCN. As principais alterações observadas e associadas diretamente ao ambiente de trabalho foram hérnia e rompimento de membrana timpânica. Estas

alterações podem estar relacionadas ao carregamento de peso e exposição ao ruído, respectivamente.

A ocorrência de alteração enzimática em indivíduos que não trabalham em casa-de-farinha, mas que residem nas vizinhanças, associada aos níveis de tiocianato urinário mais elevados em amostras pré jornada em relação a pós jornada, são evidências de que há exposição a cianeto extra ocupacional. Sendo assim, faz-se necessário uma avaliação de exposição mais ampla incluindo, por exemplo, níveis de cianeto nas águas que abastecem estas comunidades.

Como medidas de gerenciamento do risco toxicológico foram propostas: 1) mudanças estruturais que permitam aumento da circulação de ar no interior das casas-de-farinha e 2) promoção de trabalhos de conscientização dos trabalhadores quanto às medidas básicas de higiene e quanto aos sintomas de intoxicação.

6. RECOMENDAÇÕES

Recomenda-se que outros estudos voltados para exposição de trabalhadores de casas-de-farinha ao HCN sejam conduzidos no intuito de se obter uma estimativa de exposição mais consistente, principalmente, levando-se em consideração as limitações metodológicas apontadas e discutidas no presente estudo.

O “n” amostral foi uma das principais limitações do presente estudo e recomenda-se, para as próximas investigações, que tentativas sejam feitas no intuito de se obter um número maior de trabalhadores e, sobretudo, de casas-de-farinha.

Recomenda-se que seja avaliado o destino da *maniupeira*, resíduo líquido do processamento da mandioca, e a possibilidade de contaminação da água de consumo dos habitantes vizinhos às casas-de-farinha, o que representaria uma fonte de exposição a cianeto extra ocupacional.

7. REFERÊNCIAS

AKINRELE I.A. (1986). Hydrocyanic acid hazard during large scale cassava processing. *Trop. Sci.* 26: 59 –65.

AMORIM, Sara Lucena, MEDEIROS, Rosane M.T. and RIET-CORREA, Franklin. Experimental poisoning by *Manihot glaziovii* (Euphorbiaceae) in goats. *Pesq. Vet Bras.* [online]. July/Sept. 2005, vol.25, no.3, p.179-187.

AOH-BOHS – Editorial. British Occupational Hygiene Society. REACH – how is it going? *Annals of Occupational Hygiene*. Vol 54, No. 1, pp. 1 – 4, 2010.

ATSDR – Agency for Toxic Substances and Disease Registry. US DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, Toxicological Profile for Cyanide, 2006.

AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A.M. As Bases Toxicológicas da Ecotoxicologia. 1 ed. São Carlos: RiMa, 2004 – São Paulo: Intertox, 2004.

BAINBRIDGE, Z., HARDING, S., FRENCH, L., KAPINGA, R., AND WESTBY, A., (1998). A study of the role of tissue disruption in the removal of cyanogens during cassava root processing. *Food Chemistry* **62** (3): 291-297.

BALLANTYNE B. 1983 The influence of exposure route and species on the acute lethal toxicity and tissue concentrations of cyanide. In: Hayes AW, Schnell RC, Miya TS, eds. *Developments in the science and practice of toxicology*. New York, NY: Elsevier Science Publishers, 583-586.

BANERJEE KK, BISHAYEE B, MARIMUTHU P (1997) Evaluation of cyanide exposure and its effect on thyroid function of workers in a cable industry. *Journal of Occupational Medicine*, 39:255 – 260.

BLANC, P.; HOGAN, M.; MALLIN, K.; HRYHORCZUK, D.; HESSL, S.; BERNARD, B. **Cyanide intoxication among silver-reclaiming workers**. *JAMA* 253:367-371. 1985.

BRAUER, VF; BELOW, H; KRAMER, A; ET AL. (2006) The role of thiocyanate in the etiology of goiter in an industrial metropolitan area. *Eur J Endocrinol* 154(2):229–235.

BRASIL, Ministério do Trabalho. *Portaria ministerial número 3214, normas regulamentadoras número 1 a 28 e anexos*. Brasília (DF): Diário Oficial da União, 28/12/1978.

BURGESS, W. A. Identificação de Possíveis Riscos à Saúde do Trabalhador nos Diversos Processos Industriais. Belo Horizonte: Ergo Editora, 1997.

CAGNON, J. R.; CEREDA, M. P.; PANTAROTTO, S. In Cd-rom. **Série: Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas**. Vol.2 – Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas. Fundação Cargill. Ago/2002.

CARDOSO, A.P.; MIRIONE, E.; ERNESTO, M.; MASSAZA, F.; CLIFF, J.; HAQUE, M.R.; BRADBURY, J.H. **Processing of cassava roots to remove cyanogens**. *Journal of Food Composition and Analysis*. v.18, p.451-460, 2005.

CETESB, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, ligada à Secretaria do Meio Ambiente do governo de São Paulo. Informação Técnica nº 002/02/EERT. Assunto: Mandioca. 2002.

CHISTÉ, R.C.; COHEN, K.O.; MATHIAS, E.A.; OLIVEIRA, S.S. **Quantificação de cianeto total nas etapas de processamento das farinhas de mandioca dos grupos seca e d'água**. *Acta Amazonica*. vol. 40(1) 2010: 221 – 226.

CHANDRA H, GUPTA BN, GHARGAVA SK, et al. 1980. Chronic cyanide exposure: A biochemical and industrial hygiene study. *J Anal Toxicol* 4:161-165.

Doll, R.; Hill, A. B. (1950). **Smoking and Carcinoma of the Lung**. *British Medical Journal*. 2 (4682): 739–748.

ECETOC (2004) *Hydrogen cyanide, sodium and potassium cyanides and acetone cyanohydrin*. Brussels, European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, in press (ECETOC Joint Assessment of Commodity Chemicals).

EL GHAWABI SH, GAAFAR MA, EL-SAHARTI AA, et al. 1975. Chronic cyanide exposure: A clinical, radioisotope, and laboratory study. Br J Ind Med 32:215-219.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Mandioca e Fruticultura. Cultivares de Mandioca Recomendados para o Brasil – 2002. s.n.d. (FOLDER).

[**EMBRAPA**] Embrapa Mandioca e Fruticultura. Sistemas de Produção, 12 ISSN 1678-8796 Versão eletrônica Jan/2003. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_semiarido/index.htm. Acesso em: 17 ago 2010.

EPA – *Environmental Protection Agency* – ***Toxicological Review of Hydrogen Cyanide and Cyanide Salts. In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS)***. Set/2010.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization of the United Nations). Faostat agriculture data, 2004. Disponível em <http://www.fao.org>; Acesso em: 17 ago 2010.

FECHTER, D.L.; CHEN, G.; JOHNSON, D. **Potential of noise-induced hearing loss by low concentrations of hydrogen cyanide in rats**. Toxicological Sciences. Vol. 66, pp. 131-138, 2002.

FIGUEIREDO, V. C. N. ; TRAPÉ, A.Z. . O uso do cianeto na produção de bijuterias e folheados: proposta de investigação sobre a saúde das trabalhadoras em domicílio no município de Limeira. Revista de Ciências Médicas (PUCCAMP), v. 16, p. 97-107, 2007.

FORTIN, J.; DESMETTRE, T.; MANZON C.; JUDIC-PEUREUX, V. et al. **Cyanide poisoning and cardiac disorders: 161 cases**. The Journal of Emergency Medicine, Vol. 38, N°4, pp. 467-476, 2010.

FURTADO, Jomar Livramento Barros; BEZERRA, Cícero Wellington Brito; MARQUES, Edmar Pereira and MARQUES, Aldalea Lopes Brandes. **Cianeto em tiquiras: riscos e metodologia analítica**. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* [online]. 2007, vol.27, n.4, pp. 694-700. ISSN 0101-2061.

GHORBEL, H.; FETOUI, H.; MAHJOUBI, A.; GUERMAZI, F.; ZEGHAL, N. **Thiocyanate effects on thyroid function of weaned mice.** Comptes Rendus Biologies 2008 Apr;331(4):262-71. Epub 2008 Mar 4.

GORDIS, L. **Epidemiologia.** 4 ed. Editora Revinter. São Paulo, 2010.

HAQUE MR; BRADBURY JH: Simple method for determination of thiocyanate in urine. Clin. Chem. 45, 1459 _ 1464, (1999).

HODGSON, E. **A textbook of modern toxicology.** 3 ed. Stamford, Connecticut: Appleton e Lange, 496p., 2004.

HSDB – Hazardous Substance Data Bank – National Library of Medicine. **Hydrogen cyanide.** Disponível em: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+74-90-8>. Acesso em: novembro de 2010.

ICMI – International Cyanide Management Code For The Manufacture, Transport and Use of Cyanide In The Production of Gold – Cyanide Facts. Disponível em: http://www.cyanidecode.org/cyanide_environmental.php. Acesso em: novembro de 2010.

IPCS (International Programme on Chemical Safety). Hydrogen cyanide and cyanides: human health aspects. Concise International Chemical Assessment Document 61, 2004. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad61.htm>. Acesso em 13 ago 2009.

ITP – Instituto de Tecnologia e Pesquisa/UNIT. **Adequação Tecnológica das Casas-de-Farinha do Estado de Sergipe.** Relatório Técnico de Atividades do Projeto Financiado pelo Edital MCT/MESA/CNPq/ CT Agronegócio 01/2003, Processo nº 503402/2003-6. 2006.

KAMENDULIS, L.M.; ZHANG, H.; WANG, Y. et al. Morphological transformation and oxidative stress induced by cyanide in Syrian hamster embryo (SHE) cells. Toxicol Sci 68(2):437-443. 2002.

KLAASSEN, C.D. (ed). Casarett & Doull's. Toxicology: The Basic Science of Poisons. 7 ed. New York: McGraw-Hill, 2008. p. 329-379.

LEVINE, M.S.; RADFORD, E.P. **Occupational exposures to cyanide in Baltimore fire fighters**. Journal of Occupational Medicine. 1978 Jan;20(1):53-6.

MANZANO, H.; SOUZA, A.B.; GÓRNIK, S.L. **Exposição cianídrica em suínos: uma abordagem dos parâmetros toxicocinéticos utilizando tiocianato como biomarcador**. Braz. J. Vet Res. Anim. Sci., São Paulo, v. 43, suplemento, p. 93-101, 2006.

McMAHON, J.M.; WHITE, W.L.B.; SAYRE, R.T. (1995) Cyanogenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *J. Exp. Bot.*, **46**, 731-741.

MERG – Mining Environment Research Group - **Cyanide – The Facts**. MERG Report 2001-2, 2001. Disponível em: http://www.geology.gov.yk.ca/pdf/MPERG_2001_2.pdf. Acesso em: novembro de 2010.

MORATA, T.C. **Interaction between noise and asphyxiants: a concern for toxicology and occupational health**. Toxicological Sciences. 66 (1): 1-3, 2002.

NIELSEN, G.D.; OVREBO, S., Background, approaches and recent trends for setting healthbased occupational exposure limits: A minireview. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 51 (2008) 253–269.

NIOSH (National Institute of Occupational Safety and Health). International Chemical Safety Cards – Hydrogen cyanide, Liquefied. Disponível em: <http://www.cdc.gov/niosh/ipcsneng/neng0492.html>. Acesso em: setembro de 2010

NIOSH - *Manual of Analytical Methods (NMAM), Fourth Edition*, 8/15/94.

NTP. 1993. Technical Report on toxicity studies of sodium cyanide (CAS No. 143-33-9) administered in drinking water to F344/N rats and B6C3F1 mice. Research Triangle Park, NC: National Toxicology Program, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health. NIH Publication 94-3386. NTP TOX 37.

OGA, S.; CAMARGO, M.M.A.; BATISTUZZO, J.A.O. Fundamentos de toxicologia. 3.ed. São Paulo: Atheneu Editora São Paulo, 2008.

OKAFOR, P.N. **Assessment of cyanide overload in cassava consuming populations of Nigeria and the cyanide content of some cassava based foods.** African Journal of Biotechnology. v. 3, p. 358-361, 2004.

OKAFOR, P.N.; OKOROWKWO, C.O.; MADUAGWU, E.N. **Occupational and dietary exposures of humans to cyanide poisoning from large scale cassava processing and ingestion of cassava foods.** Food and Chemical Toxicology. v. 40, p.1001-1005, 2002.

OKE, O L. Cassava as Food en Nigéria. Wold Ver. Nutr. Dietetics, v. 96, p. 227-50, 1968.

OKOLIE, N. P.; OSAGIE, A. U. Liver and Kidney Lesions and Associated Enzyme changes induced in rabbits by chronic cyanide exposure; **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, n. 7, p.745-750, 1999.

OKOLIE, N.P.; OSAGIE,A.U. **Diferential effects of chronic cyanide intoxication on heart, lung and pancreatic tissues.** Food and Chemical Toxicology. v. 38, p.543-548, 2000.

OLUWOLE, O.S.A; ONABOLU, A.O.; COTGREAVE, I.A.; ROSLING, H.; PERSSON, A.; LINK, H. **Incidence of endemic ataxic polyneuropathy and its relation to exposure to cyanide in a Nigerian community.** J Neurol Neurosurg Psychiatry 2003;74:1417–1422.

OSHA (Occupational Safety and Health Administration): Occupational Safety and Health Guideline for Hydrogen Cyanide. Available in: <http://www.osha.gov/SLTC/healthguidelines/hydrogencyanide/recognition.html>; Acesso: Junho, 2010.

PATNAIK, P. Propriedades nocivas das substâncias químicas. V.1. Belo Horizonte: Ergo, 2002.

PANTAROTO, S.; CEREDA, M. P. Linamarin e sua decomposição no ambiente. In Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca. v. 4. Disponível em: <http://www.raizes-ong.org.br>. Acessado em: 30/04/2004.

POMBO, F.R.; DUTRA, A.J.B. **Eletrorrecuperação de cobre e oxidação de cianeto de efluentes cianídricos diluídos gerados por unidade de galvanoplastia.** *Matéria (Rio J.)* [online]. 2008, vol.13, n.3, pp. 418-428. ISSN 1517-7076.

SANTOS, U.P.; SETTINI, M.M.; FILHO, V.W.; BUSSACOS, M.A. **Uso de tiocianato urinário como biomarcador de exposição a cianetos.** *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional.* N°69 – Vol. 18, 1990.

SCHAAL, B.; OLSON, P.; PRINZE, T.; CARVALHO, J.C.B.; TONUKARI, N.J.; HAYWORTH, D. Phylogenetic analysis of the genus *Manihot* Based on Molecular markeres. In: The Cassava Biotechnology Network. Borgon, Indonpesia, 22-26, August, 1994. Proceedings of the second International Scientific Meeting. (Working Document, n. 150).

Soto-Blanco, B., Górnaiak, S.L. and Kimura, E.T., 2001. **Physiopathological effects of the administration of chronic cyanide to growing goats— a model for ingestion of cyanogenic plants.** *Veterinary Research Communications*, **25**, 379–389.

United States Department of Labor (2011) – *Occupational and Safety Health Administration. Occupational Safety and Health Guideline for Hydrogen Cyanide.* Disponível em: <http://www.osha.gov/SLTC/healthguidelines/hydrogencyanide/recognition.html>. Acesso em: janeiro de 2011.

U.S. EPA – *Environmental Protection Agency. Integrated Risk Assessment Information System. Hydrogen Cyanide and Cyanide Salts.* Disponível em: <http://www.epa.gov/iris/subst/0060.htm>. Acesso em: outubro de 2010.

WHITE, W.L.B.; MCMAHON, J.M.; SAYRE, R.T. Cyanogenesis in cassava – The role of hydroxynitrile lyase in root cyanide production. *Plant Physiology*, 116: 1219-1225, 1998.

WHO. Extracts from the occupational hazards section of the anthology on women health and environment. Geneva; OMS; 1994. 45 p. (WHO/EHG/94.11).

ZHAO, Ping Zhao • Kuo-Pin Yu • Chi-Chi Lin. Risk assessment of inhalation exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Taiwanese workers at night markets. *Int Arch Occup Environ Health*. DOI 10.1007/s00420-010-0551-1

ANEXO I (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU LEGAL RESPONSÁVEL

1. Nome do Paciente:

.....

Documento de Identidade Nº :.....Sexo: ()M ()F

Data de Nascimento:...../...../.....

Endereço:.....Nº:.....Apto:.....

Bairro:.....Cidade:.....

CEP:.....Telefone:.....

2. Responsável Legal:.....

Natureza (grau de parentesco, tutor, curador, etc.):.....

Documento de Identidade Nº:.....Sexo: ()M ()F

Data de Nascimento:...../...../.....

Endereço:.....Nº:Apto:.....

Bairro:.....Cidade:.....CEP:.....Tel:.....

II – DADOS SOBRE A PESQUISA

1. Título do Protocolo de Pesquisa: AVALIAÇÃO DO GRAU DE EXPOSIÇÃO DE TRABALHADORES DE CASAS-DE-FARINHA AO CIANETO PROVENIENTE DA MANDIOCA, *Manihot esculenta*, Crantz NO MUNICÍPIO DE ARAPIRACA

2. Investigador Principal: Cyro Hauaji Zacarias

Cargo/Função: Biomédico/CRBM 15521

Departamento da FCF/USP: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Programa de Pós Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas

4. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA

Sem Risco () Risco Mínimo () Risco Médio ()
 Risco Baixo (X) Risco Maior ()

Por estarmos coletando uma amostra de sangue (o risco está relacionado com eventual problema no momento da coleta, ou ainda necessidade de nova amostragem).

5. Duração da Pesquisa: 2 anos

III – REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

1. Este estudo tem como objetivo determinar a quantidade de cianeto absorvida pelos trabalhadores durante o processamento de mandioca nas casas-de-farinha, uma vez que esta substância está presente nas raízes e pode ser prejudicial à saúde. Desta forma será possível avaliar os níveis de cianeto ao qual o Sr. está exposto, e ainda através de avaliação médica, verificar se existe algum problema de saúde que pode estar relacionado aos níveis desta substância. Esclarecemos ainda que esta amostra terá a finalidade de avaliar somente os itens descritos acima, não sendo, portanto utilizada para análise de outras substâncias.
2. Aceitando participar deste estudo, o Sr. será consultado por uma médica e será coletada de sua pessoa uma amostra de urina (100mL) e outra de sangue (5mL), para avaliar a presença da substância tóxica, assim como o funcionamento da glândula tireóide. Ainda, no dia da coleta de sua amostra você preencherá um questionário que tem por objetivo conhecer um pouco de seus hábitos, seu estado de saúde ou o uso de medicamentos que possam interferir na análise.
3. O exame médico será realizado no hospital de sua cidade por profissional qualificado. A coleta de sangue será realizada por profissional qualificado, utilizando material descartável, seguindo os procedimentos de assepsia adequados, garantindo assim a sua integridade física, desta forma o único desconforto previsto será aquele relacionado à coleta de amostra de sangue, por necessariamente exigir que aconteça uma picada para retirada dos 5mL de sangue necessários.
4. Através deste estudo pretende-se avaliar os riscos para a sua saúde em função da possível exposição ao cianeto que será avaliada.

5. Todas as análises serão realizadas, de modo a não representar nenhum custo financeiro, para você ou sua empresa.

IV – ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA

1. Você tem assegurado o direito de a qualquer momento do estudo solicitar informações esclarecedoras sobre o andamento dos procedimentos, bem como dos eventuais riscos e benefícios relacionados à sua participação neste estudo. Desta forma, como Investigador Principal Cyro Hauaji Zacarias, está à disposição para quaisquer dúvidas que necessitem esclarecimento, relacionadas a este projeto.
2. Fica assegurado que o Sr. não será prejudicado, de nenhuma forma se o Sr. decidir ou não pela participação neste projeto.
3. Fica assegurado ainda a confiabilidade de sua identidade, bem como sigilo dos resultados obtidos, garantindo assim sua privacidade. Os resultados do estudo serão publicados sem revelar sua identidade, entretanto estarão disponíveis para consulta pela equipe envolvida no projeto, e pelo Comitê de Ética.
4. Fica assegurado também que no caso de eventual intercorrência no momento da coleta, o Sr. receberá tratamento adequado e será monitorado até que sua condição de saúde se restabeleça. (Não são esperados problemas deste tipo, no entanto é importante garantir assistência no caso de qualquer intercorrência relacionada ao projeto).

V – INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Investigador Principal: Cyro Hauaji Zacarias

Biomédico – CRBM 15521

Telefone de contato: (11) 8662-6461

VI – OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII – CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

Arapiraca, _____ de _____ de _____.

do sujeito de pesquisa

ou responsável legal

Assinatura do pesquisador

(carimbo ou nome legível)

Assinatura

ANEXO II (MODELO DE QUESTIONÁRIO E EXAME CLÍNICO)

Investigador Clínico: Claudia Esteban

Médico – CRM 139.921

Telefone de contato: (11) 2601-1476

Email: cesteban@usp.br

VII – CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

Arapiraca, _____ de _____ de _____.

do sujeito de pesquisa

ou responsável legal

Assinatura do pesquisador

(carimbo ou nome legível)

Assinatura

XI – MODELO DE QUESTIONÁRIO

1. Questionário número: _ _ _
2. Data: _ _ / _ _ / _ _
DADOS SÓCIO-DEMOGRÁFICOS
3. Nome do entrevistado: _____
4. Endereço: _____
5. Naturalidade: _____
6. Procedência: _____
7. Data de nascimento: _ _ / _ _ / _ _
8. Idade: _ _ anos completos
9. Estado civil atual: (1)solteiro (2)casado (3)com companheira (4)viúvo (5)separado/divorciado/desquitado
10. Onde você dorme a maior parte do tempo? (1)casa de farinha (2)casa de família (mulher e filhos) (3)casa de parentes (outros familiares) (4)outros: _____
11. Qual a sua cor? (auto referida): _____
12. Até que ano (série) você estudou na escola? Completei o (a) _____ ano (série) do _____ na escola.
CONSUMO DE TABACO
13. Você já fumou?: (0)sim, ainda fuma ()não/nunca sim, mas parou há _ _ anos
14. * Há quantos anos você fuma, qual a quantidade que você fuma ou fumou? há _ _ ano(s)/maço(s)
15. * O que você fuma ou fumou MAIS? (1)cigarro comercial (2)cigarro de palha (3)charuto (4)cachimbo (5)outro: _____
16. * Se parou de fumar, por que você parou? E a quanto tempo? _____ _____
CONSUMO DE BEBIDA ALCOÓLICA
17. Você bebe ou bebia bebida alcoólica? (0)sim, bebe (99)não, nunca bebeu bebia, mas não bebe mais há _ _ anos
18. * Com que idade você começou a beber? _ _ anos
19. * Há quanto anos você bebe(bebeu)? _ _ anos
20. * Qual bebida você costuma(va) beber mais freqüentemente? (1)cerveja (2)cachaça (3) outra: _____
21. *Qual a quantidade média dessas bebidas que você costuma(va) beber? Cerveja: _ _ copos/semana OU _ _ garrafas/semana Cachaça _ _ copos/semana OU _ _ doses/semana OU _ _ garrafas/semana outra: _____ copos(garrafas, doses)/semana Anotar freqüência por mês, se for necessario: _____
22. * Se parou de beber, por que você parou? E a quanto tempo? _____ _____

CONSUMO DE MEDICAMENTOS		
23. Você toma algum medicamento todos os dias? (0)não (1)sim		
24. Se sim, qual medicamento? _____ Há quanto tempo? _____		
25. Você tomou algum medicamento hoje? (0)não (1)sim Qual? _____		
HISTÓRIA OCUPACIONAL (escrever no verso se necessário)		
26. Quantos anos você tinha quando começou a trabalhar? ____ anos		
27. Que trabalhos executou desde então? Por quanto tempo?		
FUNÇÃO/ATIVIDADE	EMPRESA OU LOCALIDADE, MUNICÍPIO	PERÍODO
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
28. Há quanto tempo trabalha em casa-de-farinha? _____ meses _____ anos		
29. O que vc faz como farinheiro? Quantos dias por semana para cada atividade?		

30. A que horas sai para o trabalho?		
31. A que horas retorna do trabalho?		
32. Exerce outras funções remuneradas atualmente?		
Quais?		
33. Já se aposentou? Não (0) Sim (1)		
Se sim, há quanto tempo? _____ meses _____ anos		
34. Final da entrevista (hora) : ____ h		
35. Assinatura do entrevistador		
ANTECEDENTES PESSOAIS		
56. Teve alguma doença contagiosa? (DPI, Meningite, hepatite) () sim () Não		

57. Teve alguma internação ou cirurgia? () sim () Não		
Qual? _____		
ANTECEDENTES FAMILIARES		
58. Pai e Mãe vivos? () sim () Não		
59. Se sim, com saúde? () sim () Não _____		
60. Irmãos vivos? () sim () Não		
61. Se sim, com saúde? () sim () Não _____		
62. Filhos vivos? () sim () Não		
63. Se sim, com saúde? () sim () Não _____		

**ESTÁ PARTE DEVERÁ SER PREENCHIDA EXCLUSIVAMENTE PELO MÉDICO
EXAMINADOR**

Dados Significativos da Anamnese Clínico/Ocupacional:

Exame Físico:

PA _____ X _____ mmHg FC _____ bpm Altura _____ m Peso _____ Kg

Mucosas () Coradas () Hipocoradas

Dermatoses () Ausentes () Presentes

Olhos () Normais () Alterados

Tireóide () Normal () Alterado

Ouvidos () Normais () Alterados

Orofaringe () Normal () Alterado

Achados: _____

Ritmo Cardíaco, regular com BNF e sem Sopros () Sim

() Não

Pulmões () Normais () Alterados _____

Abdômen () Normal () Hernias () Visceromegalias () Dor à palpação

() Cicatrizes: _____

Membros Superiores - Mãos e Punhos:

() Normais () Cistos () Cicatrizes () Perda da força de Preensão () Crepitação () Fraturas () Edema

TINEL () Positivo () Negativo

PHALEN () Positivo () Negativo

FILKENSTEIN () Positivo () Negativo

Cotovelos () Normais () Alterados

Ombros () Normais () Alterados

Membros Inferiores:

() Normais () Varizes intensas () Varizes discretas () Edemas () Encurtamento de Membro () Outros: _____

Joelhos: () Normais () Alterados _____

Coluna: () Normal () Escoliose () Cifose () Lordose () Contratura: _____

()

Limitação: _____

Aparelho Muscular:

() Normal () Hipotrofias () Atrofias () Outros achados _____

**ACHADOS SIGNIFICATIVOS DO EXAME FÍSICO E HIPÓTESES
DIAGNÓTICAS:** _____

As alterações no exame físico têm relação com a atividade realizada? () Sim () Não () Não avaliado

Existe incapacidade funcional () Sim () Não Qual? _____

Solicitado exame complementar () Sim () Não Qual (is) _____

Solicitado Parecer de Especialista☐ Sim ☐ Não

Especialidade:

Pessoa Portadora de Deficiência (Decreto 5296/04)☐ Sim ☐ Não☐ Física☐ Auditiva☐ Visual☐ Mental☐ Múltipla

Exames Subsidiários :

PARECER MÉDICO:

_____, ____/____/____
Localidade

Assinatura e Carimbo do Médico Examinador

ANEXO III (DADOS DE VALIDAÇÃO)

Método: Determinação de Cianeto em HO - NIOSH 6010, 15/08/1994

Padrão de referência de Cianeto: Cianeto de Potássio, pa - marca Merck, lote: K40329067, Validade 31/07/2014.

Equipamento: Espectrofotômetro de Absorção Visível - DR2800, marca HACH

Comprimento de Onda: 580 nm

Cubeta de 10 mL

Limite de Detecção: 0,5 µg

Limite de Quantificação: 1,0 µg

Conc. µg	Absorbância	Fator Resposta
0,00	0,000	-
0,50	0,242	0,484
1,00	0,457	0,457
1,50	0,724	0,483
2,00	0,925	0,463
2,50	1,149	0,460

y= ax + b	a:	0,4606
	b:	0,0070
	rquad:	0,9990

Relatório de Ensaio	Identificação da Ecolabor	Identificação do Amostrador	Resultado mg/m3	Incerteza +/- mg/m3
132623-0	435116	1	0,442	0,035
132623-1	435117	2	2,990	0,26
132623-2	435118	3	0,488	0,038
132623-3	435119	4	0,489	0,039
132623-4	435120	5	0,654	0,055

Branco de campo :	Não detectado, < 0,5 µg			
-------------------	-------------------------	--	--	--

Recuperação de 99% do Padrão de controle de 2,00 µg de CN-

Data da Análise: 17/8/2010

Método: Determinação de Cianeto em HO - NIOSH 6010, 15/08/1994

Padrão de referência de Cianeto: Cianeto de Potássio, pa - marca Merck, lote: K40329067, Validade 31/07/2014.

Equipamento: Espectrofotômetro de Absorção Visível - DR2800, marca HACH

Comprimento de Onda: 580 nm

Cubeta de 10 mL

Limite de Detecção: 0,5 µg

Limite de Quantificação: 1,0 µg

Conc. µg	Absorbância	Fator Resposta
0,00	0,000	-
0,50	0,235	0,470
1,00	0,465	0,465
1,50	0,711	0,474
2,00	0,918	0,459
2,50	1,149	0,460

y= ax + b	a:	0,4594
	b:	0,0054
	rquad:	0,9996

Relatório de Ensaio	Identificação da Ecolabor	Identificação do Amostrador	Resultado mg/m3	Incerteza +/- mg/m3
132623-5	435121	6	0,507	0,038
132623-6	435122	7	0,461	0,036
132623-7	435123	8	0,597	0,044

132623-8	435124	9	0,235	0,030
132622-0	435131	10	2,235	0,17
132622-1	435132	11	1,146	0,091
132622-2	435133	12	0,987	0,075
132622-3	435134	13	2,233	0,18
132622-4	435135	14	3,830	0,29
132622-5	435136	15	0,692	0,053

Branco de campo : Não detectado, < 0,5 µg

Recuperação de 99% do Padrão de controle de 2,00 µg de CN-

Data da Análise: 13/8/2010

Método: Determinação de Cianeto em HO - NIOSH 6010, 15/08/1994

Padrão de referência de Cianeto: Cianeto de Potássio, pa - marca Merck, lote: K40329067, Validade 31/07/2014.

Equipamento: Espectrofotômetro de Absorção Visível - DR2800, marca HACH

Comprimento de Onda: 580 nm

Cubeta de 10 mL

Limite de Detecção: 0,5 µg

Limite de Quantificação: 1,0 µg

Conc. µg	Absorbância	Fator Resposta
0,00	0,000	-
0,50	0,218	0,436
1,00	0,456	0,456
1,50	0,668	0,445
2,00	0,912	0,456
2,50	1,117	0,447

y= ax + b	a:	0,4502
	b:	-0,0010
	rquad:	0,9996

Relatório de Ensaio	Identificação da Ecolabor	Identificação do Amostrador	Resultado mg/m3	Incerteza +/- mg/m3
132622-6	435137	16	1,584	0,13
132622-7	435138	17	1,390	0,11
132622-8	435139	18	2,123	0,24
132840-0	435140	19	2,932	0,23

132840-1	435141	20	1,266	0,11
132840-2	435142	21	2,210	0,19
132840-3	435143	22	1,390	0,11
132840-4	435144	23	0,988	0,10
132840-5	435145	24	3,610	0,29
132840-6	435146	25	1,770	0,18

Branco de campo : Não detectado, < 0,5 µg

Recuperação de 99% do Padrão de controle de 2,00 µg de CN-

Data da Análise: 14/8/2010

Método: Determinação de Cianeto em HO - NIOSH 6010, 15/08/1994

Padrão de referência de Cianeto: Cianeto de Potássio, pa - marca Merck, lote: K40329067, Validade 31/07/2014.

Equipamento: Espectrofotômetro de Absorção Visível - DR2800, marca HACH

Comprimento de Onda: 580 nm

Cubeta de 10 mL

Limite de Detecção: 0,5 µg

Limite de Quantificação: 1,0 µg

Conc. µg	Absorbância	Fator Resposta
0,00	0,000	-
0,50	0,209	0,418
1,00	0,443	0,443
1,50	0,656	0,437
2,00	0,905	0,453
2,50	1,121	0,448

y= ax + b	a:	0,4518
	b:	-0,0090
	rquad:	0,9995

Relatório de Ensaio	Identificação da Ecolabor	Identificação do Amostrador	Resultado mg/m3	Incerteza +/- mg/m3
132840-7	435147	26	7,77	0,67
132840-8	435148	27	2,33	0,18

133469-0	435149	28	1,61	0,13
133469-1	435150	29	1,40	0,12
133469-2	435151	30	1,58	0,13

Branco de campo : Não detectado, < 0,5 µg

Recuperação de 99% do Padrão de controle de 2,00 µg de CN-

Data da Análise: 16/8/2010

Método: Determinação de Cianeto em HO - NIOSH 6010, 15/08/1994

Padrão de referência de Cianeto: Cianeto de Potássio, pa - marca Merck, lote: K40329067, Validade 31/07/2014.

Equipamento: Espectrofotômetro de Absorção Visível - DR2800, marca HACH

Comprimento de Onda: 580 nm

Cubeta de 10 mL

Limite de Detecção: 0,5 µg

Limite de Quantificação: 1,0 µg

Conc. µg	Absorbância	Fator Resposta
0,00	0,000	-
0,50	0,215	0,430
1,00	0,431	0,431
1,50	0,661	0,441
2,00	0,915	0,458
2,50	1,132	0,453

y= ax + b	a:	0,4566
	b:	-0,0117
	rquad:	0,9993

Relatório de Ensaio	Identificação da Ecolabor	Identificação do Amostrador	Resultado mg/m3	Incerteza +/- mg/m3
133469-3	435152	31	0,399	0,077
133469-4	435153	32	0,375	0,074

133469-5	435154	33	0,957	0,093
133469-6	435155	34	1,702	0,28
133469-7	435156	35	0,510	0,084
133469-8	435157	36	0,696	0,092

Branco de campo : Não detectado, < 0,5 µg
 Recuperação de 99% do Padrão de controle de 2,00 µg de CN-
 Data da Análise: 17/8/2010

ANEXO IX (PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA)

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO DO PROJETO

Parecer CEP/FCF/108
Protocolo CEP /FCF/521
CAAE: 0019.0.018.000-09

I – Identificação:

Projeto de Pesquisa:	Avaliação do grau de exposição de trabalhadores de casas-de-farinha ao cianeto proveniente da mandioca, <i>Manihot esculenta</i> , Crantz no município de Arapiraca-AL
Pesquisador Responsável:	Cyro Hauaji Zacarias
Orientador:	Profª Drª Elizabeth de Souza Nascimento
Instituição:	Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP
Área Temática Especial:	Não se aplica
Patrocinadores:	FAPESP

II - Sumário Geral do Protocolo:

As mandiocas utilizadas na produção de farinha contêm elevadas concentrações de glicosídeos cianogênicos (compostos que liberam cianeto), o que pode representar uma ameaça para a população consumidora de alimentos a base de mandioca, assim como para os trabalhadores envolvidos no processamento deste tubérculo.

Durante o processo de ralação, os glicosídeos cianogênicos sofrem degradação ocorrendo liberação de ácido cianídrico, o qual apresenta alta volatilidade. Consequentemente na etapa de secagem a massa ralada perde a maior parte da toxicidade por volatilização do princípio tóxico. Diante destas informações, a possibilidade de exposição, de trabalhadores de casas de farinha, ao ácido cianídrico deve ser levada em consideração.

Os objetivos do presente estudo são:

Objetivo Geral:

- Avaliar o grau de exposição de trabalhadores de casas-de-farinha ao ácido cianídrico proveniente da mandioca, *Manihot esculenta*, Crantz, assim como possíveis alterações laboratoriais relacionadas a tal exposição.

Objetivos Específicos:

- Determinar os níveis atmosféricos de ácido cianídrico nos locais de produção de farinha de mandioca;
- Determinar os níveis de tiocianato em urina de trabalhadores de casas-de-farinha;
- Avaliar a função tireóide dos trabalhadores expostos através das dosagens hormonais de T3, T4 e TSH;
- Avaliar efeitos bioquímicos possivelmente relacionados com exposição a ácido cianídrico.

Tipo de estudo:

Transversal

Descrição da Casuística:

Neste estudo serão incluídos 60 trabalhadores do estado de Alagoas (município de Arapiraca e adjacências), de ambos os sexos, com idade entre 20 e 55 anos e que estejam envolvidos com produção de farinha de mandioca há pelo menos cinco anos. Um grupo de 60 indivíduos que seja semelhante ao grupo de estudo no que se refere à idade, sexo, hábitos alimentares e hábito de fumar, que trabalhem em atividades diversas e que

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Comitê de Ética em Pesquisa

não estejam relacionados com processamento de mandioca serão incluídos no grupo controle.

Todos os participantes serão submetidos a um questionário padronizado para que se possam obter informações sobre os fatores interferentes.

Serão coletadas, em frascos estéreis, amostras de urina (20 – 50 ml) pré e pós-jornada de trabalho após no mínimo dois dias seguidos de exposição para dosagem de tiocianato. Cada participante será submetido a uma única coleta de sangue que será realizada através de punção venosa para determinação sérica dos hormônios TSH, T₃ e T₄. As amostras serão coletadas, armazenadas e transportadas de acordo com os critérios e recomendações determinados pelas Boas Práticas Laboratoriais (BPL) e todas as etapas serão desenvolvidas por profissional treinado.

As amostras podem ser conservadas a 4°C até 5 dias, tempo suficiente para o encaminhamento ao laboratório. As análises serão realizadas no laboratório de Toxicologia Analítica da FCF/USP.

Sendo detectada elevada exposição ou ocorrência de doença (estatisticamente significativa) nos trabalhadores, a FUNDACENTRO se responsabilizará pela assistência a esses indivíduos.

Os critérios de inclusão dos participantes são:

Trabalhadores, de ambos os sexos, com idade entre 20 e 55 anos e que estejam envolvidos com produção de farinha de mandioca há, pelo menos, cinco anos. Um grupo de 60 indivíduos que seja semelhante ao grupo de estudo no que se refere à idade, sexo, hábitos alimentares e hábito de fumar, que trabalhem em atividades diversas e que não estejam relacionados com processamento de mandioca serão incluídos no grupo controle.

III – Situação do Protocolo: APROVADO em reunião de 31/08/2009.

Cabe ao pesquisador:

- Comunicar ao CEP:
 - a ocorrência de efeitos colaterais e ou de reações não esperadas;
 - eventuais modificações no projeto aguardando a apreciação e aprovação do CEP;
 - a interrupção do projeto.
- Apresentar relatórios: parcial (após 50% da execução do projeto) e final.

São Paulo, 01 de setembro de 2009.

Prof. Dra. Elvira Maria Guerra Shinohara
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
CEP/FCF/USP