

**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Saúde Pública**

**O impacto da exposição química sobre o transcriptoma de trabalhadores formais e informais**

**Fernanda Junqueira Salles**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Saúde Pública

Linha de Pesquisa: Organização dos processos produtivos e saúde do trabalhador

Sublinha: Organização do trabalho, riscos e prevenção à saúde do trabalhador

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kelly Polido Kaneshiro Olympio

**São Paulo**

**2023**

# **O impacto da exposição química sobre o transcriptoma de trabalhadores formais e informais**

**Fernanda Junqueira Salles**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Saúde Pública

Linha de Pesquisa: Organização dos processos produtivos e saúde do trabalhador

Sublinha: Organização do trabalho, riscos e prevenção à saúde do trabalhador

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Kelly Polido Kaneshiro Olympio

Versão revisada

**São Paulo**

**2023**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

#### Catálogo da Publicação

Ficha elaborada pelo Sistema de Geração Automática a partir de dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Bibliotecária da FSP/USP: Maria do Carmo Alvarez - CRB-8/4359

Salles, Fernanda Junqueira

O impacto da exposição química sobre o transcriptoma de trabalhadores formais e informais / Fernanda Junqueira Salles; orientadora Kelly Polido Kaneshiro Olympio. -- São Paulo, 2023.

241 p.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2023.

1. Expossoma. 2. Transcriptômica. 3. Exposição ocupacional. 4. Saúde do trabalhador. 5. Elementos tóxicos. I. Olympio, Kelly Polido Kaneshiro, orient. II. Título.

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais pelo auxílio e compreensão durante esses anos. Pelo incentivo nos momentos difíceis, pela dedicação, pela disciplina que me ensinaram e pelos valores transmitidos. Sei que abdicaram de muito, perderam noites de sono e se esforçaram o máximo. Obrigada!

Dedico este trabalho a vocês como todo amor.

## AGRADECIMENTOS

À **Deus** pela minha vida e pela chance de desenvolver essa pesquisa científica.

À **FAPESP**, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela bolsa de estudos, bolsa de estágio no exterior e auxílios financeiros fornecidos, através dos processos nº 2017/25424-9; 2020/00919-8; 2016/11087-8; 2018/18391-0.

Ao **Prof. Dr. Marcelo Macedo Rogero**, da Faculdade de Saúde Pública, pela colaboração durante todo o desenvolvimento desse estudo. Sua experiência e conhecimento aliados a atenção com a qual me orientou em pontos fundamentais desse projeto foram imprescindíveis. Agradeço também à sua equipe do Laboratório GENUIN (Genômica Nutricional e Inflamação).

Ao **Prof. Dr. Dimosthenis Sarigiannis**, do grupo de pesquisa HERACLES (Health and Exposome Research: Assessing Contributors to Lifetime Exposure and State of Health) da *Aristotle University of Thessaloniki* (AUTH) – Grécia, pela supervisão no período de estágio no exterior e por tornar possível a análise transcriptômica deste projeto. Sem a parceria do seu grupo de pesquisa não seria possível realizar este projeto.

Ao **grupo de pesquisa HERACLES** da Universidade de Aristóteles em Salônica, Grécia, especialmente: Dayna Schultz, Thanasis Papageorgiou, Anthoula Chatzibaloglou, Katerina Gabriel e Nafsika Papaioannou que me deram suporte durante o período de estágio e/ou auxiliaram a desenvolver as etapas das análises laboratoriais e estatísticas desta pesquisa.

Ao **Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT)** por ter cedido o espaço e equipamentos do Laboratório de Processos Metalúrgicos para a análise das amostras de sangue coletadas neste estudo. Em especial, gostaria de agradecer o Prof. Dr. Maciel Santos Luz e sua equipe pelo auxílio e pela contribuição como coautores dos artigos científicos.

À **Universidade Federal do ABC (UFABC)** por ter cedido o espaço e equipamentos do Laboratório do Centro de Ciências Naturais e Humanas para a análise das amostras de urina deste estudo. Em especial, gostaria de agradecer o Prof. Dr. Bruno Lemos Batista e sua aluna Bruna Moreira Freire pela contribuição como coautores do primeiro artigo científico desta tese.

À **Maria do Carmo Oliveira Dória e Isabelle Nogueira Leroux**, agradeço pela organização, planejamento e pela coleta das amostras de sangue na cidade de Volta Redonda.

À **Prof. Dr<sup>a</sup> Liliane Reis Teixeira, Prof. Dr<sup>a</sup> Maria de Fátima Ramos Moreira e Dr<sup>a</sup> Thelma Pavesi** da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca (Fiocruz) pela colaboração neste projeto e por terem cedido o espaço do Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana para armazenamento das amostras coletadas na cidade de Volta Redonda.

Ao **Prof. José Cristiano Paes Leme da Silva** pela colaboração no campo de pesquisa em Volta Redonda.

Ao **Prof. Fredi Alexander Diaz-Quijano**, da Faculdade de Saúde Pública da USP, pela colaboração e orientação no desenvolvimento e análise estatística do segundo manuscrito desta tese.

Aos **agentes comunitários de saúde e coordenadoras das unidades** básicas de saúde e o apoio da Secretaria de Saúde do município de Limeira para realização desta pesquisa.

Aos **voluntários** que concordaram em participar desta investigação.

Aos meus **amigos** da Faculdade de Saúde Pública, especialmente Allan, Elizeu, Alda e Fairah pelo convívio durante todo esse processo, apoio e incentivo durante a realização da pesquisa.

Às **técnicas** do Laboratório de Análises da Exposição Humana a Contaminantes Ambientais (LEHCA), Célia Pesqueiro e Mario do Carmo, pela contribuição na organização dos materiais para coleta/ análise e digitação de questionários.

Aos **professores** da Faculdade de Saúde Pública pelos conhecimentos compartilhados com muita sabedoria e competência nas disciplinas cursadas durante o Doutorado.

Aos meus **pais, irmão, familiares e amigos** que sempre estiveram ao meu lado e torceram pelo meu sucesso.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

À **Profª Drª Kelly Polido Kaneshiro Olympio**, por ter acreditado no meu potencial e ter me dado a oportunidade de formação na Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Obrigada pelos oito anos de orientação e conhecimento compartilhado ao longo dessa jornada na Pós-Graduação! Agradeço toda a confiança depositada em mim e a dedicação com a qual me orientou.

**“Se, a princípio, a ideia não é absurda, então não há esperança para ela.”**

**(Albert Einstein).**



## RESUMO

Salles FJ. O impacto da exposição química sobre o transcriptoma de trabalhadores formais e informais [tese]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2023.

**Introdução:** Exposições químicas podem variar em populações geograficamente distintas, com diferentes hábitos, estilos de vida e características individuais. Alguns elementos químicos encontrados no ambiente são capazes de alterar a expressão gênica humana. **Objetivos:** a) quantificar as concentrações de elementos potencialmente tóxicos (EPTs: As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn, e Zn) na urina da população de Limeira, e nas peças de joias e pó de solda; b) quantificar as concentrações de EPTs no sangue dos participantes de Limeira e Volta Redonda; c) avaliar os riscos de doenças associadas à exposição ocupacional; d) avaliar o impacto da exposição ocupacional na expressão gênica de trabalhadores formais e informais.

**Métodos:** O grupo Exposto foi composto por trabalhadores informais que realizam soldagem de joias e bijuterias em ambiente domiciliar na cidade de Limeira, SP; e por trabalhadores formais da Companhia Siderúrgica Nacional, em Volta Redonda, RJ. O grupo Controle incluiu moradores dos mesmos bairros dos trabalhadores, mas que não desenvolviam nenhuma atividade diretamente relacionada à exposição química. Amostras de sangue foram coletadas para quantificação de glicose, insulina, perfil lipídico, EPTs e para análise transcriptômica. Em Limeira, também foi quantificada a concentração de EPTs na urina. Para transcriptômica, o RNA foi extraído e hibridizado com *Agilent SurePrint G3 Human Gene Expression 8x60K v2 Microarray*. O pré-processamento, análise estatística e de vias de interesse foram realizados no *software GeneSpring GX*. Todos os participantes preencheram questionários sobre hábitos, percepção de risco, morbidade referida e exposição ocupacional. A associação entre exposição a EPTs e desfechos de saúde foi testada por modelo de regressão de Poisson multivariado.

**Resultados:** Nos trabalhadores informais, foram detectados 16 genes superexpressos e 33 subexpressos em comparação com os controles (*fold-change* > 2). A análise de vias indicou genes enriquecidos em vias do processo inflamatório (quimiocinas MAPK, receptor Toll-like e NF-kappa B). Nos trabalhadores formais, foram encontrados 20 genes superexpressos e 50 subexpressos, com vias relacionadas à resposta imune e ao processo de aterosclerose. O único gene diferencialmente expresso (DEG) em comum nas duas populações foi o IFI27 relacionado na literatura a diferentes tipos de câncer. A produção informal de joias de Limeira foi associada

a exposição dos trabalhadores ao Cd, com concentrações significativamente maiores na urina e no sangue dos trabalhadores comparado aos controles. Além disso, foi observada uma associação positiva entre as concentrações de Cd no sangue e a glicemia. As concentrações de As e Pb também foram maiores no sangue dos trabalhadores informais comparado aos controles, sendo que participantes com concentrações de Pb superiores a  $2,6 \mu\text{g dL}^{-1}$  apresentaram prevalência de manifestações neurológicas 2,3 vezes maior (IC 95%: 1,17 – 4,58;  $p = 0,02$ ). Não foram observadas diferenças significativas nos EPTs entre os grupos de Volta Redonda, provavelmente devido ao uso de equipamentos de proteção individual e à poluição ambiental na região. **Conclusão:** As diferenças na expressão gênica relacionadas à exposição ocupacional estão associadas, principalmente, à inflamação e à resposta imune. Os resultados sugerem que a exposição ocupacional prolongada a elementos tóxicos pode levar a consequências negativas para a saúde, como por exemplo, um aumento da prevalência de manifestações neurológicas. Os resultados exploratórios desta tese são um ponto de partida para estudos em populações sensíveis e pouco estudadas, especialmente, de países em desenvolvimento. Análises adicionais devem ser realizadas para investigar efeitos diretos e validar associações causais.

**Palavras-chave:** expossoma; transcriptômica; exposição ocupacional; saúde do trabalhador; elementos tóxicos.

## ABSTRACT

Salles FJ. [The impact of chemical exposure on the transcriptome of formal and informal workers] [thesis]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2023. Portuguese.

**Introduction:** Chemical exposures may vary in geographically distinct populations, with different habits, lifestyles, and individual characteristics. Objectives: a) to determine potentially toxic elements' concentrations (EPTs: As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn, and Zn) in the urine of the population of Limeira, and in jewelry pieces and soldering powder; b) determine the PTEs concentrations in the participants' blood from Limeira and Volta Redonda municipalities; c) investigate disease risks associated with occupational exposure; d) to evaluate the impact of occupational exposure on workers' gene expression profile. **Methods:** The exposed group was composed of informal workers who perform soldering of jewelry inside their houses in the city of Limeira, SP; and formal workers from a steel company in the city of Volta Redonda, RJ. Control participants were recruited from the same neighborhoods without occupational chemical exposure. Blood samples were collected for blood glucose, insulin, lipid profile, and PTE determinations, and for transcriptomic analysis. In Limeira, PTE concentration in urine was also determined. RNA was extracted and hybridized to Agilent SurePrint G3 Human Gene Expression 8x60K v2 Microarray for transcriptomics analysis. Pre-processing, statistical, and pathway analysis were performed in GeneSpring GX software. All participants completed questionnaires about household risk, reported morbidity, and occupational exposure. The association between PTEs exposure and health outcomes was tested by a multivariable robust Poisson regression model. **Results:** 16 up- and 33 down-regulated genes (fold-change > 2) were observed in the informal workers. Pathway analysis revealed genes enriched in inflammatory process (MAPK, Toll-like receptor, and NF-kappa B chemokine signaling pathways). In formal workers, 20 up- and 50 down-regulated genes were found with pathways related to immune response and atherosclerosis development. The gene IFI27 which has been associated with various types of cancer was the only one commonly differentially expressed between informal and formal workers. Informal jewelry production in Limeira increased workers' exposure to Cd, with significantly higher concentrations in the urine and blood of informal exposed workers compared to controls. Furthermore, a positive association was observed between blood Cd concentrations and glycemia. The blood concentration of As and

Pb were also higher in the informal workers' group than in the control group. Participants with Pb concentrations higher than  $2.6 \mu\text{g dL}^{-1}$  showed a prevalence of neurological manifestations 2.3 times higher (95% CI: 1.17 – 4.58;  $p = 0.02$ ) than those with lower lead concentrations. No significant differences were observed between formal workers from Volta Redonda and their control group, probably, because of the use of individual protection equipment and the environmental pollution in the region. **Conclusion:** Differences in gene expression related to occupational exposure are mainly associated with inflammation and immune response. The results suggest that prolonged occupational exposure to toxic elements could lead to negative health outcomes, such as higher prevalence of neurological manifestations. These exploratory results are a starting point for analysis in sensitive and understudied populations, especially in developing countries. Further analysis should be carried out to investigate its direct effects and to validate causal associations.

**Keywords:** exposome; transcriptomics; workers' health; occupational exposure; toxic elements.

## APRESENTAÇÃO

Esta tese de Doutorado é fruto de um trabalho interdisciplinar árduo desempenhado durante seis anos, atravessado por uma pandemia, e que resultou nos três artigos apresentados neste volume. A autora é formada em Ciências Biológicas pela Universidade de Taubaté e Mestre em ciências pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Ao longo do Mestrado, a autora tomou conhecimento de todos os problemas relacionados com o processo produtivo de joias e bijuterias de Limeira – SP e avaliou o possível impacto ambiental gerado pelas atividades informais e domiciliares desenvolvidas na cidade. Ao longo dessa investigação ambiental, surgiu o interesse em avaliar os riscos à saúde decorrentes desse setor produtivo. Portanto, após a obtenção do título de mestre, a autora continuou a pós-graduação, em nível de Doutorado, na Faculdade de Saúde Pública, com a intenção de ampliar seus conhecimentos nos impactos das exposições químicas e as suas consequências para a saúde humana. Paralelamente, a autora tomou conhecimento do impacto ambiental gerado pelo polo industrial do município de Volta Redonda, que conta com a presença de uma das maiores indústrias siderúrgica da América Latina. A poluição ambiental na região e o passivo ambiental gerado pelo polo industrial já foram comprovados por estudos científicos. Uma vez ciente dos cenários de exposição nas duas cidades, a autora desenvolveu este estudo para investigar a influência da exposição aos químicos e seus efeitos nas duas populações. Em 2018, foi iniciada a elaboração deste projeto de pesquisa, o qual foi submetido e aprovado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Este estudo faz parte de um projeto maior, intitulado: “A era “omics” voltada para a sociedade: o impacto do trabalho formal e informal sobre o expossoma dos trabalhadores com ênfase em metabolômica, transcriptômica e lipidômica” (Processo FAPESP 2018/18391-0), sob orientação da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Kelly P. K. Olympio. O projeto pretende, em uma abordagem temática

e multiprofissional, abordar as exposições químicas ambientais e ocupacionais e os efeitos à saúde humana sobre o expossoma dos trabalhadores. Este projeto conta com a participação do grupo de pesquisa eXsat (Expossoma e Saúde do Trabalhador) da Faculdade de Saúde Pública, além de pesquisadores da Universidade Federal do ABC (UFABC), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT), *Aristotle University of Thessaloniki* (AUTH) e da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP-USP). Cada pesquisa realizada pelo grupo teve papel fundamental na consolidação de uma colaboração internacional para o estudo do expossoma em nosso país.

Considerando a abordagem introduzida acima e a importância da interdisciplinaridade para os estudos de saúde pública, esta tese de Doutorado, representa um recorte do projeto descrito anteriormente, e apresenta os resultados de uma subpopulação com enfoque na análise transcriptômica, viabilizando a discussão de doenças ou riscos de doenças associados com metais totais no sangue e alterações na expressão gênica.

Por meio de uma Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior (BEPE) concedida pela FAPESP, a autora realizou todas as análises transcriptômica deste estudo no *Centre for Interdisciplinary Research and Innovation* (KEDEK) da Universidade de Aristóteles em Tessalônica, Grécia. O estágio teve duração de oito meses e foi realizado sob supervisão do professor Dimosthenis Sarigiannis. Também foi realizado um mês de estágio no *Centre for Molecular Informatics and Centre for Environment and Health* do *Imperial College London* (ICL) em Londres, Reino Unido, sob supervisão do Professor Paolo Vineis, para acompanhamento de técnicas de análise estatística considerando estudos expossômicos.

O grupo de pesquisa iniciou os estudos para compreender os processos de produção desenvolvidos no município de Limeira em 2016. Portanto, nesta tese foram analisadas amostras biológicas coletadas em duas campanhas de coleta (urina coletada em 2017 e sangue

coletado em 2019). O contato dos trabalhadores informais foi obtido com o auxílio da Secretaria Municipal de Saúde e dos Agentes Comunitários de Saúde dos Centros de Saúde da Família (CSF). Preferencialmente, os indivíduos selecionados para a presente pesquisa seriam os mesmos que participaram das pesquisas anteriores, configurando um delineamento longitudinal (coorte). Entretanto, durante a seleção, a autora encontrou muito receio e desinteresse dos trabalhadores informais, os quais, com medo de perder o sustento da família, recusavam o convite. Além disso, a característica informal do trabalho faz com que a rotatividade das atividades e da mão de obra sejam frequentes, portanto, alguns dos participantes da campanha de 2017 haviam mudado de emprego, outros não desenvolviam mais a soldagem, faziam apenas montagem de peças, e outros haviam se mudado dos bairros. Com isso, em 2019, a Secretaria de Saúde do município disponibilizou uma nova lista com endereços e telefones dos CSFs de Limeira. Considerando observações realizadas na cidade e relatos de moradores, a autora fez contato com sete CSFs, os quais atendiam bairros onde existiam relatos de existir famílias trabalhando informalmente com joias e bijuterias. Após reuniões com as coordenadoras dos CSFs, houve sucesso no desenvolvimento da pesquisa em seis deles (dois eram os mesmos da campanha de 2017 e quatro eram novos).

Após explanação dos objetivos para os Agentes Comunitários de Saúde, eles nos indicaram famílias que realizavam solda em casa e que poderiam participar. Acompanhada dos Agentes, a autora visitou 50 casas de soldadores nos bairros da cidade e aplicou os questionários de seleção. Após a seleção dos trabalhadores (grupo Exposto), foi realizado o mesmo processo para seleção do grupo Controle. Na cidade de Limeira, foram incluídos apenas participantes do sexo biológico feminino, uma vez que a grande maioria dos trabalhadores informais eram mulheres.

Após o término do campo em Limeira no ano de 2019, deu-se início a seleção de participantes em Volta Redonda, no ano de 2021. Neste caso, é importante destacar que os

trabalhadores da companhia siderúrgica são aconselhados pela empresa a não participarem de pesquisas. Além disso, não tínhamos acesso a Secretaria de Saúde e aos agentes comunitários, como aconteceu em Limeira, e nem ao setor de recursos humanos da siderúrgica. Desta forma, o recrutamento de nossa população amostral foi realizado somente através de visitas domiciliares e da técnica de bola de neve, partindo de estudos já desenvolvidos pelas pesquisadoras Maria de Fátima Ramos Moreira e Liliane Reis Teixeira (ENSP-FIOCRUZ), colaboradoras desta etapa do projeto. Também contamos com a colaboração do Prof. José Cristiano Paes Leme da Silva, que estabeleceu os primeiros contatos com os trabalhadores, o que deu início a técnica de bola de neve, na qual um indivíduo é recrutado e, em seguida, indica outras pessoas de seu relacionamento para que também participe da amostra. Neste cenário de exposição, a grande maioria dos trabalhadores formais da siderúrgica eram do sexo biológico masculino; portanto, apenas homens foram incluídos nesta amostragem e decidiu-se avaliar as duas populações separadamente, uma vez que o perfil delas era diferente, e a fim de evitar a variabilidade dos resultados transcriptômicos.

Dito isto, faz-se importante explicar a estruturação do presente trabalho. Este volume é composto por Introdução, Metodologia, Resultados, Discussão e Conclusões, Considerações Finais e Recomendações. Os capítulos referentes a Resultados e Discussão são compostos por três artigos, sendo dois deles publicados, e um que será submetido a periódico científico internacional, motivo pelo qual os manuscritos estão escritos em inglês. O formato de apresentação da tese de Doutorado em forma de artigo segue as normas da deliberação da CPG em sua sessão 9<sup>a</sup>/2008 de 05/06/2008 (ANEXO I).

O primeiro artigo apresentado nesta tese foi publicado em 2021 na Revista *Science of the Total Environment* (FI = 9.8), intitulado: “*Home-based informal jewelry production increases exposure of working families to cadmium*” (Manuscrito I). Este artigo foi desenvolvido pela autora no início de seu Doutorado para aprofundamento no tema e na



população de estudo. Ele foi elaborado a partir das coletas realizadas em 2017, na cidade de Limeira, com participação da autora e do grupo de pesquisa. Esta população inicial era composta de trabalhadores informais envolvidos na soldagem e montagem de joias, seus familiares, incluindo crianças, e os controles (n = 192). Os resultados desse artigo comprovaram a exposição ocupacional sofrida, especialmente, nos trabalhadores envolvidos na soldagem de joias e/ou bijuterias. Os níveis de EPTs quantificados na urina dos trabalhadores informais, no pó de solda e nas peças de joias apontaram para a viabilidade da investigação proposta nesta tese sobre os impactos das exposições a elementos tóxicos e as suas consequências para a saúde humana.

Partindo deste princípio, uma nova seleção de participantes foi realizada em 2019, conforme explicado acima, com a inclusão de alguns critérios, como, por exemplo, a participação exclusiva de soldadores, além de critérios para controle da variabilidade genética. Além da nova seleção de participantes em Limeira, também foi incluída uma nova população de trabalhadores formais de Volta Redonda, a fim de estudar exposições ocupacionais decorrentes de atividades diferentes. Portanto, os outros dois artigos apresentados nesta tese são fruto do problema de pesquisa principal – o estudo do impacto das exposições ocupacionais formais e informais na expressão gênica e nos desfechos a saúde dos trabalhadores.

A fim de investigar a associação entre as concentrações de elementos potencialmente tóxicos e os desfechos de saúde reportados pela população foi elaborado o artigo intitulado: *“Blood levels of potentially toxic elements in workers and their association with referred health outcomes”* (Manuscrito II, preparado para submissão para revista internacional). Ele apresenta os resultados da quantificação de elementos potencialmente tóxicos (EPTs) no sangue da população total de Limeira coletada em 2019 (n=64) e de Volta Redonda coletada em 2021 (n=49), além de avaliar as associações entre os elementos com maior concentração no sangue do grupo de trabalhadores e as doenças autorreferidas reportadas pelos participantes.

O terceiro artigo apresentado nesta tese intitulado “*Occupational exposure to heavy metals alters gene expression profiles in formal and informal Brazilian workers*” (Manuscrito III), foi publicado em 2023 na Revista *Environmental Research* (FI = 8.3). Ele reporta os principais resultados referente ao trabalho desenvolvido durante a BEPE na Universidade de Aristóteles em Tessalônica. Neste caso, as alterações na expressão gênica foram avaliadas em uma subpopulação de 41 participantes de Limeira, e 18 de Volta Redonda, visto que, alguns critérios foram incluídos para controlar a variabilidade genética.

Além dos três artigos que compõem esta tese, um quarto artigo foi publicado pela autora na Revista de Saúde Pública (FI = 2.8) e pode ser encontrado em anexo neste exemplar (ANEXO II). Ele não faz parte dos resultados desta tese, mas inclui a mesma população de estudo de Limeira e foi escrito pela autora durante a pandemia. Ele investiga as associações entre a incidência de sintomas de covid-19 nos trabalhadores informais e controles com as concentrações de EPTs no sangue e com fatores de risco para a infecção por Sars-Cov-2.

Esta apresentação foi redigida para esclarecer os motivos que me levaram a realizar a presente pesquisa. Com a sua realização, espero ter contribuído para o desenvolvimento de outros estudos na região e ter levantado informações relevantes para subsidiar discussões sobre avanços científicos e nas políticas públicas. Acredito que os resultados desta tese atingiram os objetivos propostos contribuindo para a ampliação do conhecimento no campo de saúde do trabalhador. Foi possível observar diferenças na expressão gênica de trabalhadores comparada aos controles mesmo com baixas doses de EPTs no sangue, se considerarmos os níveis mais altos de exposição ocupacional reportados na literatura. Os resultados poderão subsidiar os órgãos públicos no desenvolvimento de políticas de gestão da exposição ocupacional e de atenção à saúde, que integrem fatores econômicos e sociais, reduzindo os impactos negativos desse setor e atuando na proteção e diminuição da vulnerabilidade destes trabalhadores.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>31</b>
1.1 EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL	34
1.2 POPULAÇÃO DE TRABALHADORES INFORMAIS	36
1.3 POPULAÇÃO DE TRABALHADORES FORMAIS	40
1.4 ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS	44
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>51</b>
2.1 GERAL	51
2.2 ESPECÍFICOS	51
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>52</b>
3.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO	52
3.2 SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES	55
3.3 QUESTIONÁRIOS	57
3.4 ANÁLISE DAS BIJUTERIAS E PÓ DE SOLDA	58
3.5 COLETA DE URINA E SANGUE	59
3.6 ANÁLISES LABORATORIAIS	60
3.6.1. Quantificação de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPTs) no sangue e na urina	60
3.6.2. Análise de insulina, glicose, perfil lipídico e proteína c-reativa	63
3.6.3. Análise transcriptômica	64
3.7 ANÁLISE DOS RESULTADOS	66
3.7.1. Análise estatística no sangue e urina	66
3.7.2. Análise estatística dos questionários e doenças autorreferidas	68
3.7.3. Estatística da análise transcriptômica	70
3.8 QUESTÕES ÉTICAS	71
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>72</b>

4.1 MANUSCRITO I	73
4.2 MANUSCRITO II	113
4.3 MANUSCRITO III	145
<b>5. CONCLUSÕES</b>	<b>185</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES</b>	<b>187</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*</b>	<b>192</b>
<b>8. ANEXOS</b>	<b>196</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

ALJ	Associação Limeirense de Joias
As	Arsênio
ATSDR	Agência de Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças
AUTH	<i>Aristotle University of Thessaloniki</i>
BEPE	Bolsa de Estágio de Pesquisa no Exterior
BTEX	Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xilenos (compostos orgânicos voláteis)
CCNH	Centro de Ciências Naturais e Humanas
Cd	Cádmio
CESTEH	Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CONEP	Conselho Nacional de Ética em Pesquisa
Cr	Cromo
Cr VI	Cromo Hexavalente
CRM	Material de Referência Certificado
CSF	Centros de Saúde da Família
Cu	Cobre
Cy3	Corante de cianina
DAG	Gráfico Acíclico Direcionado
DEG	Genes diferencialmente expressos
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ENSP	Escola Nacional de Saúde Pública
EPI	Equipamento de Proteção Individual
EPT	Elementos Potencialmente Tóxico
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio

eXsat	Grupo de Pesquisa sobre Expossoma e Saúde do Trabalhador
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FC	<i>Fold-change</i>
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FSP	Faculdade de Saúde Pública
Genuin	Laboratório de Genômica Nutricional e Inflamação
GO	Análise de Ontologia Genética
HDL	Lipoproteína de alta densidade
He	Hélio
HEALS	<i>Health and Environment-wide Associations based on Large population Surveys</i>
HERACLES	<i>Health and Exposome Research: Assessing Contributors to Lifetime Exposure and State of Health</i>
Hg	Mercúrio
HOMA-IR	Modelo de Avaliação da Homeostase da Resistência à Insulina
HPA	Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICL	<i>Imperial College London</i>
ICP-MS	Espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado
IMC	Índice de Massa Corporal
INCA	Instituto Nacional do Câncer
INEA	Instituto Estadual do Ambiente
IPT	Instituto de Pesquisas Tecnológicas
KEDEK	<i>Centre for Interdisciplinary Research and Innovation</i>
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LEHCA	Laboratório de Análise da Exposição Humana a Contaminantes Ambientais

LD	Limite de Detecção
Mn	Manganês
NHANES	<i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
Ni	Níquel
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
O <sub>2</sub>	Oxigênio
O <sub>3</sub>	Ozônio
OSHA	Administração de Segurança e Saúde Ocupacional
Pb	Chumbo
PCA	Análise de Componentes Principais
PM <sub>10</sub>	Material Particulado com diâmetro inferior a 10 micrometros
RIN	Número de Integridade do RNA
RJ	Rio de Janeiro
RNA	Ácido ribonucleico
RSD	Desvio entre as Replicatas
Sb	Antimônio
Sn	Estanho
SP	São Paulo
TAC	Termo de Ajustamento de Conduta
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
TQ ICP-MS	Espectrometria de Massas do tipo Triplo Quadrupolo com Plasma Indutivamente Acoplado
USP	Universidade de São Paulo
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
Zn	Zinco

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Ambiente de trabalho informal das soldadoras na cidade de Limeira – SP com a presença de mulheres grávidas (A), mamadeiras (D), alimentos (E) e crianças (F)	38
Figura 2.	Localização da empresa siderúrgica (A e B) e das montanhas de resíduos industriais (C e D) na cidade de Volta Redonda – RJ	44
Figura 3	Fluxograma com o número de participantes incluídos neste estudo	53
<b>Manuscrito I</b>		
Figure 1	Cadmium concentrations in urine for the two exposure groups, smoking habit and sex	85
Figure 2.	Urinary cadmium concentrations ( $\mu\text{g g}^{-1}$ creatinine) according to type of work (jewelry assemblers, workers engaged in soldering, and controls)	88
Figure S1	Sample size estimation using power analysis. Type I error rate of 0.05 assumed	108



Figure S2.	Logistic regression coefficients and standard deviation (95% CI) between 7 PTEs for Model 1 (adjusted for sex and age) and Model 2 (adjusted for sex, age and smoking status), stratified by delivery mode. The significance threshold is given for Model 2 where * is $p < 0.05$ .	109
Figure S3	Correlation heat map of potentially toxic elements determined in blood samples	109
Figure S4	Hierarchical cluster analysis based on Euclidean distance. On top axis of figure, dendrogram depicts distance between exposure factors, along with sex, age and smoking status (bottom axis). Additionally, left axis illustrates dendrogram among the participants. The distance is scaled and value range from 0 (white) to 1 (dark blue)	110
Figure S5	Odds ratio per standard deviation (95% confidence interval) between 7 PTEs for Model 1 (adjusted for sex and age) and Model 2 (adjusted for sex, age and smoking status), stratified by non-assembly workers, non-solderers, male gender, female gender, and population age $\geq 18$ years, where * is $p < 0.05$	111
Figure S6	ROC mean value of 5 folds for exposure groups (population size: $N=192$ )	112

## **Manuscripto II**

Figure 1	Directed acyclic graph of disease outcome according to the potentially toxic elements (PTEs) exposure	121
Figure 2	The association between blood lead concentrations (A) and blood arsenic concentrations (B) and the prevalence of neurological manifestations	128
Figure 3	Association between blood cadmium concentrations and glycemia	129

## **Manuscripto III**

Figure 1	Top: Heat map of the 49 significantly differentially expressed genes (DEGs) in informal workers compared to controls from Limeira where columns represent samples and rows represent genes and red depicts upregulation while blue depicts downregulation. Bottom: Enriched biological pathways and respective p-values associated with the perturbed DEGs	158
Figure 2	Informal occupational exposure of jewelry welders affects mostly biological processes related to cellular and metabolic processes and biological regulation, and molecular functions related to binding and catalytic activity, according to the performed GO analysis data using PANTHER14.1	160

Figure 3	Gene-disease network from Limeira population. Red circle nodes represent the CCL4 gene, and blue squares represent associated diseases	161
Figure 4	Top: Heat map of the 70 significantly differentially expressed genes (DEGs) in formal workers compared to controls from Volta Redonda where columns represent samples and rows represent genes and red depicts upregulation while blue depicts downregulation. Bottom: Enriched biological pathways and respective p-values associated with the perturbed DEGs.	162
Figure 5	Formal occupational exposure of steelworkers affects mostly biological processes related to cellular and metabolic processes and molecular functions related to binding and catalytic activity, according to the performed GO analysis data using PANTHER14.1	166
Figure 6	Gene-disease network from Volta Redonda population. Red circle nodes represent the NKX2-5, NDUFAF4, and FHL1 genes, and blue squares represent associated diseases	168
Figure S1	Potentially Toxic Elements (PTEs) mean concentrations in blood of each study group	181

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Condições de operação do espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) utilizado para quantificação de elementos potencialmente tóxicos nas amostras de urina de Limeira – SP	61
Tabela 2.	Condições operacionais do espectrômetro de massas triplo quadrupolo com plasma acoplado indutivamente, valores de massa definidos nos quadrupolos e limite de detecção (LD) para cada elemento quantificado nas amostras de sangue	63
Tabela 3.	Parâmetros utilizados para controle de qualidade da análise em Microarray	66

### **Manuscrito I**

Table 1.	Absolute frequency of demographic characteristics of participants, by exposure group and sex. Limeira, São Paulo, 2017.	84
Table 2.	Geometric means (GM) of potentially toxic elements (PTE) in urine, by exposure group and sex	86

Table 3.	Geometric means (GM) of potentially toxic elements (PTE) in urine, by exposure group and smoking habit	87
Table 4.	Potentially toxic elements (PTE) in soldering powder samples, measured by field-portable X-Ray fluorescence (FP-XRF)	89
Table S1.	Determination of trace elements in NIST 2670a Urine Standard Reference Material using ICP-MS method. Results expressed in $\mu\text{g L}^{-1}$ show mean concentration $\pm$ standard deviation	104
Table S2.	Geometric means (GM) and 95% confidence intervals (95% CI), and 95th percentiles of participants' urine PTE levels ( $\mu\text{g g}^{-1}$ creatinine) in Limeira-SP, Brazil, by exposure and age groups, compared against Canadian and USA reports, and with Brazil reference values for occupational exposure	105
Table S3.	Percentage of analyses exceeding permitted cadmium and lead limits by country, and minimum and maximum concentration (Min-Max) measured by field portable X-Ray fluorescence (FP-XRF), in parts per million (ppm)	108

## Manuscrito II

- Table 1. Geometric mean (GM), confidential interval (CI 95%), and 95<sup>th</sup> percentile of potentially toxic elements (PTEs) determined in blood samples from exposed and control groups from Limeira city (SP, Brazil) and Volta Redonda city (RJ, Brazil) compared to other Brazilian studies and NHANES results.  
p values show the difference between groups 123
- Table 2. Absolut and relative frequency of demographic characteristics, habits, and health outcomes reported by exposed and control group from Limeira city, SP – Brazil. 2019. 124
- Table 3. Geometric means (GM) and confidence intervals (CI 95%) of glucose, insulin, and lipid profile determined in blood of exposed and control participants from Limeira, SP. The p-value shows the comparison between groups by the Mann-Whitney test 126
- Table 4. Associations (prevalence ratios [PR]) and their 95% confidence interval (95% CI) between blood lead (Pb), cadmium (Cd), and arsenic (As) concentration and health outcomes from Limeira 127
- Table 5. Absolut and relative frequency of demographic characteristics, habits, and health outcomes reported by exposed and control group from Volta Redonda city, RJ – Brazil. 2021 129

Table S1.	TQ ICP-MS Operating Conditions, Mass values defined in the quadrupoles and limit of detection (LD) for each element determined in blood samples	143
Table S2.	Geometric means (GM) and confidence intervals (CI 95%) of glucose, insulin, and lipid profile determined in blood of exposed and control participants from Volta Redonda, RJ. The p-value shows the comparison between groups by the Mann-Whitney test	144
Table S3.	Associations (prevalence ratios [PR]) and their 95% confidence interval (95% CI) between blood lead (Pb), arsenic (As), and cadmium (Cd) concentrations and health outcomes in Volta Redonda population	144

### **Manuscrito III**

Table 1.	Geometric mean (GM), confidence interval (CI 95%), and 95th percentile of potentially toxic elements (PTEs; given in $\mu\text{g L}^{-1}$ ) detected in the blood, of participants in Exposed and Control groups from Limeira and Volta Redonda. The p-value is provided for comparisons between exposure groups from the respective cities.	157
----------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

Table 2.	Gene Symbol, name, direction, and function of the 49 differentially expressed genes detected between control and exposed groups from Limeira	159
Table 3.	Gene Symbol, name, direction, and function of the 70 differentially expressed genes detected between control and exposed groups from Volta Redonda	163
Table S1.	Microarray Quality control parameters	182
Table S2.	Absolute and relative frequency of demographic characteristics, habits, and health variables of female participants in the exposed group (informal workers) and control group in the city of Limeira, SP, Brazil	182
Table S3.	The absolute and relative frequency of demographic characteristics, habits, and health variables of male participants in the exposed group (formal steelworkers) and control group in the city of Volta Redonda, RJ, Brazil	185



## 1. INTRODUÇÃO

A compreensão de como os fatores ambientais e exposições ocupacionais variam a expressão gênica e como contribuem na relação entre genótipo e fenótipo de seres humanos é essencial para a interpretação de causas e para a prevenção de doenças (Idaghdour et al., 2008; Wild et al., 2013). Exposições químicas podem provocar alterações cromossômicas, mutações somáticas, e modificações no DNA e em proteínas (Wild et al., 2013). Elas podem variar em populações geograficamente distintas, com diferentes hábitos e estilos de vida, o que pode explicar porque imigrantes adotam padrões de doenças da região de acolhimento e porque, em um mesmo país, regiões distintas têm taxas diferentes de uma mesma doença (Rappaport, 2011). Neste caso, matrizes biológicas, como o sangue e urina, podem ser usadas para o monitoramento permitindo avaliar a contaminação humana, seja ela respiratória, dérmica ou oral, nas quais as características individuais de absorção, metabolismo e excreção, impactam nos desfechos à saúde (Brunekreef, 2013).

Novas abordagens interdisciplinares vêm sendo desenvolvidas, dentro de um novo conceito, denominado *expossoma*, para melhor avaliar as exposições e seus riscos associados (Wild et al., 2013). Seguindo essa linha de pesquisa, este é um trabalho que faz parte de um projeto mais amplo, o qual pretende avaliar o *expossoma* de trabalhadores. O conceito de *exposoma* abrange exposições ambientais ao longo da vida, desde o período pré-natal até a morte (Wild et al., 2005). Miller e Jones (2014) acreditam que o *expossoma* considera o acúmulo das respostas biológicas frente às mudanças externas, o comportamento do indivíduo e as complexas reações bioquímicas do corpo humano. O ambiente interno do indivíduo, caracterizado no *expossoma* por respostas biológicas, reações metabólicas, estresse oxidativo, entre outros; geralmente, é analisado por técnicas de alta performance (“-omics”), as quais permitem comparações entre as exposições ambientais e o epigenoma, o transcriptoma, o

proteoma, o metaboloma e o microbioma (Li-Pook-Than e Snyder, 2013; Papaioannou et al., 2021). A introdução das técnicas “omics” em estudos de epidemiologia permite a investigação da influência de um conjunto de exposições sobre a saúde ao longo da vida e a identificação de quais fatores podem explicar as doenças observadas (Brunekreef, 2013; Sarigiannis e Salifoglou, 2016; Espín-Pérez et al., 2018). Estas técnicas envolvem medições e caracterizações coletivas de componentes de células e moléculas de uma matriz biológica em um sistema de dados em larga escala (DeBord et al., 2016).

O transcriptoma, é uma das técnicas ômicas utilizadas nos estudos de expossoma. Ele é um reflexo da expressão dos genes, visto que representa o conjunto de moléculas de RNA sintetizadas durante o processo de transcrição de um organismo, órgão, tecido ou célula (Passos, 2014; Pećina-Šlaus e Pećina, 2015; De Bord et al., 2016). O objetivo da transcrição é fazer uma cópia de RNA mensageiro a partir da sequência de DNA de um gene. Esse processo é cuidadosamente regulado pelas células, transcrevendo apenas os genes cujos produtos são necessários em um determinado momento, podendo sofrer influência em diferentes estágios do desenvolvimento, estado fisiológico ou tipo de tecido (DeBord et al., 2016). A análise transcriptômica proporciona a identificação de todos os RNAs expressos em um dado organismo, o estudo das interações entre esses genes e o ambiente, o reconhecimento de marcadores para diagnóstico molecular de doenças e podem ainda indicar alterações no proteoma e/ou metaboloma (van Breda et al., 2015; DeBord et al., 2016).

A geração de dados por meio de técnicas, como a transcriptômica, aliada aos recentes avanços no monitoramento pessoal e ambiental, permitem a coleta de matrizes biológicas em estudos que avaliem riscos e etiologias de doenças em nível pessoal (DeBord et al., 2016; Holland, 2016). Esta abordagem pode ser aplicada em diferentes conjuntos de populações, como por exemplo, populações ocupacionalmente expostas. A caracterização do expossoma dos trabalhadores pode auxiliar no entendimento de como as exposições ocupacionais podem

impactar no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, respiratórias, neurodegenerativas, músculo esqueléticas e câncer (Pronk et al., 2022).

Alguns elementos químicos encontrados no ambiente já demonstraram sua capacidade em alterar o transcriptoma, entre eles, podemos citar o benzeno, dioxinas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, diesel, arsênio, fumos metálicos e de tabaco. Embora compostos químicos possam, efetivamente, alterar o transcriptoma, pouco dessas alterações foram pesquisadas em populações humanas expostas (Wild et al., 2013). Análises transcriptômicas realizadas em sangue total de indivíduos de uma coorte, expostos ocupacionalmente a fumos metálicos, provenientes de soldas, identificaram diferenças na expressão de genes relacionados com respostas inflamatórias, estresse oxidativo, ciclo celular e apoptose (Wang et al., 2005). Segundo Idaghdour et al. (2008), 30% do transcriptoma pode ser alterado pela expressão de genes modificados por condições ambientais diferentes, as quais podem ser representadas por uma combinação de fatores bióticos, abióticos e culturais.

No presente estudo, a transcriptômica permitiu a comparação entre a expressão gênica de subpopulações que sofrem exposições ocupacionais diferentes. Seguindo um modelo “*top-down*”, os transcritos fornecem informações sobre o primeiro nível de respostas biológicas do corpo, as quais serão necessárias para estabelecer um elo entre a exposição e os desfechos adversos à saúde. A identificação de padrões específicos de expressão gênica nos grupos pode nos fornecer pistas sobre como as exposições ocupacionais e ambientais podem alterar o transcriptoma humano e, conseqüentemente, alterar o padrão metabólico (van Breda et al., 2015).

Os resultados deste projeto, aprovado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2017/25424-9, bolsa de Doutorado), complementam os resultados de pesquisas desenvolvidas pelo nosso grupo, em Limeira. Elas já avaliaram as conseqüências da exposição à elementos potencialmente tóxicos (EPTs) oriundos da produção de joias e bijuterias, o que inclui a análise de concentrações totais dos EPTs no sangue e na zona de

respiração dos trabalhadores (Ferreira et al., 2019), no efluente sanitário do município (Salles et al., 2018), na poeira das casas e no sangue de crianças expostas aos EPTs no ambiente doméstico (Barrozo et al., 2022), análise das condições de vida e trabalho de jovens inseridos no arranjo produtivo (Pereira et al., 2020), análise metabolômica no plasma e proteômica na saliva de trabalhadores (Araujo et al., 2023), além de possíveis associações entre a exposição química no trabalho informal e a incidência de sintomas de Covid-19 (Salles et al., 2023a). Estes resultados serão detalhadamente apresentados nos capítulos seguintes.

## 1.1 EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL

O contato com as substâncias químicas pode ocorrer em diferentes condições ao longo da vida humana, porém, uma parte delas, ocorre no ambiente de trabalho, uma vez que diferentes substâncias químicas fazem parte ou são emitidas durante processos produtivos (Cherrie, 2009). Após a globalização, com a introdução de novos químicos e processos produtivos, evidenciou-se a preocupação com os impactos das exposições ocupacionais e a relevância na investigação dos desfechos à saúde humana. Além disso, houve uma mudança na organização e nas condições de trabalho; e a lacuna entre economias industrializadas de países desenvolvidos, em desenvolvimento e subdesenvolvidos se tornou maior. Em certos casos, o trabalho se tornou mais flexível e progressivo, porém, principalmente, em países emergentes houve uma progressão da informalidade (Caldbeck et al., 2014; Schulte et al., 2022). Essa precariedade nas condições de trabalho é um fator importante a ser considerado nas exposições ocupacionais.

A abordagem básica para proteger os trabalhadores dos riscos de exposições ocupacionais é eliminar o uso da substância tóxica, o que acontece em um pequeno número de casos, ou controlar a exposição a um nível onde o risco seja aceitavelmente pequeno,

geralmente, definido por um limite de exposição ocupacional (Cherrie, 2009). Essas práticas são, geralmente, aplicadas em condições de trabalho formal onde há monitoramento da saúde do trabalhador. Entretanto, como resultado da proibição/ diminuição do uso ou da produção de determinadas substâncias perigosas específicas, algumas empresas deslocaram a produção desses materiais para países menos industrializados, onde o quadro regulamentar é mais permissivo. Em outros casos, essas atividades são repassadas para um grupo de trabalhadores informais, que trabalham sem um acordo de trabalho regulamentado, podendo ser subcontratados ou terceirizados pelas empresas (Mathee et al., 2020; Schulte et al., 2022). Neste caso, o cumprimento da legislação para proteger os trabalhadores contra produtos químicos e outros perigos tendem a não ocorrer. As consequências da exposição a EPTs associados a produtos e serviços da economia informal podem ser tanto econômicas como de saúde (Buerck et al., 2021). Por este motivo, é importante conhecer a realidade de saúde da população trabalhadora, independente da forma de inserção no mercado de trabalho e do vínculo trabalhista estabelecido.

Uma das fontes ocupacionais de exposição a EPTs são as atividades de soldagem, que representam um processo de aquecimento complexo, amplamente utilizado no mundo, em etapas industriais. Esta atividade elimina fumos de solda que são partículas ultrafinas que, segundo a Administração de Segurança e Saúde Ocupacional dos Estados Unidos (OSHA, 2013), contêm EPTs como manganês, antimônio, arsênio, níquel, cádmio, chumbo, cobre, estanho, zinco, entre outros. Alguns desses elementos já foram quantificados em amostras da zona de respiração de trabalhadores informais durante a soldagem em ambiente doméstico e os resultados geram preocupação, uma vez que, as concentrações ficaram acima dos limites ambientais e ocupacionais (Ferreira et al., 2019). Os efeitos na saúde humana atribuídos à exposição aos fumos de solda incluem o aumento do risco de doenças pulmonares e câncer de pulmão, disfunções no fígado, distúrbios do sistema nervoso central, irritação nos olhos, nariz

e garganta, tontura e náusea (Antonini et al., 2003; OSHA, 2013; Cetintepe et al., 2019). Outros estudos em soldadores indicam que a exposição a fumos de solda está associada a danos no DNA (Rafiee et al., 2022), podendo alterar a expressão de genes envolvidos na inflamação, resposta de defesa, estresse oxidativo, metabolismo do fosfato, proliferação celular e morte celular programada, metabolismo químico tóxico, fatores de transcrição e transdução de sinal (Wang et al., 2005; Jönsson et al., 2011; Rim et al., 2007; Audureau et al., 2018).

Os processos produtivos das indústrias de siderurgia também envolvem atividades de soldagem, entre outros processos metalúrgicos com a liberação de diversos poluentes químicos na atmosfera, solo e água, como EPTs, material particulado, nitrogênio, óxidos de enxofre, monóxido de carbono, benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX), dioxinas e furanos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs) (Chen et al., 2015; Plagiari et al., 2021). Outras pesquisas já avaliaram os possíveis desfechos negativos à saúde causados pela exposição química oriunda de empresas siderúrgicas e apontam um aumento na incidência de pedras nos rins e alterações urinárias (Atan et al., 2005), problemas respiratórios (Cosgrove, 2015; Valenti et al., 2016), aumento de casos de câncer no cérebro (Oddone et al., 2014), entre outros.

## 1.2 POPULAÇÃO DE TRABALHADORES INFORMAIS

A cidade de Limeira, no interior do Estado de São Paulo (Latitude: 22° 33' 52" S, Longitude: 47° 24' 1" W), possui uma população de 310.783 habitantes segundo estimativas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2021). A cidade é conhecida no país como a capital das joias folheadas, a qual, ainda no século passado, recebeu as primeiras famílias tradicionais de ourives a se instalarem na região (ALJ, 2014). Originalmente agrícola, recebeu uma diversidade de fábricas com a descentralização da indústria para o interior do Estado nos anos 70, facilitada pelas rodovias e estradas de ferro. O aglomerado industrial dedicado à

produção e comercialização de joias e bijuterias da cidade traz a vantagem da cooperação no acesso a fornecedores e logística de distribuição (Gemma et al., 2021). As estimativas mais recentes apontam para a existência de, aproximadamente, 450 empresas formais de joias, folheados e bijuterias no município. Contando as empresas informais, chega a cerca de 1000 empresas no setor, produzindo cerca de 50 toneladas de peças por mês (ALJ, 2014; Gemma et al., 2021). A proximidade de importantes rodovias do Estado e da cidade de São Paulo, maior centro financeiro e mercantil da América do Sul, facilita o escoamento da produção por canais de comercialização nacionais e internacionais. Segundo o sindicato Sindijoias de Limeira, o arranjo produtivo é o maior da América Latina e segundo maior produtor de bijuterias do mundo, atrás apenas da China.

Os pontos negativos desse setor são a utilização de mão de obra pouco qualificada e o alto nível de informalidade nas etapas de produção (Ferreira et al., 2021). O trabalho informal ainda enfrenta problemas como a exploração do trabalho infantil (Pereira et al., 2020) e trabalho em condições improvisadas nos domicílios, nos quais as peças metálicas são produzidas de maneira artesanal com manipulação manual e uso de equipamentos como o maçarico (Ferreira, 2005; Figueiredo, 2011; Lacorte et al., 2013; Vendramin et al., 2019). As etapas de produção seguem diferentes fluxos de serviço e os processos de montagem, cravação e soldagem são, comumente, desenvolvidos em ambiente domiciliar, substituindo as etapas industriais (Ferreira, 2005; Vilela e Ferreira, 2008). Os banhos de galvanoplastia, que envolvem a utilização de substâncias químicas e de ácidos, também podem ser terceirizados e, embora, raramente observados, existem relatos de sua execução informal em casas de famílias (Vilela e Ferreira, 2008).

A coordenação das firmas no arranjo produtivo pode seguir três configurações: a) empresas verticalizadas, que terceirizam alguns serviços auxiliares, como montagem e solda; b) empresas especializadas que atuam em diferentes fases da cadeia produtiva por meio de

atividades coordenadas; e c) empresas que não dispõem de instalação industrial e que obtêm os folheados a partir de atividades produtivas totalmente terceirizada (Gemma et al., 2021).

O cenário do trabalho informal domiciliar na cidade é complexo e parcialmente desconhecido (Ferreira et al., 2021). A produção enfrenta adversidades incluindo a diversidade de produção e de clientes, rotina de trabalho conturbada com constante renegociação de prazos, atividades interrompidas, encaixe de pedidos e soluções improvisadas, além de pressão por qualidade e tempo (Gemma et al., 2021). As diferentes atividades informais desenvolvidas na produção de joias e bijuterias parecem estar disseminadas no município, embora existam alguns bairros onde tais atividades são mais prevalentes (Ferreira et al., 2019). O contato com os terceirizados é feito, principalmente, por telefone e o transporte do material entre a indústria e o ambiente doméstico é feito por motoboy, com menor frequência, os trabalhadores vão buscar o serviço na empresa. Algumas funcionárias formais também levam serviço para casa e o ofertam de forma terceirizada (Gemma et al., 2021). A figura 1 desta tese ilustra as condições e o ambiente de trabalho informal na cidade de Limeira.

Figura 1. Ambiente de trabalho informal das soldadoras na cidade de Limeira – SP com a presença de mulheres grávidas (A), mamadeiras (D), alimentos (E) e crianças (F).

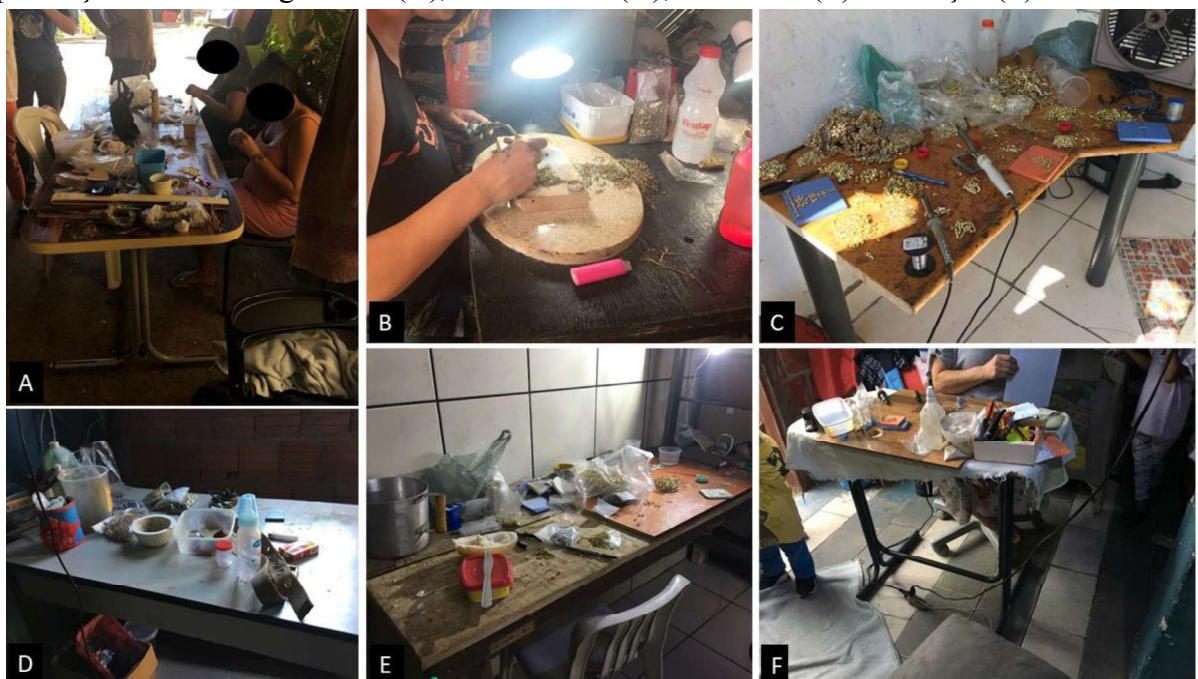


Foto A e B: Kelly Polido Kaneshiro Olympio. Foto C, D, E, F: Fairah Barrozo.



Estudos recentes do nosso grupo de pesquisa já avaliaram a exposição ocupacional nessa população trabalhadora e fatores associados. De acordo com Ferreira et al. (2019), a zona de respiração dos trabalhadores apresentou concentrações acima dos limites ambientais estabelecidos pela Agência de Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças dos estado Unidos (ATSDR) para manganês ( $4 \cdot 10^5 \text{mgm}^{-3}$ ), níquel ( $2 \cdot 10^5 \text{mgm}^{-3}$ ), zinco ( $1,6 \cdot 10^2 \text{mgm}^{-3}$ ), cádmio ( $1,5 \cdot 10^5 \text{mgm}^{-3}$ ) e chumbo ( $5 \cdot 10^3 \text{mgm}^{-3}$ ), sendo que níquel, cobre, zinco, cádmio e chumbo ultrapassaram até mesmo os valores ocupacionais da OSHA (1,0; 0,1; 5,0; 0,005 e 0,05  $\text{mgm}^{-3}$ , respectivamente). Esse mesmo estudo observou condições inadequadas de trabalho dentro das casas e concluiu que os trabalhadores apresentaram uma maior concentração de chumbo no sangue do que indivíduos que não trabalham com joias (Ferreira et al., 2019). Além disso, a rotina de trabalho revela que os jovens e adolescentes inseridos nesse arranjo produtivo tendem a dormir menos, terem menos horas de lazer e de estudo (Pereira et al., 2020). Também foram observadas correlações entre a concentração de cromo, arsênio e chumbo na poeira das casas onde ocorrem atividades de soldagem e o sangue de crianças residentes nesses ambientes (Barrozo et al., 2022). Outro estudo na mesma cadeia produtiva de joias constatou que 30 proteínas foram diferencialmente expressas na saliva de soldadores e correlacionadas com pelo menos um EPT sanguíneo (Araujo et al., 2023). Resultados metabolômicos do plasma de soldadores e análises multiômicas revelaram distúrbios nas vias dos aminoácidos (Araujo et al., 2023).

Durante algumas etapas do processo de produção de joias e bijuterias, entre elas, a soldagem e a galvanoplastia, diversos EPTs podem ser utilizados e descartados no ambiente (Ferreira, 2005; Sikder et al., 2017). Altas concentrações de metais como o cádmio, chumbo, níquel e arsênio podem ser observadas em peças de joias e bijuterias dependendo da sua composição e fabricação (Yost e Weidenhamer, 2008; Weidenhamer et al., 2010; 2011; Guney e Zagury, 2014a; 2014b). Todos os materiais utilizados no arranjo produtivo informal de Limeira (pós e fios de solda, joias e ácidos) possuem procedência duvidosa, sem instruções de

uso e segurança (Ferreira et al., 2021; Barrozo et al., 2022). Investigações por analisador portátil de raio-X encontraram a presença de chumbo em fios de solda e de cádmio em pós de solda (Barrozo et al., 2022). O ambiente de trabalho informal também pode oferecer riscos à saúde dos trabalhadores, entre eles, problemas físicos, como dores de coluna e membros, pela realização de movimentos repetitivos, sobrecarga e erros de postura. Quanto à saúde mental, o trabalho pode gerar estresse, síndrome de exaustão e sofrimento psíquico. A atividade exige intenso esforço visual com conseqüente cansaço nos olhos, bem como a alta temperatura das soldas que pode prejudicar a acuidade visual. A exposição às substâncias químicas gera constante risco de contaminação e acidentes de trabalho (Gemma et al., 2021).

Assim sendo, o presente trabalho, pode colaborar no entendimento de como essas exposições podem alterar a expressão gênica, representada aqui, pela sua primeira etapa, a transcrição. Além de, conjuntamente, com outros estudos desenvolvidos em Limeira, pelo nosso grupo de pesquisa, possibilitar a avaliação das atividades informais domiciliares e a investigação das suas possíveis rotas de exposição e desfechos para a saúde.

### 1.3 POPULAÇÃO DE TRABALHADORES FORMAIS

Volta Redonda é um município do Sul do Estado do Rio de Janeiro, que faz parte da Mesorregião do Sul Fluminense (Latitude: 22° 31' 31" S, Longitude: 44° 6' 14" O). A cidade possui uma área de 182 km<sup>2</sup> e, aproximadamente, 274.925 habitantes (IBGE, 2021). O seu território é sede de uma das maiores usinas siderúrgicas da América Latina, que produz, anualmente, cerca de 5,8 milhões de toneladas de aço (CSN, 2017). O município também é sede de indústria de cimentos, usina de oxigênio e nitrogênio, Companhia Estanífera Brasileira, entre outras (CESTEH/ENSP/FIOCRUZ, 2014).

Na siderúrgica, as principais unidades de produção são coqueria, sinterização, aciaria, lingotamento contínuo, laminação a quente, laminação a frio, zincagem, cromagem e revestimento eletrolítico com estanho. Todos esses processos envolvem atividades reconhecidamente impactantes para o meio ambiente e para a saúde da população local devido ao uso e o descarte de compostos químicos, como HPAs, EPTs e solventes (Chen et al., 2015). Por ser um polo industrial, pesquisas científicas já foram desenvolvidas na região avaliando os efeitos da poluição, causada pela atividade da indústria siderúrgica, nos trabalhadores e na população do entorno (Paiva, 2014; Nascimento et al., 2016; Reis et al., 2017; Pagliari et al., 2021; Perini et al., 2022). Em Volta Redonda, o total de partículas em suspensão, material particulado (PM<sub>10</sub>) e ozônio (O<sub>3</sub>) já ultrapassaram os respectivos limites de 150 e 160 µg m<sup>-3</sup> da legislação brasileira (Rocha e Guimarães, 2017). Níveis elevados de estanho foram quantificados em poeira doméstica na região leste da cidade (1,97-8,54 µg m<sup>-2</sup>) e em amostras de ar atmosférico (0,003-0,445 µg m<sup>-3</sup>) nas regiões sudoeste e sudeste (Azevedo et al., 2019). Associações entre a poluição do ar por PM<sub>10</sub> e a admissão em hospitais por doenças respiratórias foram observadas na cidade (Oliveira et al., 2020).

Além do mais, até o ano de 1999, a empresa siderúrgica depositou resíduos industriais em terreno adjacente a um conjunto habitacional na região nordeste da cidade e as margens do Rio Paraíba do Sul (Terra, 2013; O Globo, 2013). A montanha de resíduos tem, aproximadamente, 6.700 m<sup>3</sup> de despejos industriais e 40 metros de altura. Embora se encontre lacrada, atualmente, põe em risco os moradores dos bairros do entorno, entre eles o condomínio Volta Grande IV, e oferece risco a segurança hídrica do Estado. Segundo reportagem do Globo (2013) foram dispostos na área resíduos do armazenamento e beneficiamento de escória de aciaria, borras de carboquímico, alcatrão e oleosas, lodo de estação de tratamento de efluentes químicos, resíduos laboratoriais, material plástico contaminado com cromo e resíduos de tubulação de gás de coqueria. Em 2000, foi detectada a contaminação das águas da região por

substâncias como o naftaleno, benzeno, tolueno, etilbenzeno, xilenos, chumbo e cádmio provenientes de vazamentos nos depósitos de resíduos. Mais tarde, em 2004 e 2009, outras avaliações confirmaram a contaminação do solo e águas subterrâneas do condomínio Volta Grande IV, com níveis acima dos limites de intervenção estabelecidos pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Em 2011, uma investigação detalhada na área indicou que 15 amostras de solo, de um total de 45, ultrapassaram os limites de referência para exposição a metais (CESTEH/ENSP/FIOCRUZ, 2014; Azevedo, 2023). Baseado nesses estudos, o Instituto Estadual do Ambiente (INEA) comprovou a presença de 24 substâncias tóxicas no local e considerou alta probabilidade das áreas internas às residências, possuírem substâncias químicas tóxicas e carcinogênicas no solo superficial e profundo (Terra, 2013). Entre as substâncias encontradas estão: bifenilas policloradas, antimônio, bário, cádmio, altas concentrações de cromo total e chumbo, e substâncias aromáticas como BTEX; por este motivo o local foi classificado como área contaminada sob intervenção (INEA, 2013).

Uma pesquisa realizada nos moradores do condomínio residencial, que fica no entorno da montanha de resíduos, concluiu que a maior parte deles apresentou má qualidade do sono, além disso, maiores concentrações urinárias de cádmio, manganês e níquel foram observadas nos moradores com maior pontuação para distúrbio de sono (Azevedo, 2023). Coutinho et al. (2023) indica que Mn, Pb, benzeno e tolueno podem ser responsáveis por alterações no ritmo do ciclo vigília-sono na população exposta a esses resíduos da siderurgia. Cádmio, cromo, manganês e chumbo estão presentes em amostras de poeira doméstica, água de torneira e ar atmosférico, além do sangue da população (Azevedo, 2018). Elevadas concentrações urinárias de níquel (média aritmética:  $4,29 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinina) também foram observadas nos moradores, sendo que as concentrações deste elemento no ar ( $5,11 \text{ ng m}^{-3}$ ) são equiparadas a regiões com elevada atividade industrial (Borges, 2019). Concentrações de zinco, níquel, cobre, cromo e

chumbo são altas em amostras de solo do condomínio indicando um risco carcinogênico para ingestão de cromo por crianças (Pagliari et al., 2021).

Um termo de ajustamento de conduta (TAC) foi assinado em 2018 pela companhia siderúrgica junto ao INEA. Ele contempla a execução de 35 itens, com objetivo de promover ações necessárias para adequação ambiental das atividades desenvolvidas pela Usina, entre eles, foi estabelecido um prazo até agosto de 2024 para implantar medidas eficazes de controle da poluição do ar. Entretanto, segundo reportagem de julho de 2023 (Portal G1, 2023), desde a assinatura do TAC com o Ministério Público, a empresa não atendeu aos compromissos determinados e, por isso, funciona sem licença de operação pagando as sucessivas multas estipuladas para operar. Desde então, os moradores da região flagraram o lançamento de fumaça espessa de cor laranja, estrondos pelo rompimento da tubulação de uma caldeira e, mais recentemente, a emissão elevada de poluente sedimentável, conhecido como pó de ferro ou pó preto. Relatos recorrentes sobre a emissão do pó preto se espalham por Volta Redonda atingindo as casas e piorando a qualidade do ar e aumentando problemas respiratórios na população (Portal G1, 2023). A figura 2 desta tese ilustra o cenário de exposição na cidade de Volta Redonda.

Este contexto obriga a avaliação permanente e contínua da situação de deterioração ambiental e sua repercussão sobre a saúde da população exposta. Apesar das avaliações realizadas mostrarem contaminações ambientais no solo e água, abordagens empregando metodologias usadas no estudo do expossoma, como a transcriptômica, são, raramente, utilizadas no Brasil. Esse tipo de abordagem é importante para a avaliação de alterações metabólicas ou genéticas e para aprofundar o conhecimento sobre os efeitos causados pela exposição ocupacional e ambiental aos EPTs (Sarigiannis et al., 2009; Sarigiannis e Salifoglou, 2016).

Figura 2. Localização da empresa siderúrgica (A e B) e das montanhas de resíduos industriais (C e D) na cidade de Volta Redonda - RJ.



Foto A: Agência O Globo. Foto B, C, D: Fernanda Junqueira Salles.

#### 1.4 ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS

Somado aos metais tóxicos, existem outros elementos químicos, que não são metais, mas que podem apresentar um potencial tóxico; dentre estes elementos, alguns são tóxicos em qualquer concentração e outros tem funções essenciais no organismo, porém podem se tornar tóxicos em altas doses. Desta forma, o termo EPT (Elementos Potencialmente Tóxicos) foi utilizado para se referir a esse conjunto de elementos (Bacon e Davidson, 2008; Hill, 2010). Neste trabalho os EPTs são representados por: antimônio, arsênio, cádmio, cromo, chumbo, cobre, estanho, manganês, mercúrio, níquel e zinco.

O arsênio (As) é um metaloide, amplamente distribuído no nosso planeta. Esse EPT existe na forma trivalente, que é considerada a mais tóxica, e na forma pentavalente (Saha et al., 1999; ATSDR, 2007; Kuivenhoven e Mason, 2023). O arsênio está presente no ar, água e,

principalmente, nos alimentos, portanto, as principais vias de exposição são a oral e inalatória. Tem aplicações de uso em ligas metálicas de cobre, zinco e chumbo (ATSDR, 2007). Uma vez absorvido, esse elemento se distribui pelo fígado, rim, músculo, pele, baço e pulmão e se acumula nas unhas, pele e cabelo. Geralmente, sofre metilação no fígado e a principal via de excreção é a urina, mas também pode ser eliminado pelas fezes, cabelo, unha, suor e através da descamação da pele (Saha et al., 1999; ATSDR, 2007). O arsenito reage com os grupos tiol e sulfidrilas causando desregulação e inibição de proteínas e enzimas, por outro lado, o arsenato substitui o fosfato em diversas reações diminuindo a formação de ATP (Kuivenhoven e Mason, 2023). O As inorgânico também pode ser transportado através da barreira hematoencefálica (Garza-Lombó et al., 2019). Diferentes efeitos à saúde já foram reportados na literatura associados a exposição ao arsênio, entre eles: efeitos respiratórios, desde irritação até câncer de pulmão; efeitos dérmicos; cardiovasculares; neurológicos; renais; hepáticos e gastrointestinais (Saha et al., 1999; ATSDR, 2007; Garza-Lombó et al., 2019; Kuivenhoven e Mason, 2023).

O chumbo (Pb) é um metal naturalmente distribuído na Terra, mas sem função biológica no organismo. Tem características tóxicas, bioacumulativas e aplicação em ligas metálicas e composição de soldas. São conhecidos quatro isótopos de ocorrência natural e sua absorção pode ocorrer por via inalatória (principal em casos de exposição ocupacional), via oral (principal em crianças) e também por via dérmica (ATSDR, 2020). Fontes ambientais ou ocupacionais podem aumentar os níveis de exposição. As concentrações de chumbo no sangue, geralmente, refletem a exposição recente e a maior parte da carga corporal total está nos ossos, onde se armazenam por anos (ATSDR, 2020; Olympio et al., 2022). A toxicidade do chumbo pode ser atribuída, principalmente, ao comprometimento de enzimas e proteínas estruturais após a ligação do íon de chumbo, e também à capacidade do metal de imitar e competir com os íons de cálcio e zinco (Olympio et al., 2009; ATSDR, 2020). As evidências sugerem que o Pb induz diretamente a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), conhecida por ter alguns

efeitos tóxicos na estrutura e funções da membrana. Isso resulta em peroxidação lipídica, dano ao DNA e nas células de defesa; também afetam a produção de hemoglobina, causam danos aos sistemas nervoso central e periférico e problemas vasculares (Gurer e Ercal, 2000; Olympio et al., 2022). Os principais riscos reportados na literatura são neurológicos. Em adultos, os níveis de Pb no sangue podem provocar hipertensão, neuropatia, perda de memória, irritabilidade, dores de cabeça, acuidade auditiva e encefalopatia, entre outros (Gurer e Ercal, 2000; Olympio et al., 2009).

O cádmio (Cd) é um metal naturalmente escasso na crosta terrestre e, geralmente encontrado associado a minérios de zinco, chumbo ou cobre (ATSDR, 2012a). Atualmente, o cádmio é dissipado no meio ambiente por meio de vários processos antropogênicos, como mineração, fundição, baterias e persiste, indefinidamente, no meio ambiente devido à sua não biodegradabilidade (Souza-Arroyo et al., 2022). Ocorre em um estado de valência e tem aplicação na constituição de ligas metálicas, também é usado no recobrimento de aço e ferro, garantindo resistência a corrosão. A exposição ao cádmio pode ocorrer pela água, ar, alimentos e também pelo cigarro. A absorção pode ser inalatória, oral ou dérmica, sendo que a absorção inalatória é mais ampla do que a intestinal. Uma vez absorvido, este elemento se distribui por fígado e rins, órgãos onde também se armazena (ATSDR, 2012a; Souza-Arroyo et al., 2022). A excreção é lenta e ocorre, igualmente, por via urinária e fecal (ATSDR, 2012a). No organismo, o cádmio induz a expressão de metalotioneínas (MT), responsáveis pela retenção celular. O complexo cádmio-MT permite a acumulação desse elemento e seu transporte e excreção induzem nefrotoxicidade. O cádmio também pode influenciar na homeostase lipídica do fígado, na resposta inflamatória, na geração de EROs (Renu et al., 2021; Souza-Arroyo et al., 2022). Os desfechos a saúde incluem efeitos renais, hepáticos, pulmonares e nos ossos (ATSDR, 2012a; Renu et al., 2021; Souza-Arroyo et al., 2022).



O cromo (Cr) é um dos metais mais abundantes na crosta terrestre podendo ser liberado por fontes naturais ou antropogênicas. Está presente no ambiente em três formas: cromo (0), (III) e (VI). O cromo (III) é considerado um nutriente essencial para os organismos, enquanto o cromo (VI) não tem função biológica e é carcinogênico (ATSDR, 2012b; Pavesi e Moreira, 2020). Este metal é usado, principalmente, em indústrias metalúrgicas por constituir ligas metálicas, além de ser usado para cromação e galvanoplastia (ATSDR, 2012b). A sua absorção é, predominantemente, oral, mas também pode ocorrer por via inalatória em casos de exposição ocupacional. A forma hexavalente atravessa mais facilmente as membranas (ATSDR, 2012b; Pavesi e Moreira, 2020). Após a absorção, o cromo é distribuído para todos os tecidos, principalmente, fígado e rins. O armazenamento ocorre nos ossos, rins e fígado. O principal meio de excreção é na urina (ATSDR, 2012b). Cromo pode provocar alterações nas funções das mitocôndrias como resultado de uma falha na remoção de ERO e na menor produção de antioxidantes, também tem influência nos processos inflamatórios (Pavesi e Moreira, 2020; Renu et al., 2021). O sistema respiratório é o mais sensível a exposição ao cromo, seguido do gastrointestinal, hematológico e imunológico (ATSDR, 2012b).

O níquel (Ni) é um metal de ocorrência natural na Terra, presente no solo e em cinzas vulcânicas. Sua principal utilização na indústria é em ligas metálicas na composição de joias, conjuntamente com ferro, cobre, cromo e zinco. A exposição humana ao níquel pode ocorrer pelo ar, água, alimentos e o fumo, sendo assim, a absorção pode ser por via inalatória, dérmica ou oral (ATSDR, 2005a; Genchi et al., 2020). Este elemento sofre distribuição pelos tecidos, principalmente, nos rins, porém não é metabolizado, sendo rapidamente eliminado pela urina (ATSDR, 2005a). Os efeitos mais comuns do níquel no organismo são as reações alérgicas, incluindo dermatites, isto se deve ao fato do níquel penetrar na pele e ativar as células epiteliais, produzindo citocinas ou quimiocinas que desencadeiam um processo inflamatório na pele

(Genchi et al., 2020). Outros efeitos relatados são no sistema respiratório incluindo inflamações, sinusites e bronquites e no sistema cardiovascular (ATSDR, 2005a).

O mercúrio (Hg) é um metal de ocorrência natural no nosso planeta e que pode ser identificado em três formas diferentes (metálico, orgânico e inorgânico) e em três estados de oxidação (0, +1, +2). Este metal também é constituinte de ligas metálicas e sua ligação com prata e ouro é comumente conhecida como amalgama. A absorção do mercúrio pela população geral, normalmente, acontece por via oral, porém, em exposições ocupacionais, a absorção por via inalatória e dérmica são mais comuns (ATSDR, 2022a). Ao ser absorvido, o mercúrio sofre oxidação no sangue e nos tecidos formando o  $\text{Hg}^{2+}$ , que se acumula no fígado e rins (Branco et al., 2021; ATSDR, 2022a). O  $\text{Hg}^{2+}$  pode interagir com outras moléculas alvo e ser diretamente responsável por efeitos tóxicos. O vapor de mercúrio; metilmercúrio e etilmercúrio apresentam efeitos neurotóxicos. O mercúrio também consegue passar pela barreira hematoencefálica e placentária (Branco et al., 2021). Os principais efeitos a saúde relacionados a exposição a esse metal são neurológicos, renais e imunológicos. Sua excreção geralmente ocorre pela urina e fezes e também pelo cabelo (ATSDR, 2022a).

O antimônio (Sb) também é um metal de ocorrência natural que pode ser encontrado em diferentes estados de oxidação, os mais comuns são o Sb(III) e Sb(V). Este metal também tem aplicação em ligas metálicas na indústria, podendo apresentar riscos ocupacionais. A sua absorção pode ser por via inalatória ou oral, a distribuição ocorre pelo fígado, rins e osso e a excreção pela urina e fezes. Os efeitos a saúde, resultantes da exposição ao antimônio, foram pouco estudados em humanos e na grande maioria dos casos podem afetar o sistema respiratório, cardiovascular, gastrointestinal (Sundar e Chakravarty, 2010; ATSDR, 2019).

O estanho (Sn) também é um metal empregado na fabricação de ligas metálicas por sua resistência a corrosão, além de ser muito utilizado em soldas pelo baixo ponto de fusão. Está, naturalmente, presente no ambiente e sua absorção pode ser por via inalatória, oral ou dérmica.

Independente da via, sua absorção no organismo é baixa e a acumulação em órgãos humanos é pequena e rara. Normalmente, se distribui pelos pulmões, fígado, rins e baço e é rapidamente eliminado pelas fezes ou urina. A toxicidade do estanho é baixa, mas há relatos de efeitos negativos a saúde em altas concentrações, incluindo casos de anemia, problemas renais e hepáticos. Compostos orgânicos de estanho também já demonstraram efeitos no sistema respiratório, gastrointestinal e neurológico (ATSDR, 2005c).

O cobre (Cu) é outro metal de ocorrência natural na Terra, que está presente na água, ar e nos alimentos. Sua aplicação em ligas metálicas também é comum. Este elemento é considerado um nutriente essencial para humanos, portanto, baixas doses devem ser consumidas, diariamente, para garantir algumas funções biológicas (ATSDR, 2022b). Todavia, em altas concentrações no organismo, pode apresentar efeitos tóxicos. Sua absorção pode ser via inalatória, dérmica ou oral. Normalmente, é distribuído para o fígado e liberado para a corrente sanguínea alcançando diferentes tecidos. A excreção ocorre por meio da bile nas fezes, mas também pode ocorrer pela urina e pelo leite materno. Em concentrações elevadas, o cobre já demonstrou provocar irritações no sistema respiratório, problemas renais e hepáticos, e também, sintomas gastrointestinais, como: vômito, náusea, diarreia e dores abdominais (ATSDR, 2022b; Royer e Sharman, 2022).

O manganês (Mn) é um metal comumente utilizado na produção de aço e ferro. Tem ocorrência natural no ar, solo, água e alimentos e é um elemento essencial, agindo no organismo como um cofator para o funcionamento de enzimas. Na exposição ocupacional a principal rota de absorção é inalatória, enquanto para a população geral é oral. A forma predominante no corpo humano é a forma reduzida de  $Mn^{2+}$ . Ele se distribui por diferentes tecidos do corpo, principalmente, fígado, pâncreas e rins. A eliminação ocorre pela excreção da bile nas fezes. A exposição a altas concentrações de manganês pode trazer efeitos negativos aos pulmões e sistema neurológico (ATSDR, 2012c; Evans e Masullo, 2023).

Outro metal que é considerado um nutriente essencial é o zinco (Zn). Um dos elementos mais comuns na crosta terrestre, o zinco pode ser encontrado no ar, solo, água e alimentos. O zinco metálico tem muitos usos na indústria, entre eles na galvanização para revestimento de aço, ferro, e outros metais, evitando ferrugem e corrosão. A via inalatória é a predominante nos casos de exposição ocupacional. Uma vez absorvido, o zinco é distribuído por todo o corpo, sendo que, 90% dele, pode ser encontrado em músculos e ossos. Não é metabolizado e é excretado por fezes e urina (ATSDR, 2005b). Uma exposição oral prolongada ao zinco pode resultar em deficiência de cobre, com diminuição do número de eritrócitos e hematócrito. Outros efeitos relacionados aos altos níveis de zinco são irritações respiratórias e gastrointestinais (ATSDR, 2005b; Agnew e Slesinger, 2023).

Todos esses elementos listados acima podem estar presentes na composição ou serem utilizados durante os processos de montagem/soldagem de colares, anéis e brincos de ouro, prata ou bijuterias em Limeira, assim como nos processos siderúrgicos em Volta Redonda. Tendo em vista os aspectos de saúde da população trabalhadora, componentes do processo de produção como arsênio, cádmio, cromo hexavalente e compostos de níquel são classificados como carcinogênicos pela *International Agency on Research Cancer* (IARC, 2012); enquanto, chumbo (IARC, 2006) e a forma trivalente do antimônio são possivelmente carcinogênicos para humanos (IARC, 2022).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Avaliar se o trabalho informal domiciliar com joias e bijuterias, em Limeira, e o trabalho formal na siderúrgica, em Volta Redonda, podem alterar o transcriptoma dos trabalhadores e impactar desfechos a saúde.

### 2.2 ESPECÍFICOS

a) quantificar as concentrações de EPTs (As, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) na urina da população de Limeira, e nas peças de joias e pó de solda utilizados nos domicílios onde o trabalho informal ocorre.

b) quantificar a concentração de EPTs (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn e Zn) no sangue da população de Limeira e Volta Redonda;

c) avaliar os riscos de doenças associados a exposição ocupacional e as concentrações dos EPTs no sangue das duas populações do estudo;

d) verificar possíveis associações entre a exposição ocupacional e diferenças na expressão gênica dos trabalhadores, em comparação aos grupos de indivíduos residentes nos mesmos bairros (grupo Controle), mas que não trabalham em processos produtivos que envolvam exposição química.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

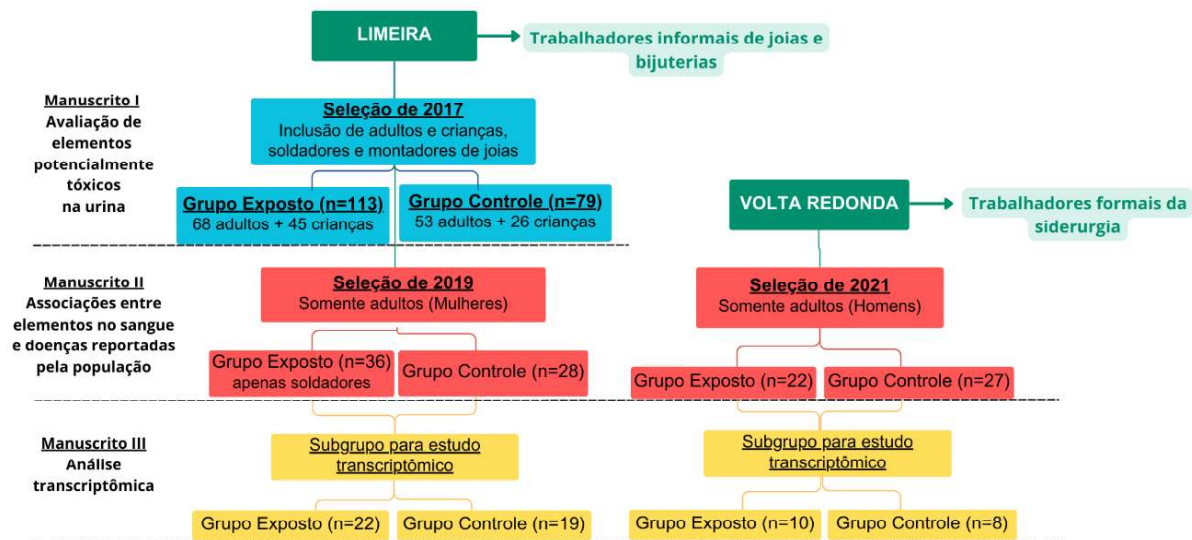
#### 3.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO

As duas campanhas de coleta compreendidas neste estudo foram aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (Protocolo N° 41965115.0.0000.5421) e pelo Conselho Nacional de Ética em Pesquisa do Brasil (CONEP- Número do Parecer 3.537.461, CAAE: 13458919.7.0000.5421). Trata-se de um estudo transversal que faz parte de dois projetos financiados pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo FAPESP 2016/11087-8; 2018/18391-0) sob coordenação da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Kelly P. K. Olympio. Por este motivo, o primeiro manuscrito apresentado nesta tese (Manuscrito I) apresenta resultados de EPTs na urina e nas peças de bijuteria da população de Limeira que participou das coletas no ano de 2017. Uma nova campanha de coleta aconteceu em 2019, em Limeira, e em 2021, em Volta Redonda, das quais foram avaliadas as associações entre doenças reportadas pela população e as concentrações de EPT no sangue (Manuscrito II) e, um subgrupo desta amostra foi considerado para a análise transcriptômica e avaliação das diferenças de expressão gênica (Manuscrito III). O fluxograma com o número amostral incluído nesta tese está apresentado na Figura 3.

Portanto, na campanha de coleta de 2017 (Manuscrito I), foram incluídas 52 famílias, envolvendo um total de 192 participantes de diferentes faixas etárias, incluindo crianças, jovens, adultos e idosos. Esses indivíduos foram os mesmos incluídos no estudo realizado por Ferreira et al. (2019). Os participantes foram divididos em dois grupos de acordo com a exposição ocupacional. O primeiro grupo foi denominado grupo Exposto (n = 113), no qual foram incluídos os trabalhadores e seus familiares, sendo que, no domicílio, pelo menos um membro da família trabalhava informalmente montando ou soldando peças de joias. O segundo

foi chamado de grupo Controle, cujos indivíduos não deveriam ter nenhum membro da família envolvido com a produção de joias ou qualquer exposição química (n = 79).

Figura 3. Fluxograma com o número de participantes incluídos neste estudo.



Na campanha de 2019 em Limeira (Manuscrito II e III), foram incluídos apenas adultos (18 a 50 anos). Em 2021, também foi adicionado um novo campo de coleta em Volta Redonda. Os participantes selecionados para esta pesquisa foram divididos em dois grupos: a) grupo Exposto, que inclui trabalhadores informais do setor de soldagem de joias e bijuterias de Limeira – SP e trabalhadores formais da siderurgia de Volta Redonda – RJ. Todos os trabalhadores incluídos estavam em atividade plena, não sendo aposentados; b) grupo Controle que inclui residentes nos mesmos bairros dos trabalhadores, mas que não trabalham com exposição química, nem em Limeira, nem em Volta Redonda. Essa inclusão do grupo de controle ambiental (grupo de referência) tem o intuito de regular e investigar a exposição ambiental do local em que os participantes vivem, sem a influência da exposição ocupacional. Na cidade de Limeira, a população foi composta, exclusivamente, de pessoas do sexo biológico feminino, uma vez que a grande maioria dos trabalhadores informais eram mulheres, que

desenvolviam a atividade de solda em casa, enquanto cuidavam dos seus filhos. Em Volta Redonda, o perfil da população era o oposto, visto que, a grande maioria dos trabalhadores formais da siderúrgica eram do sexo biológico masculino; portanto, apenas homens foram incluídos nesta amostragem. Esta decisão de padronizar o sexo dos participantes foi tomada para evitar a variabilidade dos resultados transcriptômicos em cada uma das populações.

Nas duas campanhas, a seleção dos controles seguiu uma distância de quatro casas das casas das famílias trabalhadoras, e a partir da 4ª casa, poderia ser feito o convite para participação na pesquisa (Ferreira et al., 2019). Só foram selecionados os moradores que atendiam o critério de não trabalharem com exposição química. Preferencialmente, o participante do grupo Controle era selecionado na mesma rua do participante exposto, nos casos em que os moradores não aceitavam o convite, ou não se encaixavam nos critérios de seleção, a próxima casa, no sentido horário, era convidada. Somente participaram do estudo, pessoas que após serem informadas sobre os procedimentos da pesquisa, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). A recusa em assinar o TCLE foi considerada como critério de exclusão.

A fim de controlar a variabilidade genética que o transcriptoma abrange e permitir a confiabilidade dos resultados, alguns critérios de inclusão foram adotados para a seleção da população do estudo transcriptômico (Manuscrito III). Os critérios foram definidos baseados na literatura, a qual indica a utilização de indivíduos considerados saudáveis; visto que os efeitos da idade, dieta, doenças e uso de medicamentos pode alterar a expressão gênica (Whitney et al., 2003; Bahr et al., 2013; McHale et al., 2013; Vrijheid et al., 2014).

A princípio, a intenção deste estudo era recrutar apenas participantes com índice de massa corporal (IMC) entre 18,5 e 24,9 kg/m<sup>2</sup>, sendo assim, classificada como saudável, segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 1995). Entretanto, a realidade apresentada pela população em Limeira era oposta. Por se tratar de um trabalho informal e doméstico, a grande maioria eram



mulheres que realizavam a solda para complementar a renda, algumas delas já aposentadas, outras, com horários flexíveis, alternando as atividades domésticas e o cuidado dos filhos com a produção de bijuterias (Gemma et al., 2021). Além disso, por ser um trabalho manual e com baixa remuneração, as trabalhadoras passam horas do dia sentadas e por esse motivo não realizam atividades físicas, o que se reflete no alto nível de pessoas com sobrepeso ou obesidade nesta população. As principais dificuldades na implantação dos critérios de seleção eram a idade e peso dos trabalhadores, além de muitos serem fumantes. Concluímos que, se fossem incluídos apenas indivíduos considerados no peso saudável, nós não teríamos uma representação real da população estudada, por isso, foram incluídos neste estudo, tanto em Limeira quanto em Volta Redonda, participantes nas faixas de IMC normal, sobrepeso, obesidade I e II, igualmente distribuídos nos grupos Exposto e Controle. Por esse motivo, além das amostras de sangue para análise transcriptômica e de metais, também foram coletadas amostras de sangue para dosagem de insulina, glicose e perfil lipídico.

Para controlar a variação interindividual e a interferência de fatores que não sejam a exposição ocupacional e ambiental (Whitney et al., 2003; Bahr et al., 2013; McHale et al., 2013; Vrijheid et al., 2014), foram excluídos, do estudo transcriptômico, indivíduos: a) com a idade inferior a 18 anos e superior a 50 anos; b) atletas; c) fumantes; d) gestantes; e) no período da menopausa; f) com diagnóstico de câncer e/ou doença autoimune; g) que fizeram uso de anti-inflamatórios nos últimos 30 dias. Os demais medicamentos e suplementos utilizados foram avaliados por questionário.

### 3.2 SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES

Na cidade de Limeira, a metodologia utilizada para seleção da população foi a de amostra de conveniência. O contato dos trabalhadores informais foi obtido com o auxílio da

Secretaria Municipal de Saúde e dos Agentes Comunitários de Saúde dos Centros de Saúde da Família. Também foram utilizados os dados sobre atividades ocupacionais coletados previamente no trabalho de Ferreira et al. (2019), os quais facilitaram a seleção inicial dos participantes e permitiram uma melhor compreensão da população do estudo e dos processos de trabalho desenvolvidos. Preferencialmente, os indivíduos selecionados em Limeira foram os mesmos que participaram das pesquisas anteriores, configurando um desenho longitudinal (coorte prospectiva), entretanto, o nível de aceitação entre os participantes anteriores foi baixo. O alto grau de informalidade do serviço também dificultou o desenho longitudinal, uma vez que muitos trabalhadores já estavam desenvolvendo outras atividades ocupacionais.

Em Volta Redonda, a abordagem epidemiológica para acesso à população foi a *snowball technique* (Goodman, 1961). Para isso, um número inicial de pessoas que, preferencialmente, conhece muitos componentes da população-alvo, foi selecionado, com a ajuda de um professor de uma Universidade particular da região, membro do grupo parceiro da ENSP-FIOCRUZ, morador da cidade e funcionário público da Secretária Municipal de Educação. Após o contato inicial com os primeiros participantes, solicitamos a eles informações acerca de outros membros da população que também trabalhavam na siderúrgica, para, então, convidá-los para participar da pesquisa. Controles que moravam no mesmo bairro dos trabalhadores selecionados também foram contactados pela mesma técnica.

Os trabalhadores e controles localizados nas duas cidades foram visitados para uma entrevista, na qual foi realizado o primeiro cadastro para seleção dos participantes e foram transmitidas as informações sobre o estudo. Posteriormente, foi realizada a pesagem e a medição da estatura dos indivíduos, e estes, se concordavam, assinavam o TCLE. Todos os participantes foram contatados por telefone para agendamento da coleta.

Os indivíduos selecionados para o estudo transcriptômico (Manuscrito III) foram orientados a não praticarem nenhum tipo de exercício físico no período de 48 horas

anteriores às coletas e a não consumirem nenhum tipo de bebida alcoólica 1 semana antes da coleta de sangue, também foram orientados a manterem dieta habitual nos 14 dias anteriores às coletas. A última refeição do dia anterior à coleta, antes das 12 horas de jejum, foi fornecida pela equipe da pesquisa de forma a padronizar a influência dietética sobre os achados. Esta refeição, o jantar, teve cardápio elaborado por uma nutricionista e foi composto por arroz, feijão, filé de frango, cenoura refogada e uma salada de alface e tomate.

### 3.3 QUESTIONÁRIOS

A fim de selecionar os participantes e avaliar a associação dos resultados da análise transcriptômica com os perfis de saúde da população, foram aplicados três questionários. O primeiro deles (ANEXO III) era um cadastro individual dos possíveis participantes, no qual as principais perguntas relacionadas à seleção deste estudo foram avaliadas, como por exemplo, idade, tabagismo, gravidez, menopausa, uso de anti-inflamatórios, doenças. Os outros dois questionários (ANEXOS IV e V) foram aplicados, apenas, aos participantes selecionados.

O questionário domiciliar de risco e morbidade referida (ANEXO IV) foi adaptado de um estudo do Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2004) e foi aplicado a todos os participantes, podendo ser um informante, caso existisse mais de um participante na mesma residência. Este questionário visava identificar o perfil de saúde da população exposta ocupacionalmente e dos indivíduos participantes para controle ambiental, além de avaliar hábitos alimentares, tabagismo e alcoolismo. No questionário, existem módulos de triagem relacionados com a percepção de saúde e morbidade referida da população. Portanto, mediante as respostas dadas no módulo inicial, ocorre a identificação dos principais sistemas orgânicos afetados e são abordadas questões específicas de cada sistema.

O terceiro e último questionário (ANEXO V) foi aplicado apenas nos participantes trabalhadores formais ou informais, visto que levanta questões sobre a exposição ocupacional atual e anterior na produção de joias em Limeira ou na siderurgia em Volta Redonda (AIHA, 2015).

### 3.4 ANÁLISE DAS BIJUTERIAS E PÓ DE SOLDA

As análises das joias e do material utilizado para a soldagem foram realizadas com um analisador portátil de raio-X (Niton TM XL2 XRF Analyzer da Thermo Fisher™) *in situ*, nas residências dos trabalhadores que participaram da campanha de coleta em 2017. As análises foram realizadas em triplicata por 30 segundos cada, observando um intervalo de 10 segundos entre as análises em triplicata. As peças de joias medidas tinham uma composição heterogênea e, para garantir uma análise mais abrangente, foram feitas medições individuais em diferentes pontos da peça, sendo cada resultado tratado separadamente. Os resultados foram comparados com os limites estabelecidos pela legislação brasileira sobre joias, que atualmente são de 100 mg kg<sup>-1</sup> para cádmio e 300 mg kg<sup>-1</sup> para chumbo (INMETRO, 2015). O pó de solda foi colocado em uma placa de Petri, previamente lavada com HNO<sub>3</sub> 10%. Antes de analisar o pó, as concentrações de EPTs na placa foram analisadas e as diferenças espectrais entre a placa e o pó consideradas nos resultados (Thermo Fischer, 2019; Radu e Diamond, 2009; NDT NITON, 2018).

Para controle de qualidade, o equipamento de XRF foi calibrado de acordo com o procedimento padrão recomendado pelo fabricante, o qual envolve a padronização e medição de uma liga específica de aço inoxidável (liga 316). A calibração era realizada toda vez que o equipamento entrava em operação e era repetida quando em uso por mais de 4 horas ininterruptas (Silva et al., 2018).

### 3.5 COLETA DE URINA E SANGUE

As amostras de urina foram coletadas em 2017 na cidade de Limeira – SP (n = 192). Os recipientes de polietileno para coleta de urina (CRALPLAST, São Paulo, Brasil) foram embalados, individualmente, em sacos plásticos, rotulados para cada morador do domicílio, e deixados nas residências dos participantes (trabalhadores, familiares e controles) no dia anterior a coleta. Todos os participantes foram instruídos a abrir os recipientes apenas no momento da coleta para evitar contaminação externa e fornecer a primeira urina da manhã, desprezando o primeiro jato. As mães foram instruídas a ajudar seus filhos na coleta. Testes de migração foram realizados no recipiente de coleta, os quais foram deixados com ácido nítrico durante a noite. Os resultados negativos dos elementos estudados (<LD) indicaram que não houve transferência do material que constitui o recipiente para a amostra (Aprea et al., 2018). Após a coleta, as amostras de urina foram transportadas em isopor com elemento frio para o Laboratório de Análise da Exposição Humana a Contaminantes Ambientais (LEHCA), da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP-USP), onde foram armazenadas a -80 °C até a quantificação de EPTs.

Amostras de sangue venoso (6 mL) foram coletadas em tubos Vacutainer® para quantificação de EPTs no sangue (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn, and Zn). Uma amostra de sangue venoso (2 mL) de cada participante foi coletada em tubos BD Vacutainer® com heparina de lítio para dosagem de insulina. Outra amostra de sangue venoso (2mL) foi coletada em tubos BD Vacutainer® Fluoreto/EDTA para dosagem de glicose no plasma e outra (5 mL) foi coletada em tubos para Sorologia com Gel Separador VACUETTE® para análise do perfil lipídico. Para a análise transcriptômica, as amostras de sangue venoso (2,5 mL) foram coletadas em tubos *PAXgene* (PreAnalytix, Qiagen), os quais contêm uma solução de lise da

membrana celular para imediata estabilização do RNA total permitindo a conservação e transporte do sangue.

Na cidade de Limeira, a coleta do sangue ocorreu nos meses de outubro e novembro de 2019. Em Volta Redonda, a coleta de sangue ocorreu entre novembro e dezembro de 2021. As coletas de sangue foram realizadas por enfermeiros ou técnicos em enfermagem experientes.

Após a coleta em Limeira, os tubos foram transportados em caixas térmicas com gelo para o laboratório LEHCA, da FSP-USP. Em Volta Redonda, os tubos foram transportados em caixas térmicas com gelo para o laboratório do CESTEJ na ENSP-Fiocruz no Rio de Janeiro. As amostras de glicose e perfil lipídico foram analisadas imediatamente, o restante foi armazenado em ultra freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises.

### 3.6 ANÁLISES LABORATORIAIS

#### 3.6.1. Quantificação de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPTs) no sangue e na urina

O preparo e a quantificação dos EPTs (As, Cr, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) nas amostras de urina foram realizados no Centro de Ciências Naturais e Humanas (CCNH) da Universidade Federal do ABC por espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS Agilent 7900, Hachioji, Japão) operando com alta pureza argônio (99,999%, White Martins, Brasil).

Alíquotas de urina (250  $\mu\text{L}$ ) foram pipetadas em tubos Falcon, conjuntamente, com uma solução contendo 0,4 v/v  $\text{HNO}_3$  65% m/v (Synth, São Paulo, Brasil) + 0,005% v/v Triton X-100 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) até o volume de 5 mL (Freire et al., 2018). Todos os reagentes eram de grau analítico, exceto  $\text{HNO}_3$ , que foi purificado por um sistema de

destilação sub ebulição (Savillex™ DST-1000, Minnetonka, EUA). A preparação de todas as amostras e soluções foram realizadas com água deionizada de alta pureza (resistividade 18,2 MΩ\* cm) obtida usando um sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore, Bedford, EUA).

Uma solução padrão multielemento na concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> de cada elemento (PerkinElmer, Norwalk, CT, EUA) foi usada para preparar as soluções de calibração. O método foi validado pela análise em triplicata do material de referência certificado (CRM) para elementos tóxicos na urina (2670a - liofilizado) do NIST (*National Institute of Standards and Technology*). As recuperações de materiais certificados variaram de 92% a 114%. O padrão interno também foi utilizado como medida de controle de qualidade e a análise de um CRM ou de uma solução de calibração de concentração conhecida foi realizada a cada 50 amostras. O irídio foi adicionado como padrão interno em todas as análises. Hélio foi usado como o gás da célula de colisão para evitar interferência espectral para As, Cu, Mn, Pb e Zn. O modo padrão foi usado para Cd, Cr e Ni. As condições de operação do ICP-MS foram definidas de acordo com Freire et al. (2018) e estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Condições de operação do espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) utilizado para quantificação de elementos potencialmente tóxicos nas amostras de urina de Limeira – SP.

<b>Condições de operação do ICP-MS</b>	
Isótopos monitorados e seus respectivos limites de detecção (µg L <sup>-1</sup> )	<sup>75</sup> As (1,93), <sup>52</sup> Cr (3,08), <sup>55</sup> Mn (1,9), <sup>60</sup> Ni (0,54), <sup>63</sup> Cu (0,29), <sup>111</sup> Cd (0,02), <sup>208</sup> Pb (0,13), <sup>66</sup> Zn (10,7).
Padrões Internos	<sup>193</sup> Ir (10 µg L <sup>-1</sup> )
Gerador de RF	1550 W
Célula de colisão	Hélio (pureza >99.999 %) (5 mL min <sup>-1</sup> )
Nebulizador	Mira Mist™
Fluxo de gás do Nebulizador	1,01 L min <sup>-1</sup>
Câmara de nebulização	Scott ( <i>double pass</i> )
Interface	cone Ni
<i>Skimmer</i>	0.45 mm
Número de varreduras	100
Replicatas	3

As concentrações dos EPTs na urina foram ajustadas pela concentração de creatinina ( $\mu\text{g g}^{-1}$  creat.) para corrigir a variação de volume (Barr et al., 2005). A creatinina foi determinada utilizando um kit de análise colorimétrica. Os componentes da amostra reagiram com uma solução de ácido pícrico sob condições alcalinas, formando um complexo vermelho, que foi medido em um espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 510 nm.

O preparo e a quantificação dos EPTs nas amostras de sangue foram realizados no Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT) por espectrometria de massas do tipo triplo quadrupolo com plasma indutivamente acoplado (TQ ICP-MS, Thermo Fisher Scientific<sup>TM</sup>, Bremen, Germany).

Uma alíquota de 200  $\mu\text{L}$  de cada amostra de sangue foi diluída 1:50 em um tubo de 15 mL FALCON<sup>®</sup> com solução contendo 0,01% (v/v) de Triton X- 100 e ácido nítrico 0,5% (v/v). Em cada amostra foi adicionado 1 mL de solução padrão de Y, Ga, Ir e Tb como padrão interno. O preparo das amostras e soluções foram realizados com água deionizada de alta pureza (resistividade 18,2 M  $\Omega$  cm a 25°C). Todas as amostras foram preparadas e analisadas em triplicata, assim como as soluções de branco analítico.

O TQ ICP-MS foi operado com 99,9999% de argônio (Air Products<sup>TM</sup>) com hélio e oxigênio (Linde<sup>TM</sup>) na célula de colisão/reação. O instrumento foi ajustado antes da análise elementar para obter a maior sensibilidade. Os principais parâmetros utilizados, massas selecionadas e limites de detecção (LD) para cada amostra estão indicados na Tabela 1.

O controle de qualidade do método analítico foi realizado com o uso de curvas de calibração, análise de brancos e leitura do material de referência certificado de sangue total humano liofilizado (Serorm<sup>®</sup> TE Whole Blood Level II - Stasjonsveien) a cada 15 amostras. Todos os dados analíticos foram avaliados com o software Qtegra<sup>TM</sup> ISDSTM (Thermo Fisher Scientific<sup>TM</sup>, Bremen, Alemanha).



Tabela 2. Condições operacionais do espectrômetro de massas triplo quadrupolo com plasma acoplado indutivamente, valores de massa definidos nos quadrupolos e limite de detecção (LD) para cada elemento quantificado nas amostras de sangue.

Parâmetros Instrumentais		Elemento	Massa Q1 (u)	Massa Q3 (u)	Sangue (LD)
Gerador de RF	1550 W	Cr	52	68 ( <sup>52</sup> Cr <sup>16</sup> O <sup>+</sup> )	0,05
Fluxo de gás do Nebulizador	1,04 L min <sup>-1</sup>	Mn	---	55	0,20
Fluxo de gás He	4,8 L min <sup>-1</sup>	Co	---	59	-
Fluxo de gás O <sub>2</sub>	0,60 L min <sup>-1</sup>	Ni	---	60	1,45
Nebulizador	MicroMist U-Series 0,4 mL min <sup>-1</sup>	Cu	---	63	2,4
Câmara de nebulização	Ciclônica de vidro	Zn	---	66	7,55
Injetor	2.5 mm id, Quartzo	As	75	91 ( <sup>75</sup> As <sup>16</sup> O <sup>+</sup> )	0,05
Interface	Alta Sensibilidade (3,5 mm), cone Ni	Cd	---	111	0,05
Bomba Peristáltica	40 rpm	Sn	---	118	0,05
Temperatura da câmara	2,7 °C	Sb	---	121	0,05
Tempo de permanência	0,1 s	Hg	---	202	0,35
Número de varreduras	10	Pb	---	208	0,30

### 3.6.2. Análise de insulina, glicose, perfil lipídico e proteína c-reativa

A análise de insulina foi realizada no Laboratório de Genômica Nutricional e Inflamação (Genuin) com utilização do Kit Insulin AccuBind ELISA Microwells – 2425-300. As dosagens foram realizadas em duplicata seguindo a metodologia de análise proposta no kit. Ao final, foi quantificada a dosagem de insulina em microUI/mL e seguido o valor de referência para insulina em jejum entre 3,0 a 25,0 microUI/mL (SBD, 2019). Também foi calculado o valor de HOMA-IR, neste caso, os valores > 2,71 indicavam resistência à insulina (Geloneze et al., 2006; Geloneze et al., 2009).

As amostras de glicose e perfil lipídico coletadas na cidade de Limeira foram analisadas, imediatamente após a coleta, pelo Centro de Saúde Escola Geraldo de Paulo Souza da FSP-USP. Na cidade de Volta Redonda, estas amostras foram analisadas em laboratório particular da cidade, imediatamente após a coleta de sangue. Os valores de referência adotados foram: glicose = 60 a

99 mg dL<sup>-1</sup> (SBD, 2019); colesterol < 190 mg dL<sup>-1</sup>; HDL > 40 mg dL<sup>-1</sup>; LDL < 130 mg dL<sup>-1</sup>; VLDL < 40 mg dL<sup>-1</sup>; não-HDL < 160 mg dL<sup>-1</sup> e triglicérides < 150 mg dL<sup>-1</sup>; (Précoma et al., 2019).

Para o subgrupo da transcriptômica, amostras de plasma coletadas pelo grupo de pesquisa foram utilizadas para quantificar a proteína C reativa de alta sensibilidade (PCR-as) por Imunoturbidimetria em laboratório particular da cidade de São Paulo.

### 3.6.3. Análise transcriptômica

Antes da análise transcriptômica, os tubos *PAXgene* foram transportados em gelo seco a -80°C, por uma empresa especializada (AmerisourceBergen Corporation, World Courier), até a Grécia, onde ocorreu a análise. Todo o procedimento de preparo da amostra, isolamento do RNA e análise transcriptômica em Microarray foi realizado pela doutoranda no centro de pesquisa HERACLES (*Health and Exposome Research: Assessing Contributors to Lifetime Exposure and State of Health*) localizado na *Aristotle University of Thessaloniki* (AUTH) – Grécia, sob responsabilidade do Prof. Dr. Dimosthenis Sarigiannis durante período de Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior (BEPE) financiada pela FAPESP. O Prof. Dr. Dimosthenis Sarigiannis é coordenador da coorte sobre expossoma na Grécia, parte do HEALS (*Health and Environment-wide Associations based on Large population Surveys*), o maior projeto de pesquisa financiado pela União Europeia sobre expossoma.

Para isolamento e purificação do RNA total, foi utilizado o kit Paxgene Blood RNA kit (PreAnalytiX, 2015). Resumidamente, os tubos com 2,5 mL de amostra de sangue de todos os indivíduos foram retirados do -80°C e incubados em temperatura ambiente por 2 h. Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 2.2000 g a 15°C. O sobrenadante foi removido e os pellets de células foram incubados com uma mistura de 300 mL de tampão de ligação e 40 mL da enzima proteinase K por 10 min a 55°C com agitação de 800 rpm. O lisado

resultante foi centrifugado (20.000 g) por 3 min em uma coluna de rotação PAXgene® Shredder, e o sobrenadante foi misturado com 350 mL de etanol 100% em outra coluna de rotação, seguida de centrifugação (20.000g) por 1 min. Finalmente, ocorreu a adição da DNase I, para remoção de fragmentos de DNA, caso existissem. O RNA purificado foi eluído por tampão de eluição, desnaturado por incubação a 65°C por 5 min e resfriado em gelo. Todo esse procedimento está reproduzido detalhadamente no manual da *PreAnalytiX* (2015). No final do processo de purificação, a concentração e qualidade do RNAm (razões A260/A280) foram avaliadas pelo espectrofotômetro *Nanodrop* ND-1000 (Marshall Scientific, Hampton, NH, EUA). Todas as amostras analisadas tinham razões A260/280 maiores que 1,8. O RNA total foi preservado a -20°C até o momento da análise em Microarray.

A preparação das amostras para análise em Microarray consistiu em um procedimento para transcrição reversa dos RNAs extraídos de cada amostra e posterior hibridização na placa do Microarray para leitura. O protocolo da Agilent nomeado “*Low input quick amp labeling protocol G4140-90040*”, na versão 6.5, foi utilizado neste procedimento de preparação, purificação e hibridização da amostra (Agilent, 2015). Em 200 ng de RNA total de cada amostra foi adicionado a mistura do Spike-In para monitorar as reações de rotulagem e o desempenho do microarray, posteriormente, cada amostra foi amplificada individualmente. O RNA total foi transcrito reversamente em cDNA usando o *primer T7-promoter*. Então, o cDNA foi transcrito em cRNA e, durante este processo, o RNA foi marcado com fluorescência por incorporação do corante de cianina (Cy3). A incorporação do corante e o rendimento do cRNA foram verificados com *Nanodrop* ND-1000 (Marshall Scientific, Hampton, NH, EUA) seguindo o protocolo de hibridização do fabricante. Amostras com números de integridade baixos (RIN) ou baixa concentração de RNA após a extração foram excluídas para garantir dados confiáveis (8 amostras de Volta Redonda e 1 amostra de Limeira). Finalmente, as amostras foram hibridizadas na placa *SurePrint G3 Human Gene Expression 8x60K v2 Microarray*

(ID:039494) (Agilent Technologies, Inc., CA), de acordo com o protocolo do fabricante (Agilent, 2015). A hibridização ocorreu a 65°C durante 17 horas, após este período, as placas passaram por banhos com solução tampão e seguiram para análise. Os parâmetros de qualidade usados durante a análise em Microarray estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros utilizados para controle de qualidade da análise em Microarray.

<b>Medidas de Controle de Qualidade</b>	
Razões A260/280	> 1.8
Valores de integridade do RNA (RIN)	> 7
Volume total de RNA para início da análise	200 ng
Rendimento do cRNA	> 0,825 µg
Concentração de cianina (Cy3)	≥ 6 pmol Cy3 per µg cRNA
Volume de cRNA corado para hibridização	600 ng

A análise da expressão gênica foi realizada no equipamento *SureScan Microarray Scanner* (Agilent Technologies, Inc., CA), o qual permite a avaliação da expressão de milhares de genes, simultaneamente. A lâmina hibridizada foi submetida ao scanner, conectado a um software específico de análise de dados. A quantificação do sinal de fluorescência permitiu a comparação dos genes entre os diferentes grupos e condições experimentais (van Leeuwen et al., 2006; Cheng et al., 2016; Espín-Pérez et al., 2018). Os dados brutos foram extraídos pelo software Feature Extraction (versão 10.7.1.1; Agilent Technologies). Os arquivos de extração foram importados para o software *GeneSpring GX 13.1.1* (Agilent Technologies, Inc., CA) para análise posterior.

### 3.7 ANÁLISE DOS RESULTADOS

#### 3.7.1. Análise estatística no sangue e urina

As diferenças estatísticas para os níveis sanguíneos e urinários de EPTs entre os grupos foi avaliada pelo teste de Mann-Whitney, considerando o nível de significância de 0,05 no software STATA 13.1 (STATA Corporation, TX, EUA). O teste de Kruskal-Wallis foi realizado para avaliar as diferenças estatísticas entre as diferentes categorias de participantes (trabalhadores, seus familiares e controles) e os tipos de trabalho (solda, montagem, trabalhos não relacionados a joias) e os valores de EPTs na urina. A partir de um teste significativo de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ), foi realizado o teste de comparações múltiplas de Dunn para identificar quais dos grupos era diferente.

Elementos cujas concentrações no sangue e urina ficaram abaixo do limite de detecção (LD) foram atribuídos um valor de  $LD/\sqrt{2}$  (Crogham e Egeghy, 2003). Foi considerado um desvio entre replicatas (RSD) de 30%. Amostras que não apresentaram esse valor foram descartadas e consideradas como *missing values*.

Um Estudo de Associação Ampla Ambiental (EWAS) (Patel et al., 2010; Pino et al., 2017) foi realizado nos resultados da campanha de 2017 (Manuscrito I) usando modelos de regressão logística para investigar associações entre as concentrações de EPTs na urina e a exposição ocupacional. O modelo foi ajustado para sexo e idade. Uma taxa de 5% de falsas descobertas de Benjamini-Hochberg (FDR) foi aplicada para ajustar o modelo para correção múltipla (Benjamini e Hochberg, 1995). A fim de avaliar melhor os possíveis fatores de confusão nos resultados, o modelo também foi ajustado para o status de fumante. Uma análise de sensibilidade foi realizada no modelo para avaliar a robustez das associações e a sensibilidade dos achados incluindo estratificações por gênero e para indivíduos adultos (idade  $> 18$  anos). A correlação entre EPTs foi avaliada usando a correlação de Spearman e uma análise de cluster foi realizada para identificar possíveis relações entre os dados (Ball e Hall, 1967). Uma análise de poder da amostra foi aplicada utilizando o pacote “*powermediation*” em R (Peduzzi et al., 1996; Qiu e Qiu, 2020).

Modelos de classificação de árvore de decisão (Random Forest) foram usados para avaliar o desempenho preditivo dos EPTs quantificados na urina para os grupos de exposição. A análise da curva ROC (Receive Operating Characteristic) e a área sob as curvas (AUROC) foi usada para avaliar o desempenho do modelo de árvores de decisão. O AUROC indica o número de vezes que o classificador acertou a predição contra o número de vezes que o classificador errou a predição, portanto quanto maior o AUC, melhor a predição do modelo.

Estas análises estatísticas foram realizadas usando o ambiente de software R ('The R Project for Statistical Computing') (v3.5.2). O pacote ggplot2 foi usado para plotar os resultados (Wickham, 2016). As correlações foram plotadas usando o pacote corrplot (Wei et al., 2017). As regressões logísticas foram realizadas usando o pacote Stats (Team, 2013). A análise de classificação Random Forest foi realizada usando o pacote Python 3.6 e Scikit-learn (Pedregosa et al., 2011).

### 3.7.2. Análise estatística dos questionários e doenças autorreferidas

As respostas dos questionários foram digitadas no Excel e transferidas para análise estatística no software STATA 13.1 (STATA Corporation, TX, EUA). Estatística descritiva, teste exato de Fisher e teste qui-quadrado foram realizados para todas as variáveis demográficas e de saúde. Para a investigação das associações entre as concentrações de EPTs e os desfechos de saúde (Manuscrito II) foi elaborado um Gráfico Acíclico Direcionado (DAG – Directed acyclic graph) utilizando a versão web do software DAGitty. O DAG oferece representações sistemáticas de relações causais, determinando o ajuste de covariáveis e minimizando o viés de confusão. Todas as implicações sugeridas pelo DAG foram testadas e nenhuma delas foi rejeitada, sugerindo consistência entre o DAG e o conjunto de dados (Textor et al., 2017). Somente foram incluídas no modelo as variáveis de saúde que apresentaram frequência de

desfecho de 40 a 60% para evitar problemas associados a um baixo número de eventos. Este critério de porcentagem baseou-se no número mínimo de eventos absolutos suficientes para estimar a associação, visto que menos de dez eventos por variável pode enviesar as direções positiva e negativa dos coeficientes de regressão (Peduzzi et al., 1996). Os modelos foram ajustados pelas variáveis sugeridas pelo DAG, sendo elas: exposição ocupacional (sim ou não), etnia (“pardo”, branco e outros), idade (em anos) e tabagismo (sim ou não).

O poder amostral foi calculado através do software EPIDAT 3.1 considerando uma frequência de eventos entre 40 e 60%. Assim, o grupo amostral de Limeira com 64 participantes teve um poder de 88% para identificar uma diferença nos níveis de metal de pelo menos 80% do desvio padrão. Em Volta Redonda, o número amostral necessário para atingir o poder de 80% era de 52 participantes, entretanto, com as perdas durante a coleta, o número amostral final foi de 49 participantes.

As associações entre as concentrações de EPTs no sangue e os desfechos de saúde foram testadas usando o modelo de regressão de Poisson. As associações foram testadas apenas para os elementos que apresentaram diferenças estatisticamente significativas no sangue entre trabalhadores e controles, portanto arsênio, cádmio e chumbo na população de Limeira. Os desfechos de saúde analisados foram: doenças respiratórias (enfisema tuberculoso, bronquite, asma, sinusite, rinite, amigdalite, faringite, pneumoconiose, entre outras), doenças neurológicas (enxaqueca, problemas de sono, autismo, epilepsia, entre outras) e dores de cabeça. Duas variáveis agrupadas foram criadas considerando as variáveis mencionadas acima. A variável manifestações respiratórias, que agrupou as doenças respiratórias com o sintoma de falta de ar; e a variável de manifestações neurológicas, definida como qualquer uma das doenças neurológicas ou sintomas de dores de cabeça. Para associações significativas, alguns pontos de corte foram explorados com base na relação entre os quantis e a frequência do desfecho. As diferenças entre as médias de glicose, insulina e perfil lipídico dos grupos foram comparadas

pelo teste de Mann-Whitney. As associações entre esses valores e as concentrações de EPTs no sangue foi avaliada por regressão linear com ajuste para as mesmas variáveis sugeridas pelo DAG.

### 3.7.3. Estatística da análise transcriptômica

O software *GeneSpring* (GX 13.1.1) da *Agilent*, que é específico para análise de dados transcriptômicos foi utilizado para execução dos testes estatísticos (Manuscrito III). O processamento de dados incluiu processos de filtragem e normalização. Os dados brutos foram filtrados para remover resultados aberrantes (*outliers*) e ruído (*background-expressed genes*), além da exclusão de *probes* comprometidas e não detectadas. A lista de genes também foi filtrada para manter apenas genes expressos biologicamente e remover os genes de controle da análise. Os conjuntos de genes também foram filtrados por erro considerando um coeficiente de variação do sinal  $< 50\%$ . Então, os dados foram submetidos à normalização por quantil.

A análise estatística com intenção de identificar genes diferencialmente expressos (DEGs) entre os grupos foi feita por análise de *fold-change* (FC). Resultados com  $FC > 2$  foram considerados para identificar genes com diferentes proporções de expressão em termos de regulação positiva ou negativa entre grupo Exposto e grupo Controle. A análise de agrupamento hierárquico foi realizada para visualizar as diferenças entre as amostras com base em seus perfis de expressão gênica. A análise de componentes principais (PCA) foi empregada para exploração visual, fornecendo informações sobre a estrutura geral do conjunto de dados analisado e desempenho analítico.

A análise de vias de interesse (*pathways*) relacionadas ao DEGs identificados neste estudo também foi realizada no software *GeneSpring* utilizando os bancos de dados disponíveis do *WikiPathways* e *KEGG*. A análise de ontologia gênica (GO) foi realizada no software



PANTHER 14.1 (Mi et al., 2019). Uma análise de rede (*network analysis*) foi realizada na plataforma online NetworkAnalyst 3.0 para investigar associações entre genes e doenças (Zhou et al., 2019).

### 3.8 QUESTÕES ÉTICAS

Anteriormente à entrega dos TCLEs para assinatura, foi realizada a explanação dos objetivos do estudo e esclarecimento de dúvidas. Todos os participantes desta pesquisa (expostos e controles) receberam os resultados das concentrações de EPTs no sangue com explicação detalhada e a comparação com os valores de referência no Brasil. Os pesquisadores ficaram à disposição para esclarecimentos em caso de dúvidas. Em caso de necessidade, houve encaminhamento dos participantes da pesquisa para os serviços municipais de saúde. Durante a divulgação do estudo em congressos e eventos científicos, ou na publicação de artigos, a identificação dos indivíduos foi mantida em sigilo.

O risco deste estudo foi considerado mínimo para o participante da pesquisa, referente ao desconforto causado pela coleta de sangue e tempo dispendido para responder os questionários. Como exemplos, eventualmente, podem ocorrer dor no local da coleta ou surgimento de marca roxa. Vale salientar que o material para a coleta foi descartável e de alta qualidade, todas as normas de segurança foram seguidas e a coleta foi realizada por profissional habilitado e com experiência. O diagnóstico precoce e entrega dos laudos dos exames são benefícios deste estudo.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### ARTIGOS:

MANUSCRITO I. “*Home-based informal jewelry production increases exposure of working families to cadmium*” (publicado na *Science of the Total Environment*, FI = 9.8, classificada como A1 em saúde coletiva no Qualis/ CAPES).

doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.147297.

MANUSCRITO II. “*Blood levels of potentially toxic elements in workers and their association with referred health outcomes*” (preparado para submissão para revista internacional).

MANUSCRITO III. “*Occupational exposure to heavy metals alters gene expression profiles in formal and informal Brazilian workers*” (publicado na *Environmental Research*, FI = 8.3, classificada como A1 em saúde coletiva no Qualis/ CAPES).

doi:10.1016/j.envres.2023.116835.

#### 4.1 MANUSCRITO I

### **Home-based informal jewelry production increases exposure of working families to cadmium**

Salles FJ<sup>1</sup>, Tavares DJB<sup>1</sup>, Freire BM<sup>2</sup>, Ferreira APSS<sup>3</sup>, Handakas E<sup>4</sup>, Batista BL<sup>2</sup>, Olympio KPK<sup>1</sup>, \*

<sup>1</sup>Department of Environmental Health, School of Public Health, University of Sao Paulo, Av. Dr. Arnaldo, 715, Cerqueira Cesar, CEP 01246-904, São Paulo, SP, Brazil. E-mail: fjsalles@usp.br, davidjohnson@usp.br, saconeap@usp.br, kellypko@usp.br.

<sup>2</sup> Center for Natural and Human Sciences, Federal University of ABC, Avenida dos Estados, 5001. Bairro Santa Terezinha. Santo André - SP - Brasil, CEP 9210-580, Santo André, SP, Brazil. E-mail: bruna\_231@hotmail.com, bruno.lemos@ufabc.edu.br.

<sup>3</sup>Agilent Technologies, 121 Hartwell Ave, Lexington, MA 02421.

<sup>4</sup>Imperial College London, Department of Medicine, Computation and Medicine, London, United Kingdom. E-mail: e.chandakas@imperial.ac.uk.

\*Corresponding Author: E-mail: kellypko@usp.br (+55 11 3061-7121)

**Acknowledgements:** The authors would like to thank the volunteers who agreed to participate in this investigation. The authors acknowledge the support of the Health Secretariat of Limeira city and the collaboration of all community health agents and coordinators of the basic health units included in this study.

**Funding:** This work was supported by the FAPESP (Grants #2016/11087-8, #2015/21253-0, #2016/07457-4, #2017/25424-9) and the CNPq.

**Competing interests:** The authors declare that they have no competing interests.

**Abstract**

Trace element concentrations in biological fluids may vary according to the individual exposome, especially when considering specific external factors of the environment, such as occupational activities. The aim of this study was to determine concentrations of Potentially Toxic Elements (PTEs: As, Cr, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) in urine samples of informal jewelry workers and in jewelry and soldering powder. Fifty-two families from Brazil comprised the Exposed (n=113) and Control (n=79) groups. PTE concentrations in urine samples (n=192) of workers, controls and their family members were determined by ICP-MS. Soldering powder samples (n=7) and jewelry pieces (n=54) were measured for PTEs by field-portable X-Ray fluorescence. Levels of PTEs in urine and occupational exposure associations were determined. The environment-wide association study (EWAS) approach was applied to test the influence of occupational activities on participant exposure. Mean PTE concentrations were within the limits recommended in urine by Brazilian occupational guidelines. However, As, Cd, Ni and Zn concentrations in some samples exceeded acceptable values for environmental exposure in the U.S and Canada, as well as Brazilian occupational limits. Cd concentrations were higher for women ( $0.19 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinine;  $p=0.01$ ), adult workers ( $0.25 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinine;  $p=0.0002$ ) and smokers ( $0.27 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinine;  $p=0.0001$ ). The difference between the Exposed ( $0.17 \mu\text{g g}^{-1}$  creat.) and Control groups ( $0.10 \mu\text{g g}^{-1}$  creat.) for Cd was significant among non-smokers. Workers engaged in soldering and assemblers had higher Cd concentrations ( $0.61$  and  $0.18 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinine, respectively) than individuals not working with jewelry production ( $0.12 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinine). PTEs in some jewelry and all soldering powder exceeded Brazilian limits. Considering this exposure scenario, informal jewelry production increased urinary cadmium levels in workers. Occupational exposure to this element in the household environment should be explored, as it may pose a health risk to family members and workers alike.

**Keywords:** Urine; Toxic elements; Jewelry; Informal sector; Cadmium; Occupational health.

## 1. INTRODUCTION

Biomonitoring of potentially toxic element (PTE) concentrations has become a surveillance measure globally (Rehman et al., 2018; Gil and Hernández, 2015; Waseem and Arshad, 2016). Monitoring these elements in biological fluids enables researchers to assess the exposure profile of different populations and better understand serious environmental public health problems (Batista et al., 2009; Rocha et al., 2016; Santos et al., 2018). A number of countries have conducted large-scale surveys to establish the baseline ranges of trace elements in their populations. The main examples are the analysis of trace elements in the U.S population by the U.S. National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), in Canada (Saravanabhavan et al., 2017) and in European countries (Minoia et al., 1990; White and Sabbioni, 1998; Heitland and Köster, 2006; Roca et al., 2016; Aprea et al., 2018).

Measurement in urine samples is widely used, representing the main route of excretion for most chemical elements, and is a non-invasive method that is better accepted by the population (Esteban and Castaño, 2009; Santos et al., 2018). PTE levels in urine may vary according to individual exposure, the environmental and occupational conditions (Batista et al., 2009). Few studies using urine samples to evaluate environmental exposure to toxic elements have been conducted in Brazil (Batista et al., 2009; Rocha et al., 2016; Santos et al., 2018; Fernandes et al., 2018). Moreover, to the best of our knowledge, no large-scale Brazilian surveys evaluating these elements in the general population are available.

Small-scale industries are a neglected part of developing countries' economies. These operations include cottage industries, whose activities are conducted in a home environment where families may be at risk of occupational exposure due to a lack of occupational hygiene. Therefore, occupational and environmental health studies investigating this informal work scenario are important. Many studies on different types of cottage industries have been conducted worldwide, particularly in regions such as India, Nepal, South Africa, Pakistan, and

South America (Baig et al., 2005; Joshi and Dahal, 2008; Wani and Jaiswal, 2011; Teare et al., 2015; Tamayo-Ortiz and Navia-Antezana, 2018; Ferreira et al., 2019).

Some of the PTEs evaluated in the present study (Cr, Cu, Mn, Ni, and Zn) are essential to human physiological function; however, excessive concentrations can compromise health. Other PTEs (As, Cd, and Pb) not required for the human body are considered toxic under all circumstances. PTEs can have numerous deleterious effects on health, especially for the respiratory tract, and may promote renal, cardiovascular, gastrointestinal, hematological, developmental and reproductive damage, as well as cancer (ATSDR, 2005; 2007a,b; 2012). Cd and Pb are known to cause neurological problems that are often irreversible (ATSDR 2007b, 2012; Olympio et al., 2009; Karri et al., 2016; Branca et al., 2018). Thus, determining exposure to PTEs and their concentrations in human biofluids is key for human health assessment.

The aim of this study was to determine PTE concentrations (As, Cr, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) in urine of a population involved in home-based, informal outsourced work with jewelry and fashion jewelry in Limeira city, São Paulo state, Brazil. PTE concentrations in the jewelry produced and soldering powder used were also measured. We sought to investigate whether occupational exposure to chemicals can affect urinary levels of PTE and discussed the health risk to workers and their family members.

## 2. METHODOLOGY

### 2.1 Study Population

This study included 52 families, involving a total of 192 participants from different age groups, including children, youths, adults and elderly. These individuals were the same subjects included in the study performed by Ferreira et al. (2019), which presents PTEs results in blood and breathing zone air samples of workers engaged in soldering. All participants lived in the

city of Limeira, São Paulo state, Brazil. This location was selected because it is the largest center for the production of jewelry and fashion jewelry in the country (Lacorte et al., 2013).

The outsourcing scenario of the city of Limeira presents different routes of exposure. The jewelry production process in the city includes the use of chemical elements with high toxic potential in the home, where all residents, including children, may be exposed to gases, metal alloys and dust from production activities (Lacorte et al., 2013; Ferreira et al., 2019). The predominant route of occupational exposure is PTE inhalation, however, depending on the material and composition of the jewelry components, exposure may also occur through ingestion and dermal contact (ATSDR, 2005).

The families were divided into two groups according to occupational exposure. The first group was called the Exposed group (n=113); in this case, the inclusion criteria were at least one member of the family working informally in their home assembling or soldering jewelry parts. Thus, those workers and their family members residing in the same household where the production process took place were assigned to the Exposed group. The second group was called Control group, whose subjects had to meet the criterion that no member of the household was involved with jewelry production or had any chemical exposure (n=79). Furthermore, the inclusion criteria for both groups were agreeing to participate in the study and signing the written informed consent form.

Exposure assessment questionnaires were applied in order to identify details of the workplace conditions (place/room in the house used to work, size of this space, ventilation, number of people involved or sharing the environment), job tasks, work process, use of protective equipment, individual's working lifetime and materials used (AIHA, 2015). Food groups (milk, coffee, meats, fruit, vegetables, carbohydrates, beans, sweet products, and nuts) consumed in the 24 hours prior to collection (yes/no) were also evaluated by the questionnaires.

## 2.2 Urine sample collection and preparation

Urine samples (n=192) of workers, their family members, and of controls were collected. On the day prior to collection, polyethylene containers for urine collection (CRALPLAST, São Paulo, Brazil) were left at participants' homes. The urine containers were individually wrapped in plastic bags, labeled for each household resident and opened only at the time of collection to avoid external contamination. Tests were carried out using nitric acid overnight and negative results (< LD) indicated no transfer of the material constituting the container for any of the elements studied (Aprea et al., 2018). All participants were instructed to provide the first urine in the morning and to not collect the initial discharge, only the normal urine flow. Mothers were instructed to help their children with collection.

After collection, urine samples were transported in an icebox to the Laboratory for the Analysis of Human Exposure to Environmental Contaminants of the University of Sao Paulo and stored at -80°C until determination of PTEs.

The urine sample collection, as well as questionnaire application, was carried out between July and August 2017. Ethical approval was obtained from the Institutional Review Board of the School of Public Health of the University of Sao Paulo (Protocol N° 41965115.0.0000.5421).

## 2.3 Urine chemical analysis

### 2.3.1 Element determination

Urine aliquots (250 µL) were pipetted into falcon tubes. The volume was then made up to 5 mL with a solution containing 0.4 v/v HNO<sub>3</sub> 65% m/v (Synth, São Paulo, Brazil) + 0.005% v/v Triton X-100 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) (Freire et al., 2018). All reagents were of analytical grade, except HNO<sub>3</sub>, which was purified by a sub-boiling distillation system (Savillex™ DST-1000, Minnetonka, USA). High purity deionized water (resistivity 18.2



M $\Omega$ \*cm) obtained using a Milli-Q water purification system (Millipore, Bedford, MA, USA) was used for the preparation of samples and solutions. The PTE concentrations (As, Cr, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) were determined using an inductively coupled plasma mass spectrometer equipped with a collision cell (ICP-MS Agilent 7900, Hachioji, Japan) operating with high-purity argon (99.999%, White Martins, Brazil). Helium (99.999 %, White Martins, Brazil) was used as a collision cell gas. The level of Ar and He quality was 5.0. Each sample was analyzed in triplicate.

Calibration was performed by matrix-matching over the range 1-200  $\mu\text{g L}^{-1}$ , by spiking a pool of human urine collected from healthy adult volunteers in each calibration solution. A multi-element standard solution at a concentration of 1000  $\text{mg L}^{-1}$  of each element (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA) was used to prepare calibration solutions. The isotopes monitored were  $^{52}\text{Cr}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{60}\text{Ni}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Zn}$ ,  $^{75}\text{As}$ ,  $^{111}\text{Cd}$ , and  $^{208}\text{Pb}$ . The ICP-MS operating conditions were set according to Freire et al. (2018). For sample introduction, a Mira Mist Nebulizer TM (Burgener Research Inc., Mississauga, Ontario, Canada) and a Scott (double pass) spray chamber were used. The Radio Frequency power was 1550 W. High purity argon (99.999 %, White Martins, Brazil) was used for plasma generation (15  $\text{L min}^{-1}$ ) and as an auxiliary (1.2  $\text{L min}^{-1}$ ) and nebulizer gas (1.01  $\text{L min}^{-1}$ ).

Method detection limits (LOD) were: 1.93 for As; 0.02 for Cd; 3.08 for Cr; 0.29 for Cu; 1.9 for Mn; 0.54 for Ni; 0.13 for Pb; and 10.7 for Zn ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ). As a quality control, the method was validated by analyzing certified reference material (CRM) 2670a Toxic Elements in Urine (Freeze-Dried) from the National Institute of Standards and Technology (NIST) in triplicate. Certified material recoveries ranged from 92% to 114% in the NIST 2670a "High level". Results are given in the supplementary material (Table S1). Recoveries ranged from 92 to 114%. The methodological limits of detection were calculated, as were the  $r^2$  of the calibration curves, which ranged from 0.9981 to 1.0000 (0.9981 for Zn, 0.9988 for Cu and Cr, 0.9989 for

Ni and Cd, 0.9991 for Pb and As, and 1.0000 for Mn). The internal standard was also used as a quality control measure, and analysis of a CRM or a calibration solution of known concentration was performed every 50 samples. Iridium was added as the internal standard in all analyses. Helium ( $5 \text{ mL min}^{-1}$ ) was used as the collision cell gas to preclude spectral interference for As, Cu, Mn, Pb and Zn. The standard mode was used for Cd, Cr, and Ni (Freire et al., 2018).

### 2.3.2 Creatinine determination

All the samples were adjusted by the creatinine concentration ( $\mu\text{g g}^{-1}$  creat.) to correct for the disadvantage of varying volume and chemical concentrations (Barr et al., 2005). Creatinine was determined using a colorimetric system kit. The sample components react with a picric acid solution under alkaline conditions, forming a red complex measured on a UV-Vis spectrophotometer at 510 nm wavelength.

## 2.4 Jewelry and soldering powder analysis

For 29 households, in which workers lived and performed some stage of the jewelry production process, soldering powder and jewelry samples were measured by a field-portable X-Ray fluorescence analyzer. All these analyses were performed in October and November 2018.

The analyses of the jewelry and material used for soldering were performed using a Niton TM XL2 XRF Analyzer (Thermo Fisher™) *in situ*, at workers' residences. The analyses were carried out in triplicate using three different sample orientations for 30 seconds each, observing a 10-second interval between the triplicate analyses. The measured jewelry pieces had a heterogeneous composition and, to ensure a more comprehensive analysis, individual measurements were carried out at different points on the piece with each result treated separately. The results were compared against the limits set by the Brazilian legislation on

jewelry, which are currently  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  for cadmium and  $300 \text{ mg kg}^{-1}$  for lead (INMETRO, 2015). The soldering powder was placed in a Petri dish, previously washed with  $\text{HNO}_3$  10%. Before analyzing the powder, the PTE concentrations in the plate were analyzed and spectral differences between plate and powder considered in the results (Thermo Fischer, 2019; Radu and Diamond, 2009; NDT NITON, 2018).

For quality control, the XRF equipment was calibrated according to the standard procedure recommended by the manufacturer. The calibration procedure entails the standardization and measurement of a specific stainless-steel alloy (alloy 316). Calibration was performed every time the equipment started operation and was repeated when in use for more than four hours without interruption (Silva et al., 2018).

## 2.5 Data processing and statistical analysis

Descriptive statistical treatment of the data was performed, including minimum and maximum, standard deviation, geometric mean (GM), the corresponding 95% confidence interval (95% CI) and the 95<sup>th</sup> percentiles of each element.

The participants were stratified by age (continuous variable), sex (female or male), smoking status (yes/no) and by exposure group (Exposed or Control). The calculation of percentiles, means and standard deviations was also performed for each element in the two groups. Differences for PTE concentrations in urine between groups (Exposed and Control; males and females; smokers and non-smokers) were tested by the Mann-Whitney test. The samples were also categorized into four different age groups (1-5, 6-11, 12-19 and >20 years), and the Mann-Whitney test performed between Exposed and Control groups for each group.

The Kruskal-Wallis test was performed to evaluate the statistical differences between the participant categories (workers, their relatives and people not working with jewelry) and the types of work (soldering, assembly, work unrelated to jewelry). Dunn's test of multiple

comparisons was performed following a significant Kruskal-Wallis test ( $p < 0.05$ ). All statistical analysis was conducted using Stata Statistical Software 13.0 (StataCorp LLC, College Station, TX, USA).

An Environment Wide Association Study (EWAS) (Patel et al., 2010; Pino et al., 2017) was carried out using logistic regression models to seek emerging relationships between PTEs in urine levels and occupational exposure. The model was adjusted for sex and age (Model 1). A Benjamini-Hochberg false discovery rate (FDR) of 5% (Benjamini and Hochberg, 1995) was applied to adjust the model for multiple correction. To further assess for potential confounding factors in the results, the model was also adjusted for smoking status (Model 2).

A sensitivity analysis was conducted on the model to assess the robustness of the associations and sensitivity of findings for gender and adult individuals (age >18 years).

Correlation between PTEs was evaluated using Spearman's correlation and a cluster analysis was performed to identify potential linkages between the data (Ball and Hall, 1967).

The ability to classify exposed or non-exposed populations was examined by applying receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. The analysis consisted of a five-fold cross-validation procedure based on independent subsampling of discovery and replication of data sets. A Random Forest classification model (Breiman, 2001) was trained on 80% of the data and tested on the remaining 20%. Area under the receiver operating characteristic (AUROC) curves was used for assessing the performance of the model. Random Forest classification models were selected in this analysis because they: 1) can effectively describe non-linear relationships; 2) require little in the way of parameter tuning; and 3) are well-studied algorithms with previous successful application in environmental datasets. A Random Forest classification model of 200 trees was trained on the relevant training set using scikit-learn default parameters (Pedregosa et al., 2011). The minimum number of cases were evaluated using the Peduzzi et al. (1996) rules, as well as by applying a power analysis using the

“powermediation” package in R” (Qiu and Qiu, 2020) provided in the supplementary material (Figure S1).

The statistical analyses were conducted using R (‘The R Project for Statistical Computing’) software environment (v3.5.2). The *ggplot2* package was used for plotting the results (Wickham, 2016). Correlations were plotted using the *corrplot* package (Wei et al., 2017). Logistic regressions were conducted using the Stats package (Team, 2013). Random Forest classification analysis was carried out using the Python 3.6 and Scikit-learn package (Pedregosa et al., 2011).

### 3. RESULTS

#### 3.1 Urine

The exposure questionnaire responses provided a detailed description of the study population characteristics (Table 1). Most of the workers reported not using personal protective equipment; none used respiratory protection equipment and only two reported the use of safety glasses during the soldering process. The working environments were all within houses not equipped with mechanical ventilation systems or local exhaust ventilation. Most of the workers (78%) shared the workplace with other family members. On average, workers engaged in soldering work 7.5 hours per day and had performed this work for more than five years. Overall, 63% of participants were over 20 years of age. The proportion of current smokers was 14.5 %, of which 9.4% belonged to the Exposed group. For gender distribution, 52% of participants were female, 43.5% of whom soldered jewelry parts. Food consumption did not differ significantly between the exposure groups ( $p>0.05$ ).

Table 1. Absolute frequency of demographic characteristics of participants, by exposure group and sex. Limeira, São Paulo, 2017.

Variable	Overall		Exposed group		Control group		p
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	
<b>Subjects</b>	91	101	58	55	33	46	0.11
<b>Smokers</b>	14	14	10	8	4	6	0.35
<b>Age</b>							0.42
1-5 years	7	5	4	1	3	4	
6-11 years	9	11	8	5	1	6	
12-19 years	26	13	18	9	8	4	
20 – 59 years	43	64	25	33	18	31	
>60 years	6	8	3	7	3	1	
<b>Type of work</b>							<0.05
Assembly	5	27	5	27	0	0	
Sold	4	15	4	15	0	0	

The concentrations of eight different elements were determined in urine from 192 participants by ICP-MS. The geometric mean (GM) for each PTE determined is given in Tables 2 and 3, according to sex and smoking habits in each group. It was not possible to calculate the GM for the element Mn, because of the high number of values below the LOD (98% for Mn). Some of the results for As, Cd, Cr and Ni were also below the LOD (6.8% for As, 1.6% for Cd, 24% for Cr and 1.1% for Ni). These cases were assigned a value equal to the detection limit divided by the square root of 2 ( $LOD/\sqrt{2}$ ) (Croghan and Egeghy, 2003).

Regarding the comparison between groups, a statistically significant difference was found for Cd concentrations between the Exposed and Control groups ( $p=0.004$ ). As shown in Table 2, the urine cadmium of the Exposed group had a higher geometric mean ( $0.18 \mu\text{g g}^{-1}$  creat.) than that of the Control group ( $0.11 \mu\text{g g}^{-1}$  creat.). Additionally, exposed women had higher Cd concentrations in urine ( $0.28 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinine) than women from the Control group ( $0.12 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinine;  $p = 0.0002$ ). Table 3 shows that exposed non-smokers had higher Cd concentrations in urine ( $0.17 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinine) than control non-smokers ( $0.10 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinine;  $p = 0.003$ ), indicating this informal work represents a significant source of cadmium exposure.

The differences between Cd concentrations in the groups are depicted in Figure 1. Furthermore, Cd concentrations were higher in women ( $0.19 \mu\text{g g}^{-1}$  creat.;  $p=0.01$ ) compared to men ( $0.12 \mu\text{g g}^{-1}$  creat.); and in smokers ( $0.27 \mu\text{g g}^{-1}$  creat.;  $p=0.0001$ ) compared to non-smokers ( $0.14 \mu\text{g g}^{-1}$  creat.).

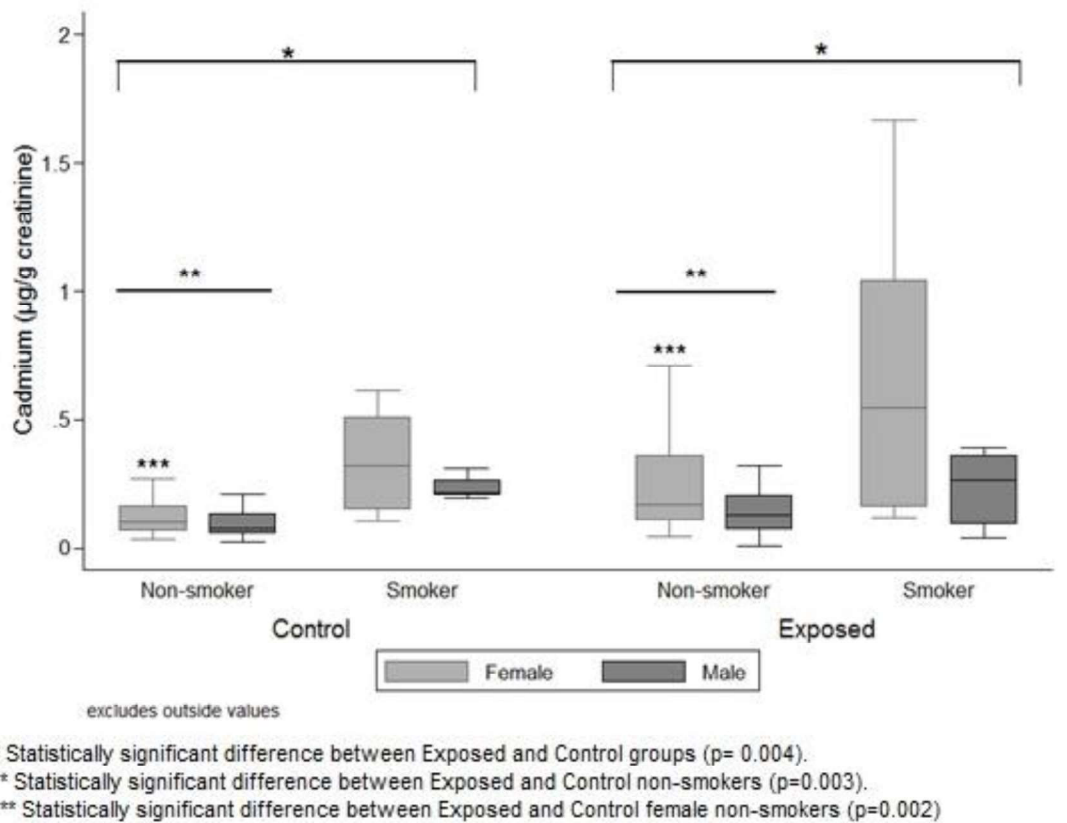


Figure 1. Cadmium concentrations in urine for the two exposure groups, smoking habit and sex.

Table 2. Geometric means (GM) of potentially toxic elements (PTE) in urine, by exposure group and sex.

PTE (unit.)	Exposed Group						Control Group					
	Overall		Female		Male		Overall		Female		Male	
	GM (95%CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95%CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95%CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95%CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95%CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95%CI)	95 <sup>th</sup>
<b>As</b>	5.59 (4.94-6.33)	18.29	5.32 (4.46-6.34)	17.15	5.86 (4.91-7.00)	19.28	5.99 (5.19-6.92)	16.58	6.20 (5.13-7.50)	15.46	5.71 (4.53-7.18)	23.58
<b>Cd</b>	0.18 (0.14-0.23)*	1.49	0.28 (0.19-0.39) <sup>Ω</sup>	3.52	0.13 (0.10-0.16)	0.75	0.12 (0.1-0.14)*	0.45	0.12 (0.10-0.15) <sup>Ω</sup>	0.51	0.11 (0.09-0.14)	0.32
<b>Cr</b>	5.88 (5.02-6.88)	29.23	6.74 (5.25-8.65)	39.79	5.19 (4.25-6.34)	23.66	7.93 (5.81-8.26)	21.91	7.46 (5.87-9.47)	27.07	6.20 (4.75-8.08)	17.64
<b>Cu</b>	6.87 (6.18-7.64)	17.78	7.75 (6.68-8.98)	19.39	6.15 (5.29-7.15)	17.26	7.59 (6.75-8.53)	16.15	7.79 (6.67-9.10)	15.52	7.29 (6.03-8.82)	18.63
<b>Mn</b>	< LD	-	< LD	-	< LD	-	< LD	-	< LD	-	< LD	-
<b>Ni</b>	1.89 (1.62-2.20)	6.83	2.09 (1.66-2.62)	6.86	1.74 (1.41-2.14)	6.25	2.14 (1.84-2.50)	7.25	2.30 (1.90-2.79)	7.17	1.93 (1.49-2.51)	6.13
<b>Pb</b>	1.37 (1.24-1.52)	3.57	1.45 (1.24-1.69)	3.97	1.30 (1.14-1.49)	3.42	1.35 (1.17-1.60)	5.11	1.40 (1.17-1.67)	4.64	1.29 (1.00-1.66)	6.02
<b>Zn</b>	258 (227-295)	762	258 (209-320)	934	258 (219-305)	749	282 (242-328)	922	307 (248-380)	1,109	248 (201-307)	719

\* Statistically significant difference between Exposed and Control groups (p = 0.004).

<sup>Ω</sup> Statistically significant difference between Exposed and Control females (p = 0.0002).



Table 3. Geometric means (GM) of potentially toxic elements (PTE) in urine, by exposure group and smoking habit.

PTE (unit.)	Exposed Group				Control Group			
	Non-smokers		Smokers		Non-smokers		Smokers	
	GM (95%CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95%CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95%CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95%CI)	95 <sup>th</sup>
<b>As</b>	5.81 (5.04-6.68)	19.40	4.64 (3.63-5.93)	10.16	5.95 (5.09-6.95)	17.31	6.35 (3.95-10.21)	14.93
<b>Cd</b>	0.17 (0.13-0.21) <sup>#</sup>	1.73	0.28 (0.17-0.46)	1.67	0.10 (0.09-0.12) <sup>#</sup>	0.33	0.26 (0.17-0.41)	0.62
<b>Cr</b>	6.44 (5.40-7.69)	34.51	3.61 (2.84-4.58)	9.45	6.81 (5.66-8.20)	21.45	7.90 (4.06-15.36)	45.40
<b>Cu</b>	7.21 (6.42-8.11)	19.39	5.40 (4.20-6.93)	11.79	7.49 (6.59-8.51)	16.75	8.36 (5.93-11.80)	15.25
<b>Mn</b>	< LD	-	< LD	-	< LD	-	< LD	-
<b>Ni</b>	2.04 (1.74-2.41)	6.86	1.24 (0.83-1.85)	3.62	2.17 (1.83-2.57)	7.22	1.94 (1.30-2.89)	4.52
<b>Pb</b>	1.40 (1.25-1.58)	3.74	1.24 (1.06-1.45)	2.01	1.33 (1.13-1.60)	5.50	1.52 (1.11-2.07)	3.11
<b>Zn</b>	279 (243-320)	812	175 (121-254)	697	274 (235-320)	878	347 (171-704)	960

<sup>#</sup> Statistically significant difference between Exposed and Control non-smokers (p = 0.003).

Geometric means (GM) of urinary levels of the elements and their 95% confidence intervals (CI 95%), and 95th percentiles are presented as supplementary material (Table S2). The PTE results, stratified by age group, are also presented, in comparison with Canadian and USA reports, and Brazilian regulatory legislation with reference values for occupational exposure. Exposed adults (age >20 years) had higher Cd concentrations in urine than control adults (p = 0.0003).

Regarding type of work, a statistically significant difference was found between groups (Figure 2). Workers engaged in soldering had higher concentrations of Cd (0.61  $\mu\text{g g}^{-1}$  creat) than individuals not working with jewelry production (0.12  $\mu\text{g g}^{-1}$  creat). Assemblers also had

higher Cd ( $0.18 \mu\text{g g}^{-1} \text{ creat}$ ) concentrations than controls. Cadmium concentrations also differed for type of participant, ( $p=0.0001$ ), where workers had higher values ( $0.29 \mu\text{g g}^{-1} \text{ creat}$ ) than both relatives ( $0.12 \mu\text{g g}^{-1} \text{ creat}$ ) and controls ( $0.12 \mu\text{g g}^{-1} \text{ creat}$ ).

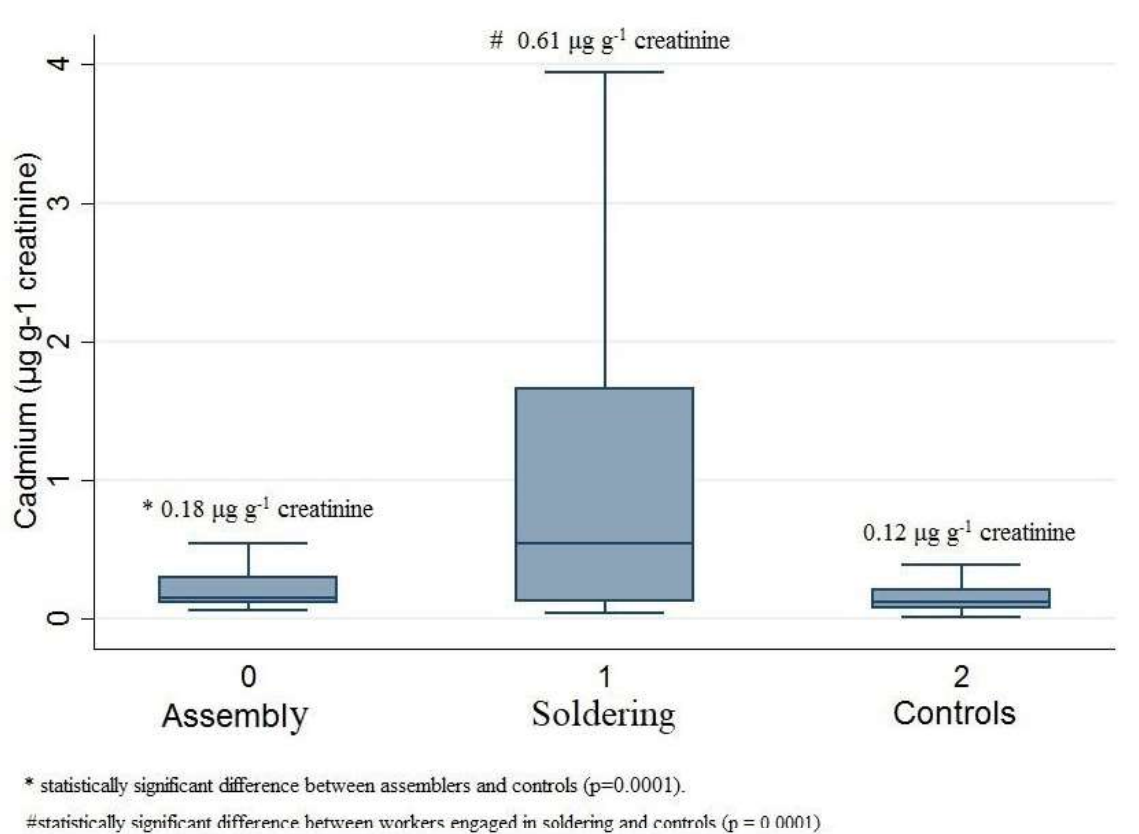


Figure 2. Urinary cadmium concentrations ( $\mu\text{g g}^{-1} \text{ creatinine}$ ) according to type of work (jewelry assemblers, workers engaged in soldering, and controls).

The creatinine results differed between males ( $121.76 \text{ mg L}^{-1}$ ) and females ( $103.54 \text{ mg L}^{-1}$ ), and among children ( $72.81 \text{ mg L}^{-1}$ ), adolescents ( $128.93 \text{ mg L}^{-1}$ ), and adults ( $114.41 \text{ mg L}^{-1}$ ). Muscle is an important source of creatinine in urine and can result in higher creatinine-corrected results in children compared to adults (CDC,2019). Creatinine excretion can vary with age, sex, and ethnicity; these factors may therefore influence creatinine-adjusted concentrations among different demographic groups (Canada, 2013; 2017).

### 3.2 Jewelry and fashion jewelry analyses

Measures were taken for 54 jewelry and fashion jewelry pieces, totaling 162 analyses. The majority of the pieces had compositions comprising copper and zinc (66.4 % of the material tested).

The percentage of analyses exceeding the permitted cadmium and lead limits for each reference country, and minimum and maximum concentrations (Min-Max) measured by field-portable X-Ray fluorescence (FP-XRF), are presented as supplementary material (Table S3). Approximately 6% of the analyses indicated concentrations above the limits for cadmium and 7% for lead.

### 3.3 Soldering powder

The composition of soldering powder samples (n=7) was predominantly cadmium, copper, and zinc. None of the samples contained nickel. Values, in mg kg<sup>-1</sup>, of the concentration of PTEs in the material used for soldering are given in Table 4.

Table 4. Potentially toxic elements (PTE) in soldering powder samples, measured by field-portable X-Ray fluorescence (FP-XRF).

PTE	GM (n=21)	SD	Min	Max
Cd	11,418	31,695	1,339	83,244
Cr	887	622	<LOD <sup>#</sup>	2,537
Cu	156,182	186,994	40,865	514,222
Ni	*	-	<LOD <sup>#</sup>	<LOD <sup>#</sup>
Pb	*	-	<LOD <sup>#</sup>	50
Zn	95,033	121,416	23,904	327,394

Values in mg kg<sup>-1</sup>. GM = Geometric mean; SD = Standard deviation; Min-Max = minimum and maximum values.

\* High percentage of analyses with results below LOD (> 80%) precluded calculation of geometric mean for these elements.

# The detection limits (LOD) were different for each of the samples analyzed. The minimum and maximum (ppm) were 47–7,959 for Cd; 114–394 for Cr; 949–40,313 for Cu; 79–246 for Ni; 14–235 for Pb; and 573–26,236 for Zn.

### 3.4 Urine PTE levels and occupational exposure associations

The analysis of the 192 participants, after adjusting for age and sex, revealed that only Cd was significantly associated ( $FDR < 5\%$ ) with exposure status (Figure S2). Further adjusting of the main model (Model 1) for smoking status (Model 2) showed that Cd remained significantly associated with exposure status. Spearman correlations between the PTEs are depicted in the supplementary material (Figure S3).

A hierarchical clustering analysis showed that the distances between Cd and Pb, between Cr and As, as well as between Co and Zn, were the smallest among those in the dendrogram, disclosing high similarity in the examined population (Figure S4). Although correlation analysis showed only low levels of correlations, the hierarchical cluster analysis revealed similarity in the population subgroups examined. A further investigation of the raw data showed that these similarities stem from individuals of the same subgroups. The two main subgroups are the family and working status.

To further assess the stability of the associations in Model 1 and Model 2, the population was stratified by sex, age ( $\geq 18$  years) and by non-solderer and non-assembler. The results generally showed strong consistent associations for Cd upon stratification for all stratification cases examined except Model 1, stratified by female gender (Figure S5).

Random Forest classification models were used to evaluate the predictive performance of the PTEs determined for the exposure groups. The PTEs exhibited a strong predictive ability on the ROC AUC exceeding 0.9 (Figure S6).

## 4. DISCUSSION

To the best of our knowledge, this is the first study in Brazil reporting environmental and occupational exposure data for eight different PTEs in urine samples of individuals of

different age groups, ranging from children to older adults. In addition, concentrations of the same PTEs found in both jewelry parts and soldering powder were reported, furthering understanding about exposure sources.

Urine cadmium concentrations best reflect cumulative exposures and body burden (Adams and Newcomb, 2014). According to Jäpur and Akesson (2009), urine cadmium shows good correlation with blood cadmium. The GM and 95<sup>th</sup> percentile in the urine of the Exposed group were higher than in the Control group and also exceeded values from Canadian (2013) and U.S. reports (CDC, 2019). The GM found was similar to French results ( $0.33 \mu\text{g g}^{-1}$  creat.), but the 95<sup>th</sup> percentile for the Exposed group in the present study was higher than the percentile for the French population (Nisse et al., 2017), and also for the Italian population (Aprea et al., 2018). Our results for children corroborate values observed in Spain (Roca et al., 2016). Of the total samples, some exceeded the reference values ( $2 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinine) for occupational exposure in Brazil (Brasil, 1994), all of which were from workers engaged in soldering. High concentrations of Cd were also observed in soldering powder and jewelry parts used by the informal workers. Cadmium in jewelry is not an unwanted contaminant but deliberately introduced during the production process (Pouzar et al., 2017). It is used for its favorable properties, such as ease of use rust resistance, and low cost. In some countries, Cd is also used as a substitute for Pb, which is subject to stringent regulations (Weidenhamer et al., 2011; Pouzar et al., 2017; Kern et al., 2020).

According to the OSHA (2004), potential exposure to this element increases in soldering activities. Cigarette smoke is also a major source of cadmium exposure via inhalation (OSHA, 2004; IARC, 2012; ATSDR, 2012). Therefore, the main model was adjusted for smoking status, and Cd remained significantly associated with exposure status, indicating that informal work with jewelry represents a relevant source of Cd exposure. Oral dietary exposure should also be considered an environmental source (Jäpur and Akesson, 2009; ATSDR, 2012). Cadmium

concentrations in foods vary, depending on the level of environmental contamination. Higher Cd intakes are expected for specific dietary habits, for example, among vegetarian or shellfish-rich diets (Järup and Akesson, 2009). The analysis of food groups consumed in the 24 hours leading up to sample collection showed no significant differences between the exposure groups for any food item.

Urine cadmium levels in this study were not high compared to background levels in other countries, possibly due to the heterogeneity of samples and workflows adopted. However, the 95th percentile for the exposed population ( $3.17 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinine) aged over 20 years (working age) was higher than values found in Canada and the USA (Table S2). Moreover, some urine samples contained high concentrations of cadmium (maximum of  $81,40 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinine), all of which were taken from workers engaged in soldering. This population constitutes a particularly high-risk group because they work in an environment with uncontrolled occupational activity (Ferreira et al., 2019; Barrozo and Olympio, 2020). Children share the same environment as adults, but are more vulnerable to environmental pollutants and contaminants (Olympio et al., 2009; Olympio et al., 2010; Burm et al., 2016; Kira et al., 2016). In children, due to cadmium's long half-time and bioaccumulation, even exposures at low levels may have long-term consequences for bone composition and development (ATSDR, 2012; Waseem and Arshad, 2016). Other studies have reported cadmium toxicity and adverse effects on the human reproductive and urinary systems at low doses, showing there is no "safe" exposure limit (Järup and Akesson, 2009; Kira et al., 2016; Kim et al., 2018; Kumar and Sharma, 2019; Satarug et al., 2020). Also, the effects of long-term and metal mixture exposures must be considered in the population (Karri et al., 2016; Satarug et al., 2020).

Exposure to cadmium can lead to liver, bone, respiratory or neurological damage, and even cancer (ATSDR, 2012; IARC, 2012; Karri et al., 2016; Waseem and Arshad, 2016; Branca et al., 2018). This element can be mutagenic, act as an endocrine disruptor, leading to oxidative

stress and alter cell DNA (Jin et al., 2003; Henson and Chedrese, 2004; Iavicoli et al., 2009; Branca et al., 2018). According to the Agency for Toxic Substance and Disease Registry (ATSDR, 2012), 25- 60% of inhaled cadmium is absorbed through the lungs and accumulates in the kidney and liver. Chronic exposure via inhalation has been associated with compromise of these organs, including cancer (IARC, 2012). Urinary Cd concentrations are an indicator of chronic exposure and directly correlate with renal cortex concentrations (Bernard, 2004; Hays et al., 2008). Cd may also cause local skin or eye irritation (OSHA, 2004). The European Union Benchmark Dose Level (BMDL) for Cd was withdrawn, indicating that low doses can cause adverse health effects (EFSA, 2012). According to World Health Organization (WHO, 2010), cadmium feature in the list of 10 chemicals of major public health concern. Although adverse effects are reported in the literature, in this study we cannot conclude that these effects are observed in individuals, since a single exposure assessment was performed in which no information on cadmium-induced health effects was collected.

Urinary cadmium concentration is influenced by the body burden of cadmium. Women generally have a higher cadmium body burden than men. The main reason for this is the increased intestinal absorption of dietary cadmium in females (Jäpur and Akesson, 2009). This biological phenomenon may explain the finding that women had more cadmium in their urine. However, most of the workers engaged in soldering in this study were women (79%), and therefore the contribution of occupational exposure should not be disregarded.

No association between informal jewelry work and urinary Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn concentrations were observed. Overall, some samples exceeded the reference value for Brazilian occupational exposure to As ( $10 \mu\text{g g}^{-1} \text{ creat.}$ ) (Brasil, 1994). Other samples exceeded the Normal Human Levels for Ni ( $1\text{-}3 \mu\text{g L}^{-1}$ ) stated by the ATSDR (2005). For these elements, excessive levels can be observed in both the control and exposed groups. Therefore, further studies should be performed to investigate other possible sources of exposure (food, drinking

water, soil, ambient air) in the population and to determine which metabolites are eliminated in urine. However, it is important to highlight that in a previous study (Ferreira et al., 2019), a significant difference was found for blood Pb concentrations (14.02 mg L<sup>-1</sup> in exposed group and 8.97 mg L<sup>-1</sup> in controls). Air samples from households exceeded environmental and occupational Pb limits (Ferreira et al., 2019). In the current study, high concentrations of Pb were detected in soldering powder and jewelry parts. Although urine Pb concentrations did not correlate with the high levels found in the jewelry and soldering powder, Ferreira et al. (2019) detected a significant difference for blood Pb levels, and the risk of contamination from soldering powder dust and soldering fumes spreading throughout the home should be considered. This is especially relevant given there are no safe levels of lead exposure (Olympio et al., 2017). Cognitive and neurobehavioral effects of lead exposure have been recognized as major concerns especially among children (Olympio et al., 2009; 2010).

The findings of the present study are compelling, and even more concerning when taken together with the PTE concentrations found in the breathing zone air of workers engaged in soldering and detected in the blood of the same individuals (Ferreira et al., 2019). Cadmium levels in the breathing zone air (2.06 mg m<sup>-3</sup>) greatly exceeded the environmental limits stated by the ATSDR (0.002 – 0.016 mg m<sup>-3</sup>) and occupational levels set by the OSHA (0.005 mg m<sup>-3</sup>). For the occupational population, the predominant route of Cd exposure is inhalation (OSHA, 2004; ATSDR, 2012). These results indicate that informal jewelry production increases the exposure of working families to Cd in the household environment and may explain the difference in urine Cd levels between groups, even in the non-smoking group. The blood Cd concentrations did not differ significantly between the exposed group (workers engaged in soldering, assemblers, and their relatives) and control group (Ferreira et al., 2019). However, the 95<sup>th</sup> percentile calculated for the exposed group (> 20 years old) was 3.05 mg L<sup>-1</sup>, which the authors noted were higher than Brazilian reference values and those of biomonitoring



campaigns in Canada and the United States. It is important to mention that informal work is not always performed consistently on a daily basis. Workers receive orders for goods and produce them. Hence, for some periods they may work long hours uninterruptedly, while during other periods they may receive no new pieces to assemble and/or solder. This information, taken together, point to a relationship between biological monitoring and environmental samples.

In Brazil, studies measuring environmental exposure to toxic elements, using urine as a biological matrix, tend to focus on contaminated areas. Few studies have established reference values for urinary PTEs in the population. Batista et al. (2009) determined levels of trace elements in the urine of the Brazilian population (aged 15-60 years). In the present study, the 95<sup>th</sup> percentile for Cd in  $\mu\text{g L}^{-1}$  found in the Control group (0.71) was similar to that of the cited study (0.83), whereas the Exposed group value (4.82) was higher than that found by Batista et al. (2009). Cu, Pb, and Ni concentrations (18.4, 2.96 and 4.2, respectively) found in the cited study were lower than the values observed for the present population. Rocha et al. (2016) studied a population in Southern Brazil (aged 18-74 years); in this case the GM and 95<sup>th</sup> percentiles for As, Cu and Mn were higher than the values found in Limeira for the same age bracket. The results for Ni and Zn proved similar. Regarding child exposure, GM values determined in children (aged 6-11 years) from a coal-mining region in Brazil were higher for Mn, Pb and Zn ( $0.8 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $4.8 \text{mg g}^{-1} \text{ creat.}$  and  $509 \mu\text{g L}^{-1}$ ) and lower for Cu and Cd ( $6.9 \mu\text{g L}^{-1}$  and undetectable) compared with values for children of the same age in the present study.

With regard to the jewelry results, Brazilian legislation regulates only on Cd and Pb levels in jewelry, stipulating limits of  $100 \text{mg kg}^{-1}$  and  $300 \text{mg kg}^{-1}$ , respectively (INMETRO, 2015). The limits for these metals in the European Union are  $100$  and  $500 \text{mg kg}^{-1}$  (Commission Regulation, 2012, 2015); in the state of California, US,  $300$  and  $200 \text{mg kg}^{-1}$  (DTSC, 2012); and in Canada,  $130$  and  $90 \text{mg kg}^{-1}$  (Canada Gazette, 2018), respectively. Brazilian legislation

does not provide for the risk other elements may pose when present in jewelry, such as Ni, which is legislated in other countries and deemed carcinogenic.

In an analysis of jewelry produced and sold in North America, Guney and Zagury (2013) found high concentrations of Cd of between 180 and 360,000 mg kg<sup>-1</sup>, of Ni between 256 and 8,240 mg kg<sup>-1</sup>, and of Pb between 325 and 650,000 mg kg<sup>-1</sup>. These values are similar to those found in the present study. The main source of the jewelry materials investigated is unclear, but some are sourced nationally, while others are imported from China. Cui et al. (2015) investigated 13 jewelry samples and children's metal toys marketed in China. The minimum and maximum concentrations found were: Cd 0.01-139 mg kg<sup>-1</sup>; Ni 0.24-2,894 mg kg<sup>-1</sup>, and Pb 0.08-860,000 mg kg<sup>-1</sup>. A study conducted in Russia by Pouzar et al. (2017) of 13 samples of jewelry showed higher concentrations of Cd than levels for the jewelry produced in Limeira, ranging from 13.4 to 44.6% m/m. However, Ni concentrations found in the pieces were very similar, ranging from 0.35 to 13.8%. In Switzerland, Streicher-Porte et al. (2008) conducted tests on 21 samples of jewelry imported from India and found high levels of Cd, ranging from 1.4 to 43.9%. Other studies that used the XRF analysis method found Cd concentrations ranging from 0.002% to 45.9% in jewelry sold in the US (Weidenhamer et al., 2011; Kern et al., 2020). It is essential to bear in mind that XRF is a surface analytical method and may yield results that differ from total content, often recording lower values (Weidenhamer et al., 2011; Kern et al., 2020). Nevertheless, the levels of PTEs in jewelry is a global concern, as is the lack of surveillance for this sector.

The soldering powders analyzed contained high levels of Cd, Pb, and Zn. The direct inhalation of the soldering powder and fumes, which contain a complex mixture of metals and metal oxide, may occur during use. Exposure to soldering fumes can cause respiratory problems, cancer, ulcers, damage to the kidneys and nervous system, among other diseases (OSHA, 2013). As this study involves a home-based work scenario, it is important to note that

the additional risk of jewelry parts being accidentally swallowed by young children should also be considered. The soldering powder could also be ingested or spread throughout the house, including the kitchen and children's bedrooms (Barrozo and Olympio, 2020). An earlier study on informal work has previously demonstrated negative effects on sleep and leisure for children and adolescents in this same population (Pereira et al., 2020). The irregular disposal of PTEs in sanitary sewage can also impact the environment and public health (Salles et al., 2018).

Based on these results, the implementation of prudent measures to mitigate exposure by the home-based working population is necessary. Such measures could include relocating the workplace to a better ventilated area in the house that is separate from other rooms such as the kitchen or bedroom. If this is not possible, then windows and doors should be kept open to maximize air circulation. Children should not have access to workspaces. Personal and environmental hygiene (frequent house cleaning, hand-washing, and cleaning of children's toys, bottles, and pacifiers) is also important to remove soldering residues from furniture and the body. The use of protective equipment is recommended, but sometimes this is not viable due to the families' socio-economic situation. Even if informal workers follow these guidelines, it would be better for them to work cooperatively in a separate environment from domestic activities. However, there are many obstacles to achieving this division. The main issue is that most informal workers were women performing this work to supplement their income while also taking care of their children at home. Therefore, the ideal solution would be having an environment outside the home to carry out the work, together with safe public daycare centers in which to leave their children.

It is important to highlight that this was a cross-sectional study, and some limitations should be considered. Information about participant habits and health were collected, and a control group included to balance environmental exposure. However, in order to increase the level of certainty of the interpretations and deepen understanding of the exposure scenario,

future studies should investigate other sources of exposures, such as water and food, including life-long history of food consumption, analyze a larger number of samples over a longer observation period, or perform speciation of the elements investigated. Nevertheless, the study subject is relevant given the limited knowledge about the impact of informal home-based activities on human health, representing an environmental and public health problem. The identification of occupational exposure sources provides the opportunity to mitigate risks and minimize exposures. By overseeing every individual step in the production process, the companies should be responsible for the workers who assemble and solder their products.

## 5. CONCLUSION

All the PTEs determined in urine are present in the materials used at some stage of the jewelry production process. Urine Cd levels showed a statistically significant difference between exposure groups. The informal workers, especially those engaged in soldering, had higher concentrations of Cd in urine than the control subjects. The jewelry and fashion jewelry produced in the local production arrangement of Limeira had high Cd content ( $> 100 \text{ mg kg}^{-1}$ ) in 6% of samples and high Pb ( $> 300 \text{ mg kg}^{-1}$ ) in 7%. The composition of the soldering powder exhibited high concentrations of Cd, Cu and Zn. The results indicated that informal production practices of jewelry increased cadmium levels in the urine of workers. As workers and relatives do not use protective equipment, PTE can be inhaled from the soldering fumes or accidentally ingested from the soldering powders, especially by children. Considering this exposure scenario, informal jewelry production increases urinary cadmium levels in workers. Occupational exposure to this element in the household environment should be explored, as it may pose a health risk to family members and workers alike.

## 6. REFERENCE

Adams SV, Newcomb PA. Cadmium blood and urine concentrations as measures of exposure: NHANES 1999-2010. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2014;24(2):163-170. doi:10.1038/jes.2013.55.

AIHA. American Industrial Hygiene Association. A strategy for assessing and managing occupational exposures. Exposure Assessment Strategies Committee (EASC), Washington, DC, 4<sup>o</sup> edition. 2015.

Aprèa MC, Apostoli P, Bettinelli M, Lovreglio P, Negri S, Perbellini L, Perico A, Ricossa MC, Salamon F, Scapellato ML, Iavicoli I. Urinary levels of metal elements in the non-smoking general population in Italy: SIVR study 2012-2015. *Toxicol. lett*. 2018;298:177-85. doi:10.1016/j.toxlet.2018.07.004.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. ToxGuide™ for nickel. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta, Georgia. 2005.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for arsenic. U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA. 2007a.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. ToxGuide™ for lead. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta, Georgia. 2007b

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for cadmium. U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA. 2012.

Baig LA, Rasheed S, Zameer M. Health and safety measures available for young labourers in the cottage industries of Karachi [published correction appears in *J Coll Physicians Surg Pak*. 2005 Jun;15(6):380. Zameer, Mehwash [corrected to Zameer, Mehwash]]. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2005;15(1):7-10.

Ball GH, Hall DJ. A clustering technique for summarizing multivariate data. *Behav. Sci*. 1967;12, 153-155. doi: 10.1002/bs.3830120210.

Barr DB, Wilder LC, Caudill SP, Gonzalez AJ, Needham LL, Pirkle JL. Urinary Creatinine Concentrations in the U.S. Population: Implications for Urinary Biologic Monitoring Measurements. *Environ. Health Perspect*. 2005;113(2):192-200. doi:10.1289/ehp.7337.

Barrozo F, Olympio KPK. Conditions of home-based and informal work of jewelry and fashion jewelry production in Brazil. In: 32<sup>nd</sup> Annual Conference of the International Society for Environmental Epidemiology. August 24-27, 2020. Abstract E-Book ISEE. p 396. Available in: [https://isee2020virtual.org/wp-content/uploads/sites/122/2020/09/ISEE2020Virtual\\_Abstract\\_Book\\_EPosters.pdf](https://isee2020virtual.org/wp-content/uploads/sites/122/2020/09/ISEE2020Virtual_Abstract_Book_EPosters.pdf)

Batista BL, Rodrigues JL, Tormen L, Curtius AJ, Barbosa Jr F. Reference Concentrations for Trace Elements in Urine for the Brazilian Population based on q-ICP-MS with a Simple Dilute-and-Shoot Procedure. *J. Braz. Chem. Soc*. 2009;20(8):1406-13. doi: 10.1590/S0103-50532009000800004.

Benjamini Y, Hochberg YJRB. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J. R. Stat. Soc. B* 1995;57, 289-300.

Bernard A. Renal dysfunction induced by cadmium: biomarkers of critical effects. *Biometals*. 2004;17(5):519-23. doi: 10.1023/b:biom.0000045731.75602.b9. PMID: 15688856.

Brasil. Regulatory norm. NR 7: Medical Occupational Health Control Program. Parameters for biological control of occupational exposure to some chemical agents. Labor Ministry. Secretary of Security and Work Health. (in Portuguese). Portaria N.º 24, de 29 de dezembro de 1994.

Breiman L. Random forests. *Mach. learn*. 2001;45, 5-32.

Branca JJV, Morucci G, Pacini A. Cadmium-induced neurotoxicity: still much ado. *Neural Regen Res*. 2018;13(11):1879–1882. doi: 10.4103/1673-5374.239434.

Burm E, Song I, Ha M, Kim YM, Lee KJ, Kim HC, et al. Representative levels of blood lead, mercury, and urinary cadmium in youth: Korean Environmental Health Survey in Children and Adolescents (KorEHS-C), 2012–2014. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 2016; 219(4–5):412–418. doi:10.1016/j.ijheh.2016.04.004.

Canada Gazette: Children's jewelry regulations. *Canada Gazette, Part II*, 152(9). 2018. Available in: < <http://www.gazette.gc.ca> >. Access in: March 18, 2019.

Canada. Second report on human biomonitoring of environmental chemicals in Canada. Results of the Canadian Health Measures Survey Cycle 2 (2009–2011). Minister of Health. Ottawa, Ontario. 2013.

Canada. Fourth report on human biomonitoring of environmental chemicals in Canada. Results of the Canadian Health Measures Survey Cycle 4 (2014–2015). Minister of Health. Ottawa, Ontario. 2017.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Updated Tables, January 2019, Volume One. Atlanta, Georgia.

Commission Regulation (EU): No 835/2012 of 18 September 2012 amending Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) as regards Annex XVII (Cadmium). 2012. Available in: < <https://eur-lex.europa.eu> >. Access in: March 18, 2019.

Commission Regulation (EU): 2015/628 of 22 April 2015 amending Annex XVII to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals ('REACH') as regards lead and its compounds. 2015. Available in: < <https://eur-lex.europa.eu> >. Access in: March 18, 2019.

Croghan C and Egeghy PP. Methods of dealing with values below the limit of detection using SAS. Presented at Southeastern SAS User Group. 2003;22-24. Available in: [https://cfpub.epa.gov/si/si\\_public\\_record\\_report.cfm?Lab=NERL&dirEntryId=64046](https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?Lab=NERL&dirEntryId=64046). Access in: April 30, 2019.

Cui XY, Li SW, Zhang SJ, Fan YY, Ma LQ. Toxic metals in children's toys and jewelry: coupling bioaccessibility with risk assessment. *Environ Pollut.* 2015;200:77-84. doi:10.1016/j.envpol.2015.01.035.

Silva JPR, Salles FJ, Leroux IN, da Silva Ferreira APS, da Silva AS, Assunção NA, Nardocci AC, Sayuri Sato AP, Barbosa F Jr, Cardoso MRA, Olympio KPK. High blood lead levels are associated with lead concentrations in households and day care centers attended by Brazilian preschool children. *Environ. pollut.* 2018;239:681-688. doi: 10.1016/j.envpol.2018.04.080.

DTSC: California's metal-containing jewelry law. Department of toxic substances control. Fact sheet, February 2012. Available in: < <https://www.dtsc.ca.gov> >. Access in: March 18, 2019.

EFSA. European Food Safety Authority. Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA Journal.* 2012, 10(1):2551.

Esteban M, Castaño A. Non-invasive matrices in human biomonitoring: A review. *Environ. Int.* 2009;35:438–49. doi: 10.1016/j.envint.2008.09.003.

Fernandes TVRB, Camara VM, Barrocas PRG, Mayer A, Asmus CIRF. Contribution to the understanding of biologic concentrations of arsenic in children living in an urban area from Rio de Janeiro, Brazil. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018;25(17):16810-16815. doi:10.1007/s11356-018-1797-5.

Ferreira APSS, Pereira EC, Salles FJ, Silva FF, Batista BL, Handakas E, Olympio, KPK. Home-based and informal work exposes the families to high levels of potentially toxic elements. *Chemosphere.* 2019;218:319-327. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.11.083.

Freire BM, Pedron T, Lange CN, Sanches LR, Barcelos GRM, Filho WRP, Batista BL. Calibration for the determination of 19 trace elements in serum and urine. *Toxicol. environ. chem.* 2018;100(4):395-412. doi: 10.1080/02772248.2018.1537397.

Gil F, Hernández AF. Toxicological importance of human biomonitoring of metallic and metalloid elements in different biological samples. *Food Chem Toxicol.* 2015;80:287-297. doi: 10.1016/j.fct.2015.03.025. Epub 2015 Mar 30. PMID: 25837421.

Guney M, Zagury GJ. Contamination by Ten Harmful Elements in Toys and Children's Jewelry Bought on the North American Market. *Environ. Sci. Technol.* 2013;47 (11):5921–5930. doi:10.1021/es304969n.

Hays SM, Nordberg M, Yager JW, Aylward LL. Biomonitoring equivalents (BE) dossier for cadmium (Cd) (CASNo.7440-43-9). *Regul. toxicol. pharmacol.* 2008;51,S49–S56. doi:10.1016/j.yrtph.2008.05.008.

Heitland P, Köster HD. Biomonitoring of 30 trace elements in urine of children and adults by ICP-MS. *Clin Chim Acta.* 2006;365(1-2):310-318. doi:10.1016/j.cca.2005.09.013.

Henson MC, Chedrese PJ. Endocrine disruption by cadmium, a common environmental toxicant with paradoxical effects on reproduction. *Exp. Biol. Med.* 2004; 229:383–392. doi:10.1177/153537020422900506.

Iavicoli I, Fontana L, Bergamaschi A. The effects of metals as endocrine disruptors. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 2009; 12:206–223. doi:10.1080/10937400902902062.

IARC. International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans - volume 100C: Arsenic, metals, fibres, and dusts. World Health Organization, Lyon. 2012.

INMETRO: Limite para concentração de Cádmiio e Chumbo em Bijuterias e Joias. Inmetro, Rio de Janeiro, Janeiro 2015. (in Portuguese). Available in: <<http://www.inmetro.gov.br>>. Access in: March 18, 2019.

Järup L, Akesson A. Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009;238(3):201-8. doi: 10.1016/j.taap.2009.04.020.

Jin YH, Clark AB, Slebos RJ, Al-Refai H, Taylor JA, Kunkel TA, Resnick MA, Gordenin DA. Cadmium is a mutagen that acts by inhibiting mismatch repair. *Nat. Genet.* 2003;34(3):326–329. doi: 10.1038/ng1172.

Joshi SK, Dahal P. Occupational health in small scale and household industries in Nepal: a situation analysis. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ).* 2008;6(2):152-160.

Karri V, Schuhmacher M, Kumar V. Heavy metals (Pb, Cd, As and MeHg) as risk factors for cognitive dysfunction: a general review of metal mixture mechanism in brain. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2016;48:203–213. doi: 10.1016/j.etap.2016.09.016.

Kern MS, Boron ML, Weidenhamer JD. Buyer beware: Inexpensive, high cadmium jewelry can pose severe health risks. *Sci. Total Environ.* 2020,142926. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.142926.

Kim J, Garcia-Esquinas E, Navas-Acien A, Choi YH. Blood and urine cadmium concentrations and walking speed in middle-aged and older U.S. adults. *Environ Pollut.* 2018; 232:97-104. doi: 10.1016/j.envpol.2017.09.022. Epub 2017 Sep 21. PMID: 28941716.

Kira CS, Sakuma AM, De Capitani EM, de Freitas CU, Cardoso MRA, Gouveia N. Associated factors for higher lead and cadmium blood levels, and reference values derived from general population of São Paulo, Brazil. *Sci. Total Environ.* 2016;543(Pt A):628–635. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.11.067.

Kumar S, Sharma A. Cadmium toxicity: effects on human reproduction and fertility. *Rev Environ Health.* 2019;34(4):327-338. doi: 10.1515/reveh-2019-0016.

Lacorte LEC, Vilela RAG, Silva RC, Chiesa AM, Tulio ES, Franco RR, Bravo ES. The eradication of child labor in the production of jewelry and fashion jewelry in Limeira, SP. (in

Portuguese). *Rev. bras. saúde ocup.* 2013;38(128):199–215. doi:10.1590/S0303-76572013000200009.

Minoia C, Sabbioni PE, Apostoli R, Pietra L, Pozzoli M, Gallorini G, et al. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European community I. A study of 46 elements in urine, blood and serum of Italian subjects. *Sci. Total Environ.* 1990;95:89-105. doi:10.1016/0048-9697(90)90055-y.

NDT NITON Data Transfer User's Guide Version 6.0, 2018. p 118. Available in: <www.thermofisher.com>. Access in: March 19, 2019.

Nisse C, Tagne-Fotso R, Howsam M, Richeval C, Labat L, Leroyer A. Blood and urinary levels of metals and metalloids in the general adult population of Northern France: The IMEPOGE study, 2008–2010. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2017;220(2 Pt B):341-363. doi:10.1016/j.ijheh.2016.09.020.

Olympio KPK, Gonçalves C, Günther WMR, Bechara EJH. Neurotoxicity and aggressiveness triggered by low-level lead in children: a review. *Rev. panam. salud pública.* 2009;26:266-275. doi: 10.1590/s1020-49892009000900011.

Olympio KP, Oliveira PV, Naozuka J, Cardoso MR, Marques AF, Günther WM, Bechara EJ. Surface dental enamel lead levels and antisocial behavior in Brazilian adolescents. *Neurotoxicol Teratol.* 2010;32(2):273-279. doi: 10.1016/j.ntt.2009.12.003.

Olympio KPK, Gonçalves CG, Salles FJ, Ferreira APSS, Silva AS, Buzalaf MAR, Cardoso MRA, Bechara EJH. What are the blood lead levels of children living in Latin America and the Caribbean? *Environ. Int.* 2017;101:46-58. doi:10.1016/j.envint.2016.12.022.

OSHA. Occupational Safety and Health Administration. Cadmium. U.S. Department of Labor. 2004.

OSHA Fact Sheet. Controlling Hazardous fume and gases during welding. 2013. Available in: <www.osha.gov>. Access in: March 18, 2019.

Patel CJ, Bhattacharya J, Butte AJ. An environment-wide association study (EWAS) on type 2 diabetes mellitus. *PloS one* 5. 2010.

Pedregosa F, Varoquaux G, Gramfort A, Michel V, Thirion B, Grisel O, Blondel M, Prettenhofer P, Weiss R, Dubourg V. Scikit-learn: Machine learning in Python. *J. Mach. Learn. Res.* 2011;12:2825-2830.

Peduzzi P, Concato J, Kemper E, Holford TR, Feinstein AR. A simulation study of the number of events per variable in logistic regression analysis. *Journal of clinical epidemiology.* 1996;49, 1373-1379.

Pereira EC, Ferreira APSS, Sato APS, Fischer FM, Olympio KPK. Home-based outsourced informal work by children and adolescents impacts sleep and leisure—a preliminary study. *Environ. Sci. Pollut. Res. (online).* 2020. doi:10.1007/s11356-020-09551-0

Pino A, Chiarotti F, Calamandrei G, Gotti A, Karakitsios S, Handakas E, et al. Human biomonitoring data analysis for metals in an Italian adolescents cohort: An exposome approach. *Environ. Res.* 2017;159:344-354. doi:10.1016/j.envres.2017.08.012.

Pouzar M, Zvolská M, Jarolím O, Audrlická Vavrušová L. The Health Risk of Cd Released from Low-Cost Jewelry. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2017;14(5):520. Published 2017 May 12. doi:10.3390/ijerph14050520.

Qiu W, Qiu MW. Package 'powerMediation'. 2020.

Radu T, Diamond D. Comparison of soil pollution concentrations determined using AAS and portable XRF techniques. *J. hazard. mater.* 2009;171:1168-1171. doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.06.062.

Rehman, U.u., Khan, S. & Muhammad, S. Associations of potentially toxic elements (PTEs) in drinking water and human biomarkers: a case study from five districts of Pakistan. *Environ Sci Pollut Res.* 2018;25: 27912–27923. doi:10.1007/s11356-018-2755-y.



Roca M, Sánchez A, Pérez R, Pardo O, Yusa V. Biomonitoring of 20 elements in urine of children: Levels and predictors of exposure. *Chemosphere*. 2016;144:1698-1705. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.10.008.

Rocha GHO, Steinbach C, Munhoz JR, Madia MAO, Faria JK, Hoeltgebaum D, et al. Trace metal levels in serum and urine of a population in southern Brazil. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2016;35:61–65. doi:10.1016/j.jtemb.2015.12.005.

Salles FJ, Sato APS, Luz MS, Favaro DIT, Ferreira FJ, Paganini WS, Olympio KPK. The environmental impact of informal and home productive arrangement in the jewelry and fashion jewelry chain on sanitary sewer system. *Environ. Sci. Pollut. Reserch*. 2018;25:10701-10713. doi:10.1007/s11356-018-1357-z.

Santos MD, Flores Soares MC, Martins Baisch PR, Muccillo Baisch AL, Rodrigues da Silva Júnior FM. Biomonitoring of trace elements in urine samples of children from a coal-mining region. *Chemosphere*. 2018;197:622-626. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.01.082

Saravanabhavan G, Werry K, Walker M, Haines D, Malowany M, Khoury C. Human biomonitoring reference values for metals and trace elements in blood and urine derived from the Canadian Health Measures Survey 2007-2013. *Int J Hyg Environ Health*. 2017;220(2 Pt A):189-200. doi:10.1016/j.ijheh.2016.10.006

Satarug S, Gobe G, Ujjin P, Vasey DA. A Comparison of the Nephrotoxicity of Low Doses of Cadmium and Lead. *Toxics*. 2020; 8(1):18. doi: 10.3390/toxics8010018.

Streicher-Porte M, Buckenmayer A, Pfenninger S. What goes around comes around? High levels of cadmium in low cost jewelry. In: *IEEE International Symposium on Electronics and the Environment*, San Francisco, CA, 2008. pp. 1-5. doi: 10.1109/ISEE.2008.4562946.

Tamayo-Ortiz M, Navia-Antezana J. Reduced Lead Exposure Following a Sensitization Program in Rural Family Homes Producing Traditional Mexican Ceramics. *Ann Glob Health*. 2018;84(2):285-291. doi:10.29024/aogh.916.

Team RC. R: A language and environment for statistical computing. 2013.

Teare J, Kootbodien T, Naicker N, Mathee A. The extent, nature and environmental health implications of cottage industries in Johannesburg, South Africa. *Int J Environ Res Public Health*. 2015;12(2):1894-1901. doi:10.3390/ijerph120201894

Thermo Fischer. Tecnologia XRF. Available in: <www.thermofisher.com>. Access in: March 18, 2019.

Wani KA, Jaiswal YK. Environmental impact assessment of cottage industries of Kashmir, India. *J Environ Sci Eng*. 2011;53(3):365-370.

Waseem A, Arshad J. A review of human biomonitoring studies of trace elements in Pakistan. *Chemosphere*, 2016;163:153–176. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.08.011.

Wei T, Simko V, Levy M, Xie Y, Jin Y, Zemla J. Package ‘corrplot’. *Statistician*. 2017;56: 316-324.

Weidenhamer JD, Miller J, Guinn D, Pearson J. Bioavailability of Cadmium in Inexpensive Jewelry. *Environ. Health Perspect*. 2011,119(7):1029-1033. doi: :10.1289/ehp.1003011.

White MA, Sabbioni E. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European Union. X. A study of 13 elements in blood and urine of a United Kingdom population. *Sci Total Environ*. 1998;216(3):253-270. doi:10.1016/s0048-9697(98)00156-9.

WHO. World Health Organization. International Programme on Chemical Safety (IPCS). Ten chemicals of major public health concern [Internet]. World Health Organization, Geneva. 2010. Available in: [https://www.who.int/ipcs/assessment/public\\_health/chemicals\\_phc/en/](https://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/chemicals_phc/en/).

Wickham H. *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer. 2016.

## MATERIAL SUPPLEMENTAR

Table S1. Determination of trace elements in NIST 2670a Urine Standard Reference Material using ICP-MS method. Results expressed in  $\mu\text{g L}^{-1}$  show mean concentration  $\pm$  standard deviation

	NIST 2670a High Level		NIST 2670a Low Level	
	Certified value	Found value	Certified value	Found value
As	220 $\pm$ 10 <sup>b</sup>	201 $\pm$ 6	3 <sup>a</sup>	2.1 $\pm$ 0.4
Cd	5.16 $\pm$ 0.11	5.77 $\pm$ 0.99	0.0591 $\pm$ 0.0034	<LOD
Cr	20 <sup>a</sup>	23 $\pm$ 1	2 <sup>a</sup>	<LOD
Cu	110 $\pm$ 4 <sup>b</sup>	103 $\pm$ 1	5 <sup>a</sup>	4.8 $\pm$ 1.9
Mn	99 $\pm$ 12	113 $\pm$ 2	2.6 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>	3.7 $\pm$ 0.4
Ni	100 <sup>a</sup>	102 $\pm$ 5	2 <sup>a</sup>	2.2 $\pm$ 0.1
Pb	249.9 $\pm$ 4.3	251.4 $\pm$ 5.1	0.49 $\pm$ 0.16	0.57 $\pm$ 0.06
Zn	410 $\pm$ 30 <sup>b</sup>	401 $\pm$ 11	130 $\pm$ 30 <sup>b</sup>	131 $\pm$ 1

Table S2. Geometric means (GM) and 95% confidence intervals (95% CI), and 95<sup>th</sup> percentiles of participants' urine PTE levels ( $\mu\text{g g}^{-1}$  creatinine) in Limeira-SP, Brazil, by exposure and age groups, compared against Canadian and USA reports, and with Brazil reference values for occupational exposure

PTE / Age	Exposed group			Control group			Canada**			USA***			Brazil****	
	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>	Occupational reference			
<b>As</b>														
1-5	5.38 (2.01 - 14.47)	19.66	6.22 (3.07 - 12.59)	13.05	8.70 (8.00- 9.50) £	26.00	9.31 (8.18- 10.6)	40.90			10.0			
6-11	7.26 (4.51 - 11.69)	23.76	11.84 (7.41 - 18.92)	31.91	6.10 (5.50-6.70)	18.00	6.93 (6.48- 7.41)	28.10						
12-19	5.99 (4.59 - 7.82)	26.50	7.37 (5.41 - 10.04)	18.03	4.00 (3.50- 4.50)	13.00	4.67 (4.34- 5.03)	22.30						
≥20	5.20 (4.48 - 6.04)	15.67	5.20 (4.38 - 6.17)	12.87	4.40 (3.80- 5.10) ¥	15.00¥	6.92 (6.51- 7.35)	56.20						
					4.70 (3.90- 5.50) ¤	19.00¤								
					5.20 (4.50- 6.10) €	19.00€								
<b>Cd</b>														
1-5	0.07 (0.03 - 0.19)	0.29	0.10 (0.04 - 0.24)	0.22	0.39 (0.33 - 0.47) £	x	x	0.23						
6-11	0.13 (0.07 - 0.23)	1.19	0.12 (0.08 - 0.17)	0.17	0.28 (0.24 - 0.33)	0.80	x	0.16						
12-19	0.12 (0.08 - 0.17)	0.65	0.11 (0.08 - 0.16)	0.26	0.20 (0.17 - 0.23)	0.46	0.05 (0.05- 0.06)	0.15						
≥20	0.25 (0.18 - 0.34)*	3.17	0.12 (0.1 - 0.15)*	0.50	0.28 (0.24 - 0.32) ¥	0.79¥	0.19 (0.17- 0.21)	0.88						
					0.47 (0.43 - 0.53) ¤	1.90¤								
					0.64 (0.58 - 0.71) €	2.00€								
<b>Cr</b>														
1-5	9.81 (3.75-25.69)	37.64	12.49 (5.43-28.72)	24.31	#	#	#	#						
6-11	9.45 (6.51-13.72)	27.48	10.26 (7.13-14.78)	20.49	#	#	#	#						
12-19	4.57 (3.38-6.18)	30.20	6.02 (4.24-8.54)	13.23	#	#	#	#						
≥20	5.67 (4.59-7.00)	30.52	6.42 (5.10-8.08)	23.97	#	#	#	#						

PTE / Age	Exposed group		Control group		Canada**		USA***		Brazil****	
	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>	Occupational reference	#
<b>Cu</b>										
1-5	9.89 (5.94 - 16.48)	17.26	12.08 (8.87 - 16.45)	17.35	21.00 (20.00 - 22.00) £	32.00	#	#		#
6-11	7.33 (6.31 - 8.52)	11.28	8.71 (6.55 - 11.58)	12.74	14.00 (14.00 - 15.00)	22.00	#	#		#
12-19	6.44 (4.93 - 8.41)	44.95	8.38 (6.30 - 11.15)	20.56	9.70 (9.30 - 10.00)	17.00	#	#		#
≥20	6.74 (5.86 - 7.75)	19.93	6.90 (5.93 - 8.03)	15.79	9.00 (8.70 - 9.20) ¥ 9.90 (9.50 - 10.00) ¤ 12.00 (11.00 - 12.00) €	15.00 ¥ 16.00 ¤ 21.00 €	#	#		#
<b>Mn</b>										
1-5	x	x	x	x	X	1.20	x	1.27		
6-11	x	x	x	x	X	0.69	x	0.72		
12-19	x	x	x	x	X	0.39	x	0.60		
≥20	x	x	x	x	X	0.58 ¥ 0.70 ¤ 0.61 €	x	0.49		
<b>Ni</b>										
1-5	2.54 (0.64 - 10.17)	7.57	4.26 (2.21 - 8.20)	7.68	2.40 (2.10 - 2.70) £	6.10	#	#		#
6-11	2.82 (2.20 - 3.60)	6.79	3.58 (2.71 - 4.73)	5.02	1.90 (1.80 - 2.00)	5.70	#	#		#
12-19	1.95 (1.41 - 2.71)	9.01	2.67 (1.99 - 3.58)	7.11	1.20 (1.10 - 1.30)	3.00	#	#		#
≥20	1.67 (1.37 - 2.03)	5.89	1.74 (1.45 - 2.09)	4.28	1.10 (1.00 - 1.10) ¥ 1.20 (1.10 - 1.30) ¤ 1.50 (1.40 - 1.60) €	3.50 ¥ 3.70 ¤ 4.90 €	#	#		#

PTE/ Age	Exposed group		Control group		Canada**		USA***		Brazil****	
	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>	GM (95% CI)	95 <sup>th</sup>
<b>Pb</b>										Occupational reference 0 – 4,500
<b>1-5</b>	1.66 (0.90 - 3.06)	3.39	2.33 (1.12 - 4.84)	6.34	0.81 (0.71 – 0.93) £	2.7	0.59 (0.53-0.65)	2.05		
<b>6-11</b>	1.67 (1.30 - 2.15)	3.73	1.75 (1.01 – 3.05)	4.15	0.46 (0.43 – 0.50)	1.3	0.36 (0.32 - 0.41)	1.14		
<b>12-19</b>	1.29 (0.96 - 1.73)	5.46	1.13 (0.73 - 1.74)	5.80	0.31 (0.29 – 0.33)	0.85	0.18 (0.17 - 0.20)	0.54		
<b>≥20</b>	1.33 (1.18 - 1.49)	2.72	1.27 (1.08 - 1.50)	3.93	0.37 (0.34 – 0.40) ¥ 0.57 (0.53 – 0.61) φ 0.77 (0.71 – 0.83) €	1.1 ¥ 1.7 φ 2.1 €	0.33 (0.30 - 0.36)	1.14		
<b>Zn</b>										#
<b>1-5</b>	431 (240 - 774)	750	628 (456 - 864)	917	580 (550 - 620) £	1,300	#	#		
<b>6-11</b>	350 (254 - 483)	711	398 (311 - 509)	521	410 (390 - 440)	870	#	#		
<b>12-19</b>	234 (176 - 311)	781	301 (239 - 380)	515	310 (290 – 340)	670	#	#		
<b>≥20</b>	243 (204 - 289)	874	242 (198 - 295)	1,049	250 (230 - 270) ¥ 280 (250 - 300) ¤ 380 (360 - 410) €	580 ¥ 730 ¤ 1,200 €	#	#		

# Not evaluated/Not found. ¥ Not calculated: proportion of results below limit of quantification was too high to yield valid result.

\* Statistically significant difference between adults (aged ≥20 years) from Exposed group and Control group (p = 0.0003).

\*\*Canada, 2013; 2017 (campaign 2014-2015 cycle IV – element As; campaign 2009-2011 cycle II – other elements) Age groups: £3-5 years, ¥20–39 years, ¤40–59 years, €60-79 years.

\*\*CDC, 2019. USA (campaign 2015-2016).

\*\*\*\* Brazil 1994

Table S3. Percentage of analyses exceeding permitted cadmium and lead limits by country, and minimum and maximum concentration (Min-Max) measured by field portable X-Ray fluorescence (FP-XRF), in parts per million (ppm)

Element	Limits				Min	Max
	BR*	EU <sup>#</sup>	USA <sup>\$</sup>	CAN <sup>ϕ</sup>		
Cadmium	6.2%	6.2%	2.5%	3.7%	<LOD <sup>&amp;</sup>	613
	<i>Limit 100 ppm</i>	<i>100 ppm</i>	<i>300 ppm</i>	<i>130 ppm</i>		
Lead	6.8%	4.3%	13.6%	16%	<LOD <sup>&amp;</sup>	93,868
	<i>Limit 300 ppm</i>	<i>500 ppm</i>	<i>200 ppm</i>	<i>90 ppm</i>		

& Detection limits (LOD) were different for each of the samples analyzed. The minimum and maximum were 11 – 93 ppm for Cd and 5 - 1,085 ppm for Pb.

\* INMETRO, 2015

# COMMISSION REGULATION, 2012, 2015

\$ DTSC, 2012

ϕ CANADA GAZETTE, 2018

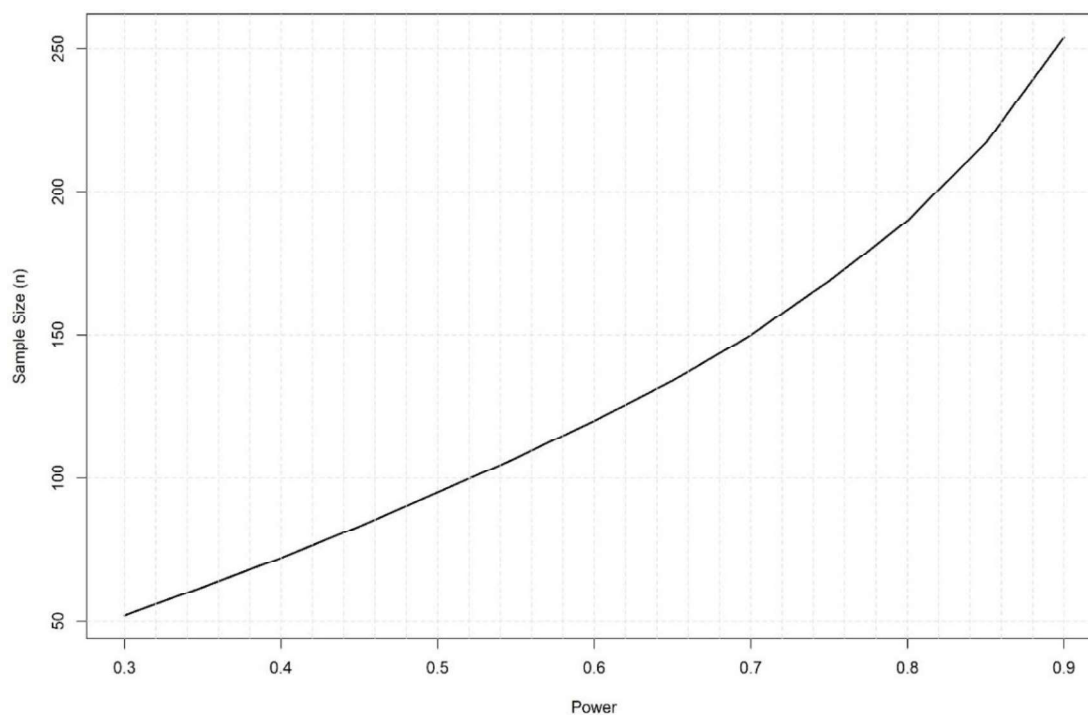


Figure S1. Sample size estimation using power analysis. Type I error rate of 0.05 assumed.

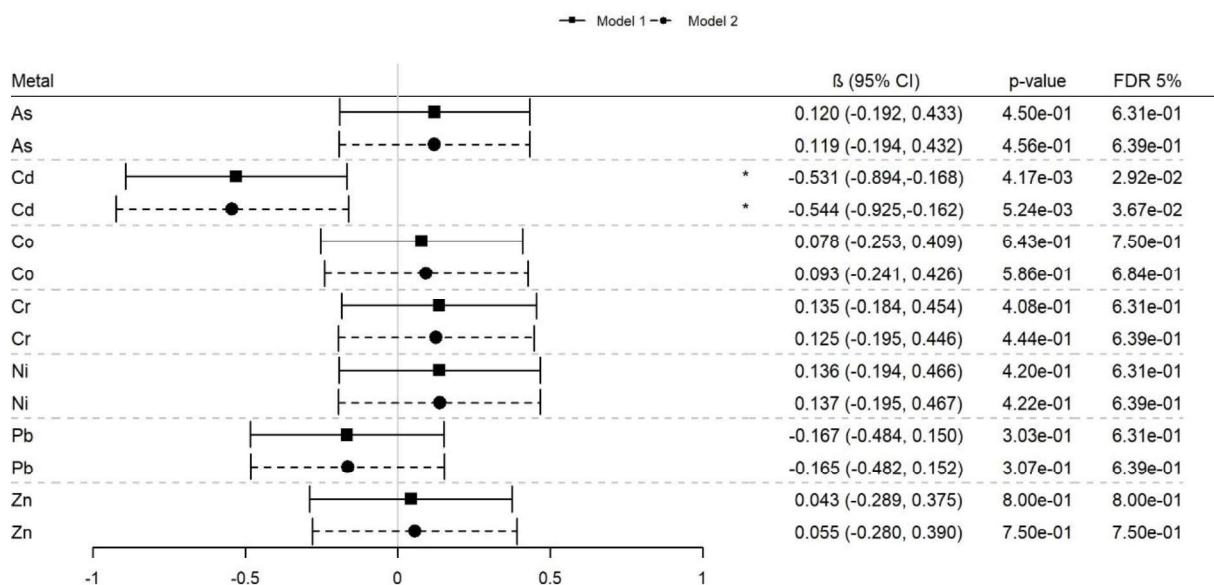


Figure S2. Logistic regression coefficients and standard deviation (95% CI) between 7 PTEs for Model 1 (adjusted for sex and age) and Model 2 (adjusted for sex, age and smoking status), stratified by delivery mode. The significance threshold is given for Model 2, where \* is  $p < 0.05$ .

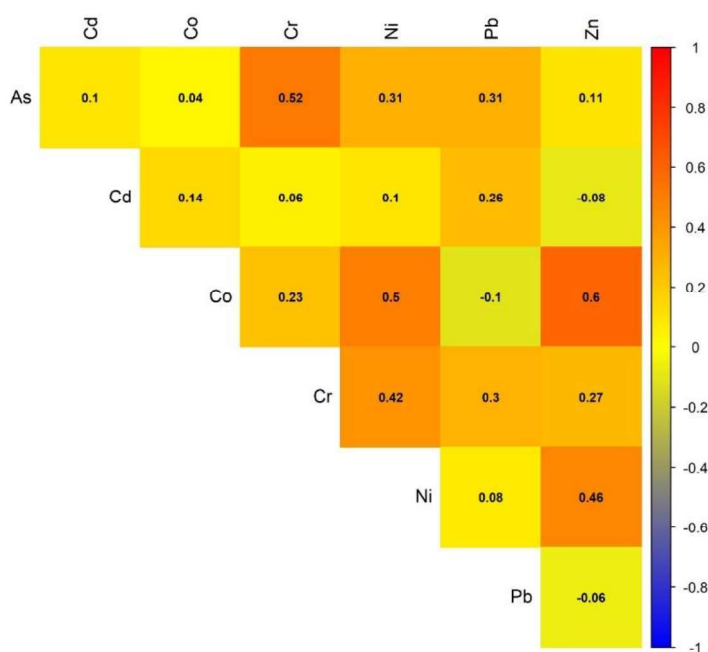


Figure S3. Correlation heat map of potentially toxic elements determined in blood samples.

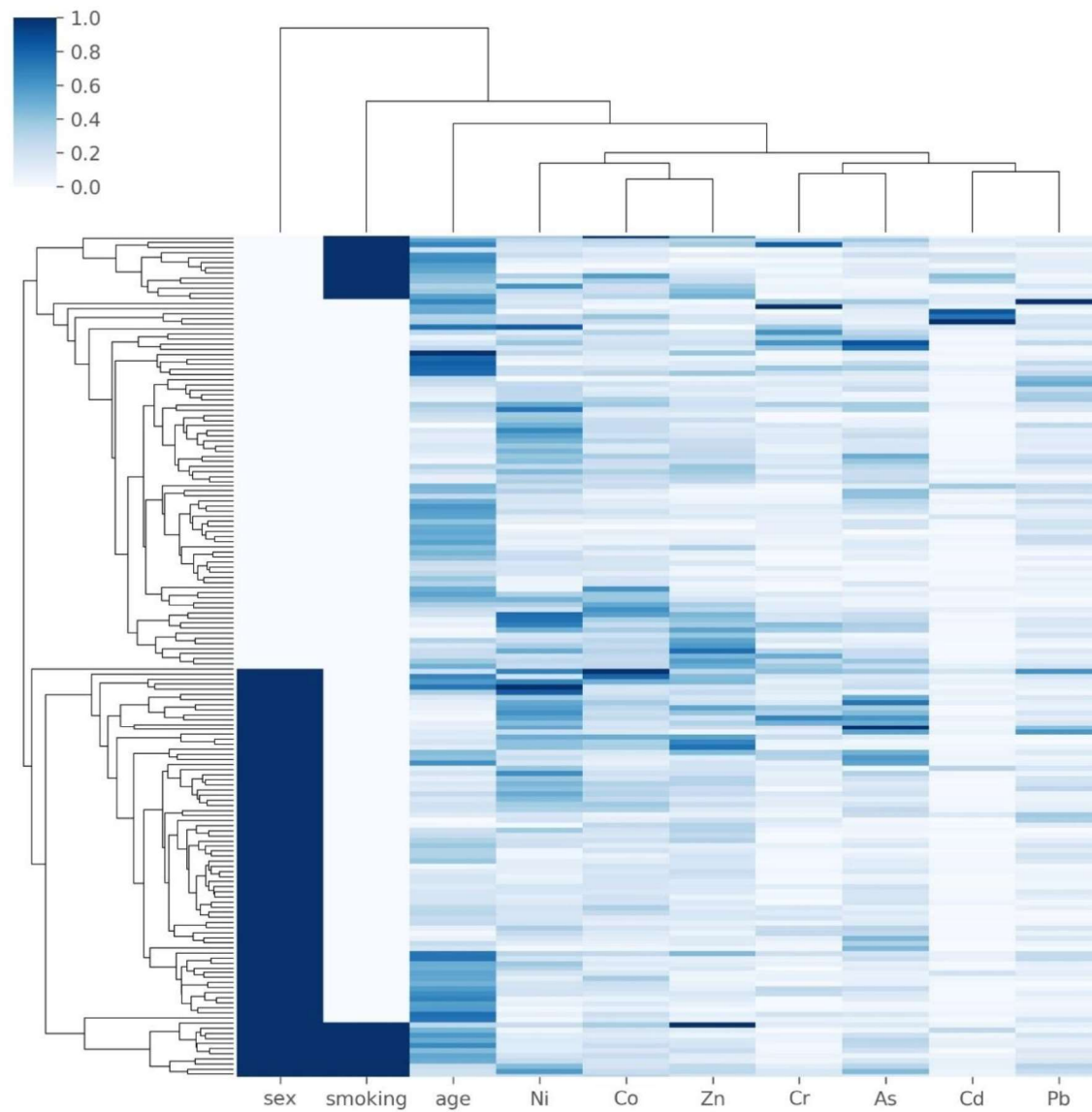


Figure S4. Hierarchical cluster analysis based on Euclidean distance. On top axis of figure, dendrogram depicts distance between exposure factors, along with sex, age and smoking status (bottom axis). Additionally, left axis illustrates dendrogram among the participants. The distance is scaled and values range from 0 (white) to 1 (dark blue).



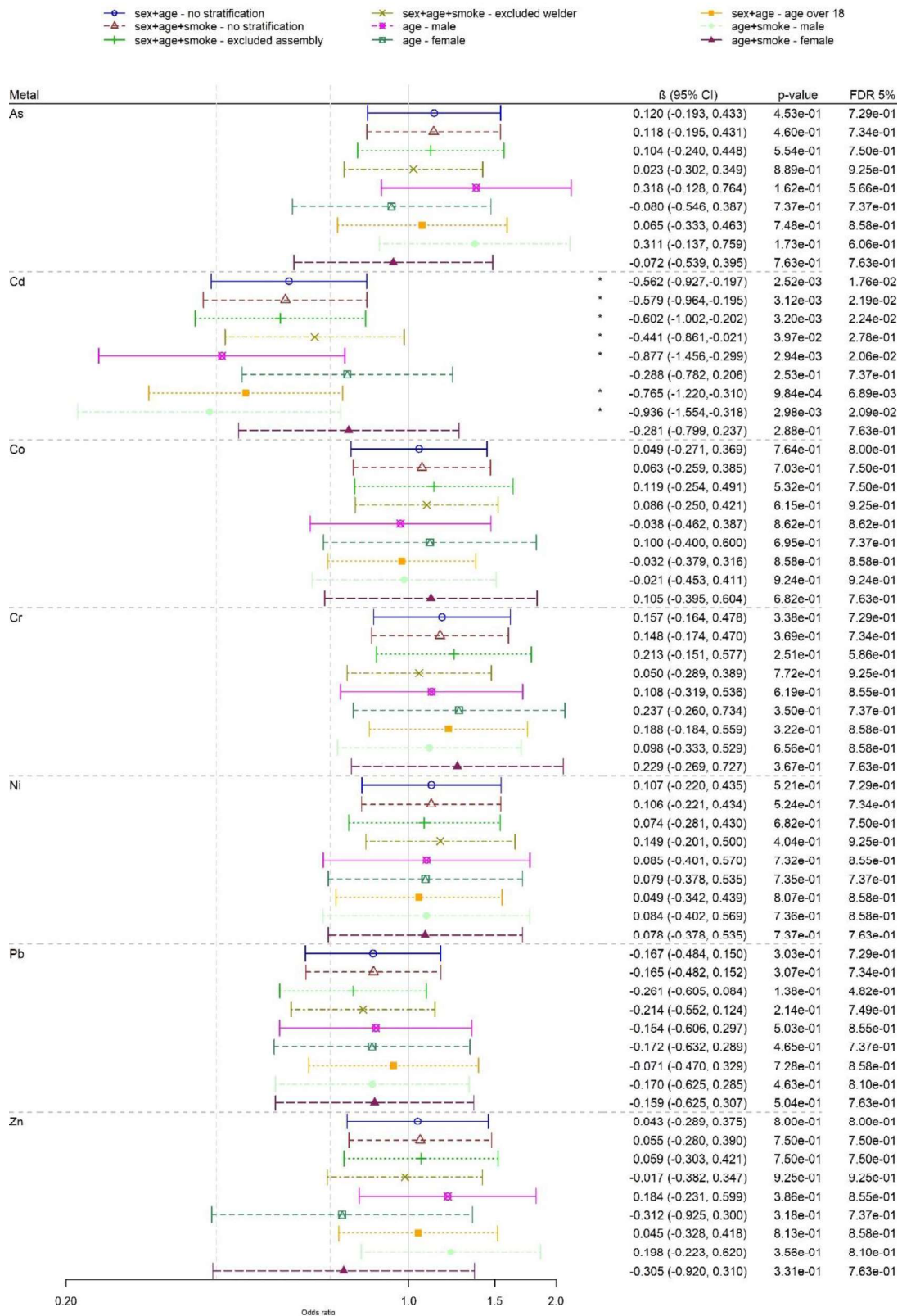


Figure S5. Odds ratio per standard deviation (95% confidence interval) between 7 PTEs for Model 1 (adjusted for sex and age) and Model 2 (adjusted for sex, age and smoking status), stratified by non-assembly workers, non-solderers, male gender, female gender, and population age  $\geq 18$  years, where \* is  $p < 0.05$ .

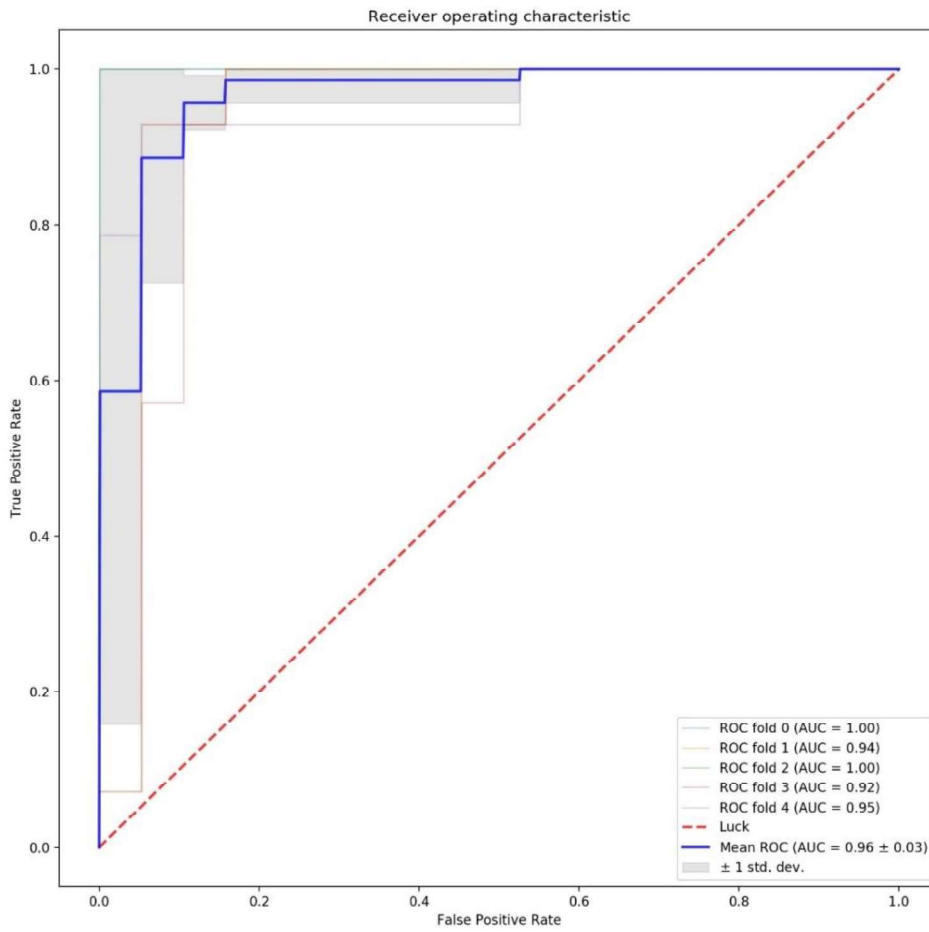


Figure S6. ROC mean value of 5 folds for exposure groups (population size: N=192).

## 4.2 MANUSCRITO II

### **Low levels of potentially toxic elements in workers are associated with health outcomes**

Fernanda Junqueira Salles<sup>1</sup>, Fredi Alexander Diaz-Quijano<sup>2</sup>, Maciel Santos Luz<sup>3</sup>, Gilmar Alves de Almeida<sup>3</sup>, Naomi Akiba<sup>3</sup>, Aline Pereira de Oliveira<sup>3</sup>, Aline de Carvalho Elias<sup>3</sup>, Marcelo Macedo Rogero<sup>4</sup>, Kelly Polido Kaneshiro Olympio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Health, School of Public Health, University of Sao Paulo, Av. Dr. Arnaldo, 715, Cerqueira Cesar, CEP 01246-904, Sao Paulo, SP, Brazil. E-mail: fjsalles@usp.br; elizeu.chiodi@usp.br; kellypko@usp.br.

<sup>2</sup> University of Sao Paulo, School of Public Health, Department of Epidemiology – Laboratório de Inferência Causal em Epidemiologia (LINCE-USP), Av. Dr. Arnaldo, 715, Cerqueira Cesar, CEP 01246-904, Sao Paulo, SP, Brazil. E-mail: frediazq@usp.br.

<sup>3</sup> Laboratory of Metallurgical Process, Institute for Technological Research, Sao Paulo, SP, Brazil. E-mail: macielluz@ipt.br; gilmarm@ipt.br; naomi.akiba@gmail.com; apoliveira@iq.usp.br; alinecarvalho@ipt.br

<sup>4</sup> Nutritional Genomics and Inflammation Laboratory, Department of Nutrition, School of Public Health, University of Sao Paulo, 01246-904 São Paulo, Brazil. E-mail: mmrogero@usp.br

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests.

Funding source: This research was funded by FAPESP, grant number 2017/25424-9; 2018/18391-0; 2017/20752-8; 2014/50887-4”. KPKO is the recipient of a scholarship from “Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico” (CNPq #314637/2021-4).

Acknowledgments: The authors would like to thank the volunteers who agreed to participate in this investigation. The authors acknowledge the support of the Health Secretariat of Limeira City and the collaboration of all community health agents and coordinators of the basic health units from Limeira. The authors acknowledge the support of the Center for Worker Health and Human Ecology from the National School of Public Health Sergio Arouca, Oswaldo Cruz Foundation, and the members of the eXsat research group for the sample collection and questionnaire application.

## Abstract

Occupational exposure to toxic elements may potentially affect health. The current study evaluated blood concentrations of potentially toxic elements (PTE) including As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn, and Zn in formal and informal workers. Additionally, the study investigated the associations between blood PTE concentrations and reported health outcomes among the study population. The exposed group included women engaged in informal jewelry welding inside their houses in Limeira, SP, Brazil (n = 36) and men who work at the steel company in Volta Redonda, RJ, Brazil (n = 22). The control group lives in the same neighborhoods as the workers but does not work with chemical exposure activities (n = 28 in Limeira; n = 27 in Volta Redonda). Triple Quadrupole Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (TQ ICP-MS) was used to determine PTE concentrations in blood samples. Glycemia, insulin, and lipid profile exams were performed. All participants completed questionnaires about household risk and reported morbidity. The blood concentrations of Cd, As, and Pb, as well as the glycemia, were higher in informal workers compared to the control group. No significant differences were observed between formal workers and controls. A robust Poisson regression model, adjusted for variables suggested by a Directed Acyclic Graph, found associations between blood lead and arsenic concentrations and the prevalence of neurological manifestations in Limeira. Participants with blood lead levels higher than  $2.6 \mu\text{g dL}^{-1}$  showed a prevalence of neurological manifestations 2.3 times (95% CI: 1.17 – 4.58;  $p=0.02$ ) than those with lower lead concentrations. Furthermore, a positive association was observed between blood cadmium concentrations and glycemia. Informal occupational exposure to these elements may indicate an increased risk of developing diseases. Monitoring exposure and implementing interventions to reduce PTE exposure in the work environment can become a significant step toward prevention.

**Keywords:** Occupational exposure; Toxic elements; Workers' health; Informal work.

## 1. INTRODUCTION

Exposure to chemicals and toxic elements has become increasingly common in modern life warranting its assessment as a part of environmental epidemiology. Among the different exposure risks, one of the most common affecting adults is occupational exposure to potentially toxic elements (PTE) which may adversely affect health. PTE encompasses a group of chemical elements, whether metallic or not, that exhibit toxic properties even at low concentrations or play essential roles in the body but can become toxic in elevated doses (Bacon and Davidson, 2008; Hill, 2010). PTEs already demonstrated their potential to cause oxidative stress and inflammation, besides brain, lung, kidney, and liver damage; can also lead to neurological degenerative processes (Jaishankar et al., 2014), may contribute to the onset of diabetes (Yang et al., 2017), change the human microbiome (Lai and Christiani, 2019) and cause cancer (Jaishankar et al., 2014).

Occupational exposure to chemicals occurs predominantly in mining, refining, alloy production, and welding activities (Yang et al., 2017; Dehghani et al., 2021). When these activities are carried out informally, exposure risks increase as they take place in precarious conditions without proper training, personal protective equipment (PPE), and adequate occupational hygiene measures (Schulte et al., 2022). Compared to formal workers, informal workers usually have lower earnings and protection, encounter heightened risks and increased vulnerability (Bonnet et al., 2019). Some studies reported increased exposure to PTEs in informal workers and their families (Ferreira et al., 2019; Street et al., 2020; Salles et al., 2021). Limited biomonitoring data exists for informal workers, despite their vulnerability to toxic effects. Investigations into workers' health status are crucial, considering both formal and informal employment arrangements.

The city of Limeira is known in Brazil as the capital of plated jewels. Jewelry production in this city follows different process flows and welding activities are commonly developed in a home environment without adequate safety equipment and hygiene conditions, replacing the industrial steps (Ferreira, 2005; Barrozo et al., 2022). Further details of informal activities performed in Limeira can be found in previous studies published by the research group (Salles et al., 2018; Ferreira et al., 2019; Pereira et al., 2020; Salles et al., 2021; Barrozo et al., 2022; Araujo et al., 2023). The city of Volta Redonda, Brazil, hosts one of the largest steel companies in Latin America, producing approximately 5.8 million tons of steel annually (CSN, 2017). Inside the factory, workers perform activities related to coke ovens, sintering, steelworks, continuous casting, hot and cold rolling, zinc plating, chroming, and electrolytic tinning. These processes are known to impact the environment and the local population's health due to the use and disposal of chemical compounds (Chen et al., 2015).

Biomonitoring studies considering different exposure scenarios and workers' vulnerability according to the employment arrangements established are limited. The present study aimed to assess blood concentrations of PTEs (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn, and Zn) in informal welding workers and formal steelworkers and examine the associations between these elements' blood concentrations and health outcomes reported by the population.

## 2. METHODS

### 2.1 Study population

### 2.1 Study population

The present study is part of a larger research investigation, "The 'omics' era applied to society: the impact of formal and informal labor on the exposome of workers with an emphasis on metabolomics, transcriptomics and lipidomics" by the Human Exposome Research Group

(eXsat). Ethical approval was obtained from the Institutional Review Board of the School of Public Health of the University of Sao Paulo (Protocol N° 32580820.8.0000.5421).

Individuals included in the survey were divided into two groups according to occupational exposure. The exposed group included women who perform welding of jewelry informally inside their houses in Limeira (22° 33' 52" S, 47° 24' 1"W) and men who work in the steel company in Volta Redonda (22° 31' 31" S, 44° 6' 14" W). The sex categorization considered was binary (male/female) as the sex assigned at birth. The sex with the highest percentage of workers in each population was standardized. The control group was invited from the 4<sup>th</sup> house onwards from the worker's houses and they are not engaged in activities involving chemical exposure (Ferreira et al., 2019). Therefore, the selected controls were residents of the same neighborhood, preferably, on the same street as the selected exposed. Pregnant women and people diagnosed with cancer were excluded. All individuals voluntarily agreed to participate and signed an standardized informed consent form.

The population selected in Limeira comprised 64 women (exposed group = 36; control group = 28). In Volta Redonda, the population selected was composed of 49 men (exposed group = 22; control group = 27).

## 2.2 Biological samples collection and metabolic exams

Blood samples (6 mL) for PTE determination were collected in heparinized tubes free of trace elements (Vacutainer®) between October and November 2019, in Limeira, and November and December 2021, in Volta Redonda. The participant's venous blood samples (2 mL) were collected in BD Vacutainer® tubes with lithium heparin for insulin measurement. These samples were transported in an icebox to the Laboratory for the Analysis of Human Exposure to Environmental Contaminants (LEHCA) of the University of Sao Paulo and stored at -80°C until the PTEs and insulin determination.

Insulin analysis was performed at the Laboratory of Nutritional Genomics and Inflammation (Genuin) using the Microwells AccuBind ELISA Insulin Kit – 2425-300. Analysis was performed in duplicate following the methodology proposed in the kit.

Another venous blood sample (2 mL) was collected in BD Vacutainer® Fluoride/EDTA tubes for plasma glucose measurement. For lipid profile determinations, a venous blood sample (5 mL) was collected in serology tubes with VACUETTE® Separating Gel. These samples were analyzed, immediately after collection, by a private laboratory.

The HOMA-IR value was calculated based on the measured glucose and insulin values and values above 2.71 indicated insulin resistance (Geloneze et al., 2006; Geloneze et al., 2009). Non-HDL cholesterol was calculated as the result of total minus HDL cholesterol.

### 2.3 Questionnaires

Participants answered two questionnaires by telephone. The exposure assessment questionnaire included details about job tasks and work processes, PPE and materials used (AIHA, 2015). The household risk and reported morbidity questionnaire was adapted from a study by the National Cancer Institute (INCA, 2004) and aimed to identify participants' health profiles through screening modules related to self-reported health and morbidity perception.

### 2.4 Potentially Toxic Elements Determination

High-purity de-ionized water (resistivity 18.2 M  $\Omega$  cm at 25°C) was used for samples and solutions preparations. All dilutions and analytical blank solutions were performed in triplicate. Internal standard solutions were prepared with 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  of Ga, Ir, Y, and Tb, in 0.01% (w/v) of Triton X-100 and 0.5% (v/v) of HNO<sub>3</sub> exclusive for trace analysis (Merck®).

The sample aliquot was transferred to a 15 mL conical polypropylene centrifuge tube (Falcon, Corning®) using a variable volume micropipette equipped with disposable tips



(Axygen®). Blood sample aliquots (200 µL) were diluted (1:50) with 1 mL of internal standard solution. The volume was made up to 10 mL with the diluent composed of 0.01% (w v<sup>-1</sup>) of Triton X-100 and 0.5% (v v<sup>-1</sup>) of HNO<sub>3</sub> (Merck®).

Triple Quadrupole Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (iCAP TQ ICP-MS, Thermo Fisher Scientific™, Bremen, Germany) equipped with a Micro Mist nebulizer (400 µL min<sup>-1</sup>) combined with a cyclonic spray chamber (both obtained from ESI Elemental Service & Instruments GmbH™, Mainz, Germany) and an auto-sampler ASX-560 (Teledyne CETAC Technologies™, Omaha, NE, USA) was used to quantify PTEs (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn, and Zn) in blood samples.

The TQ ICP-MS was operated with 99.9999% Argon (Air Products™). Helium and oxygen (Linde™) were used in the collision/reaction cell. The instrument was tuned before the elemental analysis to obtain the highest sensitivity. The main parameters used, selected masses, and limits of detection (LD) for each sample are shown in the Supplementary material (Table S1).

Blood standard reference material (Seronom™ TE Whole Blood Level II - Stasjonsveien) was used to verify the analytical method accuracy. Analytical method characteristics were based on a linear range of calibration curves, regressive equations, R<sup>2</sup>, and coefficient of variation. All data were evaluated with Qtegra™ ISDS™ software (Thermo Fisher Scientific™, Bremen, Germany).

## 2.5 Statistical Analysis

The questionnaire responses were typed in Excel and transferred for statistical analysis in STATA 13.1 software (STATA Corporation, TX, USA). Descriptive statistics, Fisher's exact, and Chi-square tests were performed for all health variables. Statistical differences in blood PTE concentrations between groups were tested by the Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ ). Elements

whose concentrations were below the limit of detection (LD) were assigned a value of  $LD/\sqrt{2}$  (Croghan and Egeghy, 2003). A deviation between replicates (RSD) of 30% was considered, when values exceeded this threshold, the sample was treated as a missing value.

The Limeira population (including workers and controls), which was the municipality with the largest number of participants, was analyzed to assess whether there was a relationship between blood PTE concentrations and health outcomes. For these purposes, a Directed Acyclic Graph (DAG) was elaborated using the web version of DAGitty software including pertinent variables based on a literature review and the context of the study area (Figure 1). The DAG offers systematic representations of causal relationships, determining covariate adjustment and minimizing confounding bias (Digitale et al., 2021; Suttorp et al., 2015). Sex and selection variables were considered naturally adjusted. All the implications were tested using Pb concentrations and the outcome was tested with respiratory diseases. The Holm-Bonferroni method was used to correct the statistical significance (0.05). None of the testable independence implications was rejected, suggesting consistency between DAG and the dataset (Textor et al., 2017). The DAG adjustment option chosen was based on the set with the smallest number of variables to avoid problems associated with a low number of events (e.g., separation), less than ten events per variable can bias the positive and negative directions of the regression coefficients (Peduzzi et al., 1996). For the same reason, the health variables included in the models presented an outcome frequency of 40 to 60%. The models were adjusted for occupational exposure (yes or no), ethnicity (“pardo”, white and others), age (in years), and smoking (yes or no).

The sample power was calculated using the EPIDAT 3.1 software, considering the largest sample group in Limeira with 64 participants and a frequency of events between 40 and 60%. This study had a power of 88% to identify a difference in PTE levels of at least 80% of the standard deviation.



Glucose, insulin, and lipid profile differences were compared between groups by the Mann-Whitney test. The association with blood PTE concentrations was evaluated by linear regression adjusting for the same variables suggested by DAG.

### 3. RESULTS

#### 3.1 Blood concentrations of potentially toxic elements

The geometric mean (GM), the 95% confidence interval, and the 95<sup>th</sup> percentile of PTEs in blood samples from Limeira and Volta Redonda are shown in Table 1. Values of Brazilian general population studies and NHANES results were also presented for comparison.

A statistical difference was observed between the groups from Limeira for As, Cd, and Pb concentrations. Blood mean levels of these elements were higher in the informal workers compared to the control group, as seen in Table 1. No significant differences were observed between formal workers from Volta Redonda and the control population.

Table 1. Geometric mean (GM), confidential interval (CI 95%), and 95<sup>th</sup> percentile of potentially toxic elements (PTEs) determined in blood samples ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) from Exposed and Control groups from Limeira city (SP, Brazil) and Volta Redonda city (RJ, Brazil) compared to other Brazilian studies and NHANES results. p values show the difference between groups.

PTE $\mu\text{g L}^{-1}$	Limeira city						Volta Redonda city						Brazil		USA	
	Exposed Group (n=36)			Control Group (n=28)			Exposed Group (n=22)			Control Group (n=27)			GM	95 <sup>th</sup> percentile	GM (CI 95%)	95 <sup>th</sup> percentile
	GM (CI 95%)	95 <sup>th</sup> percentile	GM (CI 95%)	95 <sup>th</sup> percentile	GM (CI 95%)	95 <sup>th</sup> percentile	GM (CI 95%)	95 <sup>th</sup> percentile	GM (CI 95%)	95 <sup>th</sup> percentile	GM (CI 95%)	95 <sup>th</sup> percentile				
<b>As</b>	0.45 (0.38 - 0.53)	1.12	0.34 (0.24 - 0.48)	5.18	0.003	0.70 (0.54 - 0.90)	1.69	0.76 (0.60 - 0.95)	2.15	0.75	5.32 <sup>a</sup> 4.22 <sup>c</sup>	11.25 <sup>a</sup> 9.61 <sup>c</sup>	#	#	#	#
<b>Cd</b>	0.51 (0.34 - 0.77)	4.08	0.03 (0.01 - 0.07)	1.26	<0.001	0.14 (0.06 - 0.34)	1.32	0.16 (0.07 - 0.34)	1.77	0.73	0.06 <sup>a</sup> 0.19 <sup>b</sup> 0.08 <sup>cd</sup>	0.56 <sup>ab</sup> 0.50 <sup>d</sup> 0.61 <sup>e</sup>	0.24 (0.23 - 0.25)	1.28		
<b>Cr</b>	1.07 (0.86 - 1.34)	5.45	1.10 (0.87 - 1.40)	6.85	0.68	-	-	-	-	-	#	#	0.17 (0.17 - 0.18)	0.43		
<b>Cu</b>	1.108 (1.042 - 1.179)	1512	1.169 (1.090 - 1.255)	1725	0.40	791.99 (741.45 - 845.98)	1081	815.52 (758.38 - 876.99)	1092	0.48	1120.90 <sup>a</sup>	1913.70 <sup>a</sup>	#	#	#	#
<b>Hg</b>	1.12 (0.98 - 1.27)	3.38	1.07 (0.85 - 1.35)	5.82	0.32	0.60 (0.38 - 0.94)	7.43	0.51 (0.25 - 1.02)	6.53	0.63	1.36 <sup>a</sup>	6.57 <sup>a</sup>	0.64 (0.58 - 0.72)	3.87		
<b>Mn</b>	8.15 (7.15 - 9.29)	14.79	7.39 (6.47 - 8.44)	12.74	0.29	9.57 (8.60 - 10.66)	14.6	8.81 (7.80 - 9.95)	16.83	0.37	12.84 <sup>c</sup>	28.60 <sup>c</sup>	9.52 (9.38 - 9.65)	16.5		
<b>Ni</b>	0.99 (0.43 - 2.26)	6.75	1.36 (0.55 - 3.37)	5.71	0.91	-	-	-	-	-	#	#	#	#	#	#
<b>Pb</b> ( $\mu\text{g dL}^{-1}$ )	1.72 (1.34 - 2.20)	5.20	0.94 (0.77 - 1.15)	2.01	<0.001	1.96 (1.70 - 2.25)	3.52	1.87 (1.59 - 2.20)	4.55	0.52	1.65 <sup>a</sup> 1.91 <sup>b</sup> 2.37 <sup>d</sup>	4.21 <sup>a</sup> 3.04 <sup>b</sup> 5.62 <sup>d</sup>	0.75 (0.72 - 0.78)	2.41		
<b>Sb</b>	2.12 (2.00 - 2.25)	2.88	2.16 (2.01 - 2.33)	3.15	0.69	1.05 (0.82 - 1.34)	3.89	1.04 (0.83 - 1.32)	5.28	0.97	#	#	#	#	#	#
<b>Sn</b>	0.82 (0.72 - 0.94)	1.34	0.87 (0.73 - 1.04)	1.42	0.48	5.91 (5.12 - 6.83)	12.45	5.68 (5.16 - 6.26)	9.45	0.90	#	#	#	#	#	#
<b>Zn</b>	4.372 (4.017 - 4758)	6860	4370 (3949 - 4836)	6476	0.86	5908 (5559 - 6279)	7.195	6115 (5778 - 6472)	8064	0.38	6406.60 <sup>a</sup>	11420.70	#	#	#	#

\*CDC, 2021. (Demographic Category: Total Population, 2011-2018 Campaign).

# Not rated / Not found.

<sup>a</sup> Lopes et al., 2019 (Non-smokers: 40-59 years old), <sup>b</sup> Kira et al., 2016 (> 20 years old), <sup>c</sup> Freire et al., 2015 (Non-smokers: 18-65 years old), <sup>d</sup> Kuno et al., 2013 (18-65 years old).

### 3.2 Informal workers' results

The distribution of the main demographic characteristics (educational level, skin color, and time residing in the region), habits (smoking, alcohol consumption, exercise, and use of medication), and reported health outcomes (diseases and symptoms) of exposed informal workers and controls (n=64) are presented in Table 2.

Table 2. Absolut and relative frequency of demographic characteristics, habits, and health outcomes reported by exposed and control group from Limeira city, SP – Brazil. 2019.

Variables	Exposed		Control		Total		p-value
	n	%	n	%	n	%	
Participants	36	100	28	100	64	100	
Smoke							
Yes	11	30.6	3	10.7	14	21.9	0.07
No	25	69.4	25	89.3	50	78.1	
Alcoholic beverage consumption							
Yes	22	61.1	7	25.0	29	45.3	0.005
No	14	38.9	21	75.0	35	54.7	
Physical exercise							
Yes	9	25.0	7	25.0	16	25.0	1.00
No	27	75.0	21	75.0	48	75.0	
Medicine consumption							
Yes	17	47.2	17	60.7	34	53.1	0.32
No	19	52.8	11	39.3	30	46.9	
Education							
Illiterate	1	2.8	0	0.0	1	1.6	0.34
Elementary School Incomplete	8	22.2	10	35.7	18	28.1	
Elementary School Complete	10	27.8	6	21.4	16	25.0	
High School Complete	17	47.2	11	39.3	28	43.8	
University Education Complete	0	0.0	1	3.6	1	1.6	
Ethnicity							
White	12	33.3	13	46.4	25	39.1	0.41
Black	8	22.2	4	14.3	12	18.8	
"Pardo"	12	33.3	7	25.0	19	29.7	
Other	4	11.1	4	14.3	8	12.5	
Time residing in the region							
0 - 10 year	5	13.9	10	35.7	15	23.4	0.03
10 - 20 years	20	55.6	15	53.6	35	54.7	
> 20 years	11	30.6	3	10.7	14	21.9	
Reported diseases							
Neurological	10	27.8	7	25.0	17	26.6	0.88
Spine	12	33.3	7	25.0	19	29.7	0.59
Psychiatric	13	36.1	9	32.1	22	34.4	0.37
Respiratory	16	44.4	11	39.3	27	42.2	0.80
Stomach or intestinal	10	27.8	4	14.3	14	21.9	0.24
Liver	1	2.8	2	7.1	3	4.7	0.50
Kidney	1	2.8	1	3.6	2	3.1	1.00

Variables	Exposed		Control		Total		p-value
	n	%	n	%	n	%	
Blood pressure	6	16.7	6	21.4	12	18.8	0.75
Cholesterol	7	19.4	3	10.7	10	15.6	0.31
Diabetes	2	5.6	2	7.1	4	6.3	1.00
Thyroid	2	5.6	2	7.1	4	6.3	1.00
Obesity	9	25.0	7	25.0	16	25.0	1.00
Skin	0	0.0	1	3.6	1	1.6	0.44
Anemia	1	2.8	3	10.7	4	6.3	0.31
Cancer	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1.00
Malformation	1	2.8	1	3.6	2	3.1	1.00
Allergy	18	50.0	14	50.0	32	50.0	1.00
Frequently Reported Symptoms							
Tremors	8	22.2	2	7.1	10	15.6	0.17
Loss of balance or unsteadiness	3	8.3	3	10.7	6	9.4	0.66
Dizziness	13	36.1	9	32.1	22	34.4	0.80
Headaches	21	58.3	12	42.9	33	51.6	0.31
Dry cough	7	19.4	3	10.7	10	15.6	0.49
Cough with mucus	4	11.1	1	3.6	5	7.8	0.38
Wheezing	4	11.1	2	7.1	6	9.4	0.69
Shortness of breath	11	30.6	2	7.1	13	20.3	0.03
Tiredness	10	27.8	5	17.9	15	23.4	0.39
Eye irritation	15	41.7	9	32.1	24	37.5	0.60
Sneezes	18	50.0	11	39.3	29	45.3	0.45
Runny nose	8	22.2	4	14.3	12	18.8	0.53
Combined Manifestations							
Neurological manifestation	22	61.1	15	53.6	37	51.8	0.36
Respiratory manifestations	19	52.8	11	39.3	30	46.9	0.21

The two groups from Limeira are similar in terms of smoking habits, exercise, medication consumption, educational level, and ethnicity. Statistically significant differences were observed for alcohol consumption ( $p = 0.005$ ) and time living in the region ( $p = 0.03$ ). Approximately 60% of the informal workers reported consuming alcoholic beverages between one and three times a week (an average of 4.5 doses referring to a can, cup, or drink for each consumption). The exposed group also presented a higher percentage of people living in the region for more than 15 years (80.6%), in contrast to 42.8% reported within the control group.

Among the health variables analyzed, only the shortness of breath symptom showed a statistical difference between the groups ( $p = 0.004$ , 84.6% from the exposed group and 15.4% from the control group). No differences were observed for respiratory diseases, although 42.2% of the participants reported having at least one of these diseases, including bronchitis, asthma,

or upper airway infection. Almost half of the participants reported some type of allergy, the main one being dust allergy. The symptom with the highest prevalence among individuals was headaches (51.6%). Among health problems, 26,6% of participants reported having migraines or sleep problems; and 34.4% reported psychiatric problems such as depression, anxiety, or panic attacks. Seventeen percent reported obesity. The mean BMI was 28.10 and no difference was observed between groups. Two participants, one from each group, presented the set of conditions characteristic of metabolic syndrome (obesity according to BMI calculation combined with high levels of blood glucose, cholesterol, and triglycerides).

In Limeira, only four informal workers reported using PPE during welding activities (one reported using a protective mask, another using protective glasses, and two using gloves).

The glycemia results (Table 3) were the only ones that showed a significant difference between the groups ( $p = 0.03$ ), with the mean glycemia being higher in the exposed group ( $92.1 \text{ mg dL}^{-1}$ ) compared to the control group ( $84.1 \text{ mg dL}^{-1}$ ).

Table 3. Geometric means (GM) and confidence intervals (CI 95%) of glucose, insulin, and lipid profile determined in blood of exposed and control participants from Limeira, SP. The p-value shows the comparison between groups by the Mann-Whitney test.

	Units	<u>Exposed group</u>	<u>Control group</u>	p-value
		GM (IC 95%)	GM (IC 95%)	
Insulin	$\mu\text{IU mL}^{-1}$	6.7 (5.37 - 8.4)	8.8 (6.9 - 11.1)	0.07
Glucose	$\text{mg dL}^{-1}$	92.1 (83.9 - 101.0)	84.1 (77.5 - 91.3)	<b>0.03</b>
Cholesterol	$\text{mg dL}^{-1}$	173.9 (161.5 - 187.1)	174.2 (159.8 - 189.9)	0.8
HDL cholesterol	$\text{mg dL}^{-1}$	41.2 (36.9 - 45.9)	40.1 (36.3 - 44.3)	0.97
Non-HDL cholesterol	$\text{mg dL}^{-1}$	128.7 (116.2 - 142.6)	131.8 (118.1 - 146.9)	0.69
LDL cholesterol	$\text{mg dL}^{-1}$	104.0 (94.0 - 115.1)	111.5 (99.5 - 125.1)	0.43
VLDL cholesterol	$\text{mg dL}^{-1}$	22.9 (19.3 - 27.0)	18.8 (16.1 - 22.1)	0.2
TG	$\text{mg dL}^{-1}$	112.3 (94.3 - 133.7)	93.95 (80.1 - 110.2)	0.26
HOMA-IR	-	1.5 (1.2 - 1.6)	1.8 (1.4 - 2.4)	0.19



The association between PTEs with significantly higher concentrations in informal workers and the health outcomes reported by Limeira's population were investigated. The results are shown in Table 4. Associations were found between blood Pb concentrations and the prevalence of neurological manifestations ( $p < 0.001$ ) and frequent headache symptoms ( $p = 0.04$ ). Blood As concentrations were associated with neurological manifestations ( $p = 0.02$ ), neurological diseases ( $p = 0.01$ ), and frequent headache symptoms ( $p = 0.01$ ).

Table 4. Associations (prevalence ratios [PR]) and their 95% confidence interval (95% CI) between blood lead (Pb), cadmium (Cd), and arsenic (As) concentration and health outcomes from Limeira.

<b>Blood Pb (<math>\mu\text{g dL}^{-1}</math>)</b>	<b>PR (95% CI)</b>	<b>p-value</b>
Neurological Manifestation	1.32 (1.14 - 1.54)	<0.001
Neurological disease	1.32 (0.96 - 1.80)	0.08
Headaches	1.20 (1.00 - 1.44)	0.04
Respiratory manifestations	0.93 (0.77 - 1.12)	0.45
<b>Blood Cd (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>PR (95% CI)</b>	<b>p-value</b>
Neurological Manifestation	0.94 (0.73 - 1.20)	0.61
Neurological disease	0.63 (0.37 - 1.09)	0.10
Headaches	1.01 (0.78 - 1.32)	0.92
Respiratory manifestations	0.98 (0.75 - 1.27)	0.85
<b>Blood As (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>PR (95% CI)</b>	<b>p-value</b>
Neurological Manifestation	1.08 (1.01 - 1.15)	0.02
Neurological disease	1.18 (1.04 - 1.34)	0.01
Headaches	1.11 (1.03 - 1.20)	0.01
Respiratory manifestations	0.73 (0.47 - 1.16)	0.18

The association between As and Pb cutoff points and the prevalence of neurological manifestations, which was the most significant outcome, was investigated. Figure 2 indicates an increase in the odds of presenting neurological manifestations from the last quintile of lead in the blood ( $2.6 \mu\text{g dL}^{-1}$ ) and an increase in the 4th decile of arsenic ( $0.31 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Pb concentrations higher than  $2.6 \mu\text{g dL}^{-1}$  showed a prevalence of neurological manifestations 2.3 times higher (95% CI: 1.17 – 4.58;  $p = 0.02$ ) than those with lower lead concentrations. For arsenic, the prevalence ratio was 1.69 (95% CI: 0.94 -3.03;  $p = 0.07$ ) for concentrations above  $0.31 \mu\text{g L}^{-1}$  although the result is not significant.

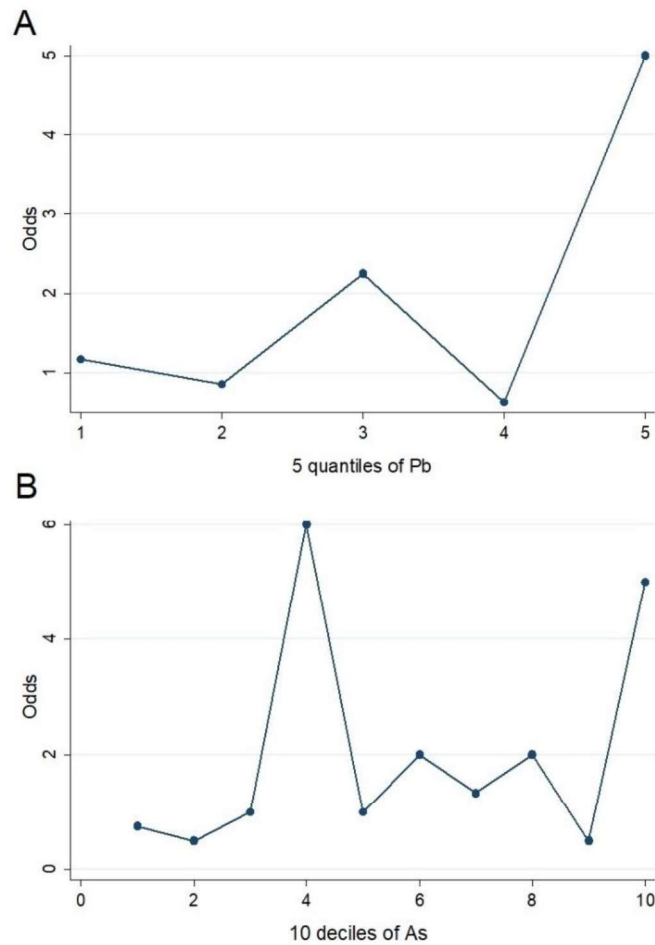


Figure 2. The association between blood lead concentrations (A) and blood arsenic concentrations (B) and the prevalence of neurological manifestations.

A significant weak association was observed between the blood Cd values of Limeira participants ( $\mu\text{g dL}^{-1}$ ) and the increase in glycemia (regression coefficient [95% CI]: 0.07 [0.01 – 0.13];  $p = 0.03$ ;  $r^2 = 0.19$ ), as shown in Figure 3. This indicates that higher Cd blood levels found in the exposed group (informal welders) may be related to the higher concentrations of glucose, also observed in this group.

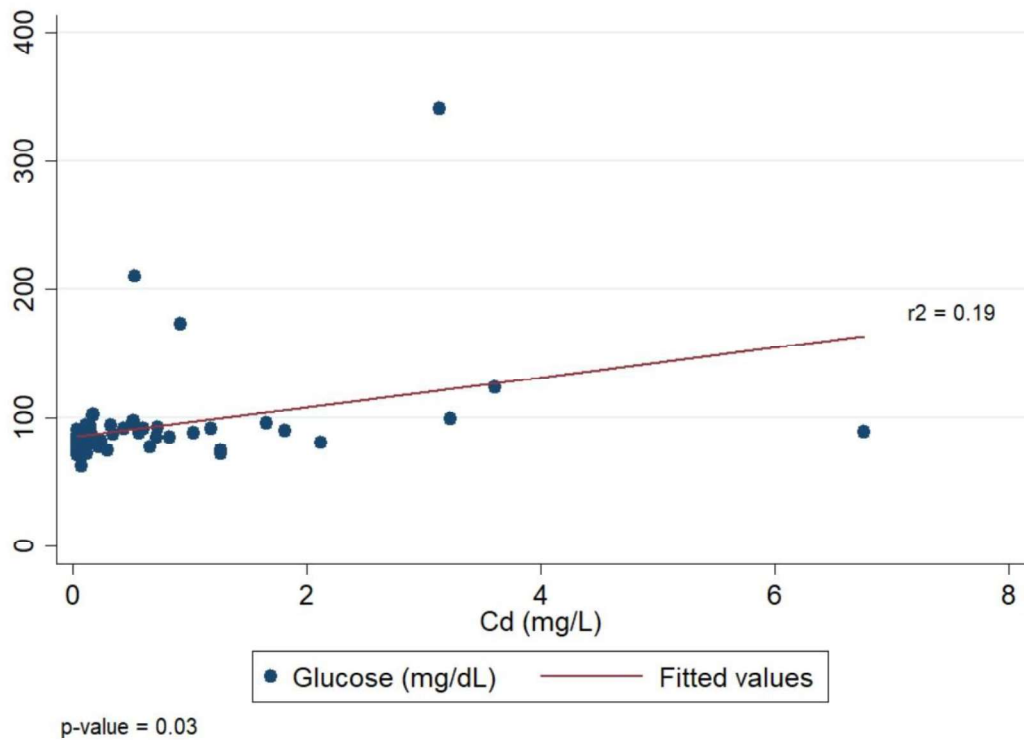


Figure 3. Association between blood cadmium concentrations and glycemia.

### 3.3 Formal workers' results

Table 5 presents the distribution of demographic characteristics (educational level, skin color, and time residing in the region), habits (smoking, alcohol consumption, exercise, and use of medication), and reported health outcomes (diseases and symptoms) for exposed formal workers and controls.

Table 5. Absolut and relative frequency of demographic characteristics, habits, and health outcomes reported by exposed and control group from Volta Redonda city, RJ – Brazil. 2021.

Variables	Exposed		Control		Total		p-value
	n	%	n	%	n	%	
Participants	20	100	27	100	47*	100	
Smoke							
Yes	2	10.0	2	7.4	4	8.5	1.00
No	18	90.0	25	92.6	43	91.5	
Alcoholic beverage consumption							
Yes	10	50.0	20	74.1	30	63.8	0.13
No	10	50.0	7	25.9	17	36.2	
Physical exercise							
Yes	14	70.0	16	59.3	30	63.8	0.55
No	6	30.0	11	40.7	17	36.2	

Variables	Exposed		Control		Total		p-value	
	n	%	n	%	n	%		
Medicine consumption								
	Yes	5	25.0	11	40.7	16	34.0	0.36
	No	11	55.0	16	59.3	27	57.4	
Education								
	Illiterate	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0.75
	Elementary School Incomplete	0	0.0	0	0.0	0	0.0	
	Elementary School Complete	1	5.0	3	11.1	4	8.5	
	High School Complete	13	65.0	13	48.1	26	55.3	
	University Education Complete	6	30.0	11	40.7	17	36.2	
Ethnicity								
	White	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0.02
	Black	9	45.0	17	63.0	26	55.3	
	“Pardo”	11	55.0	5	18.5	16	34.0	
	Other	0	0.0	5	18.5	5	10.6	
Time residing in the region								
	0 - 10 year	0	0.0	2	7.4	2	4.3	1.00
	10 - 20 years	2	10.0	4	14.8	6	12.8	
	> 20 years	14	70.0	20	74.1	34	72.3	
Reported diseases								
	Neurological	4	20.0	6	22.2	10	21.3	1.00
	Spine	4	20.0	5	18.5	9	19.1	1.00
	Psychiatric	4	20.0	10	37.0	14	29.8	0.33
	Respiratory	4	20.0	5	18.5	9	19.1	1.00
	Stomach or intestinal	5	25.0	6	22.2	11	23.4	1.00
	Liver	0	0.0	0	0.0	0	0.0	-
	Kidney	2	10.0	1	3.7	3	6.4	0.57
	Blood pressure	0	0.0	1	3.7	1	2.1	1.00
	Cholesterol	0	0.0	0	0.0	0	0.0	-
	Diabetes	0	0.0	0	0.0	0	0.0	-
	Thyroid	0	0.0	4	14.8	4	8.5	0.13
	Obesity	5	25.0	2	7.4	7	14.9	0.12
	Skin	1	5.0	3	11.1	4	8.5	0.63
	Anemia	0	0.0	0	0.0	0	0.0	-
	Cancer	0	0.0	0	0.0	0	0.0	-
	Malformation	1	5.0	2	7.4	3	6.4	0.57
	Allergy	6	30.0	15	55.6	21	44.7	0.14
Frequently Reported Symptoms								
	Tremors	1	5.0	1	3.7	2	4.3	1.00
	Loss of balance or unsteadiness	0	0.0	1	3.7	1	2.1	1.00
	Dizziness	1	5.0	3	11.1	4	8.5	0.63
	Headaches	4	20.0	8	29.6	12	25.5	0.52
	Dry cough	0	0.0	2	7.4	2	4.3	0.50
	Cough with mucus	0	0.0	2	7.4	2	4.3	0.50
	Wheezing	0	0.0	1	3.7	1	2.1	1.00
	Shortness of breath	2	10.0	2	7.4	4	8.5	1.00
	Tiredness	2	10.0	4	14.8	6	12.8	1.00
	Eye irritation	0	0.0	4	14.8	4	8.5	0.13
	Sneezes	2	10.0	4	14.8	6	12.8	1.00
	Runny nose	2	10.0	7	25.9	9	19.1	0.27

\*Two participants did not answer the questionnaires, therefore was considered a missing value.

No statistical differences were found between groups for smoking, alcoholic beverage consumption, physical exercise, medication consumption, educational level, and time residing in the region. On the other hand, statistically significant differences were observed for ethnicity ( $p = 0.02$ ). Among the control group, most participants declared themselves to be black (63.0%), while the exposed group was divided into black (45.0%) and “pardo” (55.0%). The term "pardo" has been used in Brazil for the miscegenation of different races and is considered a race category according to the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE). None of the participants in Volta Redonda declared themselves white.

None of the health variables analyzed presented a statistical difference between the groups. Almost half of the participants (44.7%) reported some type of allergy, the main one being dust allergy. The symptom with the highest prevalence among individuals was headaches (25.5%) followed by runny nose (19.1%). Among health problems, 19,1% reported at least one respiratory disease; 29.8 % reported psychiatric problems; 23.4% reported stomach or intestinal problems, and 21.3% reported neurological diseases. Fifteen percent reported obesity. The mean BMI was 26.36 and no difference was observed between groups ( $p = 0.45$ ). Glucose, insulin, and lipid profile results were not statistically significant between groups (Table S2 in supplementary material ).

All Volta Redonda workers reported using PPE including helmets, goggles, gloves, and/or protective clothing, 60% of them said they wore protective masks.

There was no difference in PTEs concentration between exposed and control groups in Volta Redonda, and the number of disease events was too small to assume associations with referred health outcomes in this study. Even with the smaller database, the associations were investigated, and the results are presented in the supplementary material (Table S3). The PTEs and health outcomes used in the models were the same used in the Limeira population, adjusted for the same DAG-guided variables.

#### 4. DISCUSSION

In the current study, even at low doses ( $2.6 \mu\text{g L}^{-1}$ ), blood Pb levels indicate an increased prevalence of reported neurological manifestations. Blood As levels was also associated with an increased prevalence of reporting neurological manifestations (headaches, migraine, and sleep problems). Furthermore, a significant positive association was observed between blood Cd concentration and glycemia. Literature evidence, combined with the results of the present study, provides an important basis for the assessment of workers' exposure and their health impacts.

Blood Pb values in informal workers were higher than the control group and the reference values of the U.S. general population (CDC, 2021). The 95<sup>th</sup> percentile of Pb was higher than the general Brazilian population (Kira et al., 2016), however, the GM is slightly lower, as depicted in Table 1. The Pb means did not exceed  $5.0 \mu\text{g dL}^{-1}$  which The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) stated as elevated for surveillance purposes and did not exceed the occupational value of  $60 \mu\text{g dL}^{-1}$  set by Brazilian regulatory standard as a biological indicator of exposure with clinical significance (Brasil, 2022).

Lead is a heavy metal naturally distributed on earth but with no apparent biological function. Environmental or occupational sources may increase exposure levels. Blood Pb levels generally reflect recent exposure (ATSDR, 2020; Olympio et al., 2022). The World Health Organization asserts that there is no established safe threshold for lead exposure (WHO, 2022). Lead toxicity can be mostly attributed to the compromised function of enzymes and structural proteins and the metal's capacity to mimic and compete with calcium and zinc ions (Olympio et al., 2009; ATSDR, 2020). Evidence suggests that Pb directly induces reactive oxygen species (ROS) generation, resulting in lipid peroxidation, toxic effects on membrane structure and functions, DNA damage, central and peripheral nervous systems damage, and vascular problems (Gurer and Ercal, 2000; Olympio et al., 2022). In adults, blood Pb concentrations may

affect hypertension, neuropathy, memory loss, irritability, headaches, hearing acuity, and encephalopathy among others (Gurer and Ercal, 2000; Olympio et al., 2009).

Arsenic, classified as a metalloid, is considered a xenobiotic as it lacks physiological functions in humans and can cause toxic effects (Garza-Lombó et al., 2019). It is well absorbed by oral and inhalation routes. Once absorbed from the gastrointestinal tract, arsenic is reduced by yielding a mixture of As(III) and As(V) in the blood. Usually undergoes methylation in the liver and is excreted in the urine (Saha et al., 1999; ATSDR 2007). Arsenic blood concentrations determined in other Brazilian populations (Lopes et al., 2019; Freire et al., 2015) were greater than As values determined in informal workers. According to the Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), normal blood concentrations of arsenic in unexposed humans are below  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ , the GM of this study ( $0.45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) is below this limit, however, 95<sup>th</sup> percentile is above ( $1.12 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

A significant association between arsenic and neurological manifestations was observed in the Limeira population. Also, a probable cutoff point ( $0.31 \mu\text{g L}^{-1}$ ) was associated with an increase in neurological manifestations. Other epidemiological studies indicate that inhaled arsenic can produce neurological effects including headache, delirium, memory loss, encephalopathy, and seizures (Saha et al., 1999; Kuivenhoven and Mason, 2023; Shiek et al., 2023). Although these findings are suggestive, the mechanisms through which arsenic induces neurotoxicity remain unclear, oxidative damage and neuroinflammation seem to be correlated to these effects (Garza-Lombó et al., 2019; Mochizuki et al., 2019). Arsenic-induced oxidative stress may also lead to lipid peroxidation, lipid bi-layer damage, and mitochondrial dysfunction involved in different pathological states, including inflammatory responses (upregulation of MAPK and JNK pathways), atherosclerosis, neurodegeneration, and cancer (Garza-Lombó et al., 2019; Mochizuki et al., 2019; Shiek et al., 2023).

As illustrated in Table 1, blood Cd values in informal workers were higher than the control group and the reference values found for the general population of São Paulo, Brazil (Kira et al. 2016), and higher compared to U.S. population-based survey (CDC, 2021). The blood glucose levels were higher in the exposed group ( $92.1 \text{ mg dL}^{-1}$ ) compared to the control group from Limeira ( $84.1 \text{ mg dL}^{-1}$ ), and a positive weak association was observed between cadmium concentrations and glycemia. This association has been reported by other studies linking Cd exposure with increased diabetes and prediabetes risk (Kolachi et al., 2011; Filippini et al., 2022). The mechanisms by which cadmium influences diabetes are not clear, but cadmium exposure has been found to induce hyperglycemia, inflammation, and mitochondrial damage, disrupt the oxidative balance, and result in dysfunction of pancreatic  $\beta$ -cells (Jacquet et al., 2018). These detrimental effects contribute to increased glucose levels by overstimulating gluconeogenesis and fostering insulin resistance in target tissues, thereby hindering glucose uptake (Attia et al., 2021; Buha et al., 2020; Edwards and Ackerman, 2016; Hong et al., 2021).

Recent studies have already evaluated occupational exposure in the Limeira working population and associated factors. Ferreira et al. (2019) observed significantly higher blood Pb concentrations in informal workers compared to controls, as well, Pb concentrations in air samples within the breathing zone of informal workers exceeded the occupational limits ( $0.05 \text{ mg m}^{-3}$ ) set by OSHA and NIOSH agencies. A moderate correlation was observed between As concentration in domestic dust where informal work took place and As concentrations in the blood of children residing in those houses, while children's blood Cd concentration was strongly associated with the Cd concentration in household dust (Barrozo et al., 2022). Informal production of jewelry also increases the exposure of working families to cadmium reflecting higher cadmium urinary concentrations in workers (Salles et al., 2021). Jewelry pieces analyzed by X-ray showed concentrations above the Brazilian regulatory limits for cadmium ( $>100 \text{ mg kg}^{-1}$ ) and lead ( $>300 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (Salles et al., 2021). Barrozo et al. (2022) concluded that lead is



found in samples of soldering wire used by informal workers, while cadmium is found in samples of soldering powder. Therefore, the type of welding process and the materials employed can impact the composition of particles found in the welding fume, thereby influencing occupational exposure. Ferreira et al. (2021) investigated the gaps in the informal work scenario of Limeira and observed that the ventilation of the informal work environment was precarious, lacking an exhaust system or mechanical ventilation, rendering it an inadequate environment with potential risks of exposure and accidents for both workers and their family members who may be subjected to similar hazards.

Regarding the Volta Redonda population, no statistically significant difference was observed and the number of disease events was too small to assume associations with referred health outcomes. In interpreting these results, it is important to consider the levels of air pollution in the city. Comparing the two control groups of this study, Volta Redonda presented significantly higher concentrations of As, Cd, Pb, Sn, and Zn compared to Limeira. Blood As concentrations in Volta Redonda were lower compared to other Brazilian studies (Freire et al., 2015; Lopes et al., 2019). On the other hand, blood Cd values in formal workers and controls from Volta Redonda were higher than the reference values found in Brazil (Kuno et al., 2013; Freire et al., 2015; Lopes et al., 2019). The 95<sup>th</sup> percentile for Cd in the control group was also higher compared to U.S. values (CDC, 2021). Blood Pb values were comparable to other Brazilian studies but higher than the U.S. reference values for the general population (Kuno et al., 2013; Kira et al., 2016; Lopes et al., 2019; CDC, 2021). These results are relevant and indicate the significant contribution of environmental exposure in the city. As an industrial hub, scientific research has been carried out in the city, assessing the effects of pollution, generated by the activity of the steel industry, on workers and the surrounding population (Paiva, 2014; Nascimento et al., 2016; Reis et al. al., 2017, Pagliari et al., 2021, Perini et al., 2022; Coutinho et al., 2023). As discussed by Salles et al. (2023b), the city's residents are also

exposed to toxic elements environmentally and the load of air pollutants in the region, including metals, polycyclic aromatic hydrocarbons, volatile organic compounds, particulate matter, ozone, among others, may explain why differences were not observed between the groups in this study.

The utilization of personal protective equipment (PPE) by workers is also a crucial factor in assessing these results. Most formal workers reported using PPE while a minority of informal workers reported using it. The more frequent use of PPE by formal workers, together with environmental exposure in Volta Redonda may explain the non-significant difference in the blood PTE levels between groups in this city (Salles et al., 2023b). It should also be considered that informal workers in Limeira carry out the same activity, characterized by the soldering of jewelry in a domestic environment. In Volta Redonda, despite being employed at the same steel company, participants may engage in varied activities across different work shifts and sectors (coke plant, galvanization, tinning, chrome plating, maintenance, electrician) which can influence their occupational exposure and health outcomes. Mainly, the impact of shift work needs to be better studied.

Transcriptomic differences associated with inflammation and immune responses were identified in a subpopulation of the participants included in the present study, suggesting a link between occupational exposure, negative health outcomes, and the development of chronic diseases (Salles et al., 2023b). Therefore, alterations in the inflammatory and immune response may be the key to understanding blood PTE associations observed in the current study. These findings suggest a pathway for exploring occupational exposures and their potential role in eliciting biological responses.

The determination of workers' PTEs blood concentrations and the investigation of association with health outcomes were strengths of our study. However, some limitations should be considered. No associations were identified between blood PTE concentrations and

some outcomes, such as respiratory manifestations, which may be related to the small sample size and lack of power to identify significant associations. However, even so, other significant associations were observed and were consistent with the literature about metal exposures. A higher frequency of shortness of breath symptoms was observed in the group of informal workers. Other studies indicate that welders are at greater risk of developing various respiratory signs and symptoms due to their exposure to vapors containing a complex mixture of toxic elements (Antonini et al., 2003; Mehrifar et al., 2019; Riccelli et al., 2020; Salles et al., 2023a).

Although the sample size can be considered small, information regarding participants' characteristics was collected to consider possible confounders, and a control group was included to equalize the environmental exposure. The low recruitment numbers were influenced by workers' hesitance related to concerns about the potential repercussions and retaliation, which reflects in lack of engagement in scientific studies. It is also important to bear in mind that this was a cross-sectional study and other factors such as habits, lifestyle, and diet may influence exposures and outcomes.

Informal workers are important to the economy but are unsupported by public policies and safety practices (Schulte et al., 2022). Therefore, the development and implementation of public health policies to guarantee health protection rights integrating economic and social factors are urgent. The predominance of women in the informal work setting outlined in this study can be attributed to the flexible work schedule which allows supplementing their income without leaving home and concurrently managing domestic duties and childcare responsibilities. Therefore, proposed measures to solve this problem need to create conditions in which being subject to this exposure would no longer be attractive for them. For example, the creation of daycare centers for children would enable these women to work outside their homes under improved conditions. Additionally, the creation of formal employment opportunities with guaranteed rights and higher remuneration could further enhance their

overall work situation. Establishing worker associations and cooperatives is crucial for fostering social inclusion and advancing shared objectives and rights. Thus, it is essential to inform workers about the risks, promote better conditions of occupational health and safety, protect individuals by decreasing their vulnerability, mainly in scenarios of informality from low and middle-income countries.

## 5. CONCLUSION

This study indicates that neurological manifestations were significantly associated with both blood lead and arsenic concentrations. Neurological manifestations were 2.3 times more prevalent (95% CI: 1.17 – 4.58;  $p = 0.02$ ) in individuals with blood lead concentrations exceeding  $2.6 \mu\text{g dL}^{-1}$  compared to those with lower blood lead levels. A weak positive association was also observed between blood cadmium concentrations and glycemia. It is also important to highlight that even at low levels of PTE exposure, associations with worker health outcomes were found.

The blood concentrations of Cd, As, and Pb, as well as the glycemia, were higher in the group of informal workers from the city of Limeira compared to the control group from the same city. The results suggest that occupational exposure to these elements plays an important role and contributes to their blood levels indicating an increased risk of developing diseases. No significant differences were observed between formal workers and controls probably due to the impact of environmental exposure in the city of Volta Redonda. Exposure to toxic elements in the occupational environment is probably greater among informal workers than among formal workers, due to differences in the exposure scenario, mainly, due to the use of PPE.

The results reveal the urgent need to implement public actions to protect workers' health, mainly, among informal workers who are more vulnerable due to economic, social, and

occupational hygiene conditions. Monitoring exposure and implementing interventions to reduce PTE exposure in the work environment can become a significant step toward prevention.

## 6. REFERENCE

AIHA. American Industrial Hygiene Association. A strategy for assessing and managing occupational exposures. Exposure Assessment Strategies Committee (EASC), Washington, DC, 4<sup>o</sup> edition. 2015.

Antonini JM, Lewis AB, Roberts JR, Whaley DA. Pulmonary Effects of Welding Fumes: Review of Worker and Experimental Animal Studies. *American Journal of Industrial Medicine*. 2003;43:350-60. doi: 10.1002/ajim.10194.

Araujo ANM, Leroux IN, Furtado DZS, Ferreira APSS, Batista BL, Silva HDT, Handakas E, Assunção NA and Olympio KPK. Integration of proteomic and metabolomic analyses: New insights for mapping informal workers exposed to potentially toxic elements. *Front. Public Health*. 2023;10:899638. doi: 10.3389/fpubh.2022.899638.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2007. Toxicological profile for Arsenic. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. doi: 10.15620/cdc:11481.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2020. Toxicological profile for Lead. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. doi: 10.15620/cdc:95222.

Attia SM, Varadharajan K, Shanmugakonar M, Das SC, Al-Naemi.A. Cadmium: An emerging role in adipose tissue dysfunction. *Expos. Health* 13. 2021. doi:10.1007/s12403-021-00427-3.

Bacon JR, Davidson CM. Is there a future for sequential chemical extraction? *The Analyst*. 2008; 133(1):25–46.

Barrozo F, Almeida GA, Luz MS, Olympio KPK. A Low-Cost Method Shows Potentially Toxic Element Levels in Dust Correlated with Elevated Blood Levels of These Chemicals in Children Exposed to an Informal Home-Based Production Environment. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(23):16236. doi: 10.3390/ijerph192316236.

Bonnet F, Vanek J, Chen M. Women and Men in the Informal Economy – A Statistical Brief. Manchester, UK: WIEGO. 2019.

Brasil. Regulatory norm. NR 7: Medical Occupational Health Control Program. Parameters for biological control of occupational exposure to some chemical agents. Labor Ministry. Secretary of Security and Work Health. (in Portuguese). Portaria MTP n.º 567, de 10 março de 2022.

Buha A, Dukic-Cosic D, Curcic M, Bulat Z, Antonijevic B, Moulis JM, Goumenou M, Wallace D. Emerging links between cadmium exposure and insulin resistance: Human, animal, and cell study data. *Toxics*. 2020;8(3),63. doi:10.3390/toxics8030063.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Fourth Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, Updated Tables, (March 2021). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Disponível em: <https://www.cdc.gov/exposurereport/>.

Chen J, Aries E, Collins P, Anderson DR, Hodges JS. Characterization of Priority Substances in Effluents from an Integrated Steelworks in the United Kingdom. *Water Environ. Res*. 2015;87(2):132-44. doi:10.2175/106143014X14062131179311.

Coutinho GBF, Moreira MFR, Fischer FM, Dos Santos MCR, Feitosa LF, de Azevedo SV, Borges RM, Nascimento-Sales M, Christoffolete MA, Santa-Marinha MS, Valente D, Teixeira LR. Influence of Environmental Exposure to Steel Waste on Endocrine Dysregulation and

PER3 Gene Polymorphisms. *Int J Environ Res Public Health*. 2023;20(6):4760. doi: 10.3390/ijerph20064760.

Croghan C, Egeghy, PP. Methods of Dealing With Values Below the Limit of Detection Using SAS. Presented at Southeastern SAS User Group. 2003, pp. 22–24. Disponível em: [http://www8.sas.com/scholars/05/PREVIOUS/2001\\_200.4/2004\\_MOR/Proceed/\\_2003/Statistics/SD08-Croghan.pdf](http://www8.sas.com/scholars/05/PREVIOUS/2001_200.4/2004_MOR/Proceed/_2003/Statistics/SD08-Croghan.pdf).

CSN. Companhia Siderúrgica Nacional [internet]. Unidades Fabris: Usina Presidente Vargas. 2017. [acesso em 19 out 2017]. Disponível em: [http://www.csn.com.br/conteudo\\_pti.asp?idioma=0&conta=45&tipo=60851&prSv=1](http://www.csn.com.br/conteudo_pti.asp?idioma=0&conta=45&tipo=60851&prSv=1).

Dehghani F, Omidi F, Fallahzadeh RA, Pourhassan B. Health risk assessment of occupational exposure to heavy metals in a steel casting unit of a steelmaking plant using Monte-Carlo simulation technique. *Toxicol Ind Health*. 2021;37(7):431-440. doi: 10.1177/07482337211019593.

Digitale JC, Martin JN, Glymour MM. Tutorial on directed acyclic graphs. *J. Clin. Epidemiol*. 2021;8–11. doi:10.1016/j.jclinepi.2021.08.001.

Edwards J, Ackerman C. A review of diabetes mellitus and exposure to the environmental toxicant cadmium with an emphasis on likely mechanisms of action. *Curr. Diabetes Rev*. 2016;12(3), 252–258. doi:10.2174/1573399811666150812142922.

Ferreira MAL. Estudo dos riscos à saúde do trabalhador e ao meio ambiente na produção de joias e bijuterias de Limeira - SP. [dissertação]. Piracicaba: Universidade Metodista de Piracicaba; 2005.

Ferreira APSS, Pereira EC, Salles FJ, da Silva FF, Batista BL, Handakas E, Olympio KPK. Home-based and informal work exposes the families to high levels of potentially toxic elements. *Chemosphere*. 2019;218:319-27.

Ferreira APSS, Tavares DJB, Pereira EC, Salles FJ, Luz MS, Vilela RAG, Olympio KPK. Capítulo 5 - Trabalho Precário na Produção Domiciliar de Semijoias e Bijuterias: lacunas entre a regulação e a proteção do trabalhador. In: Gemma SFB, Lima FT, Viganô MMS, organizadores. *Produção de Semijoias em Limeira-SP: Conexões entre vida, trabalho e família*. [E-Book] BCCL/UNICAMP: Campinas/SP: 2021. Recurso digital, p. 102-120. doi: 10.20396/ISBN9786587175218.

Filippini T, Wise LA, Vinceti M. Cadmium exposure and risk of diabetes and prediabetes: A systematic review and dose-response meta-analysis. *Environ Int*. 2022 Jan;158:106920. doi: 10.1016/j.envint.2021.106920.

Freire C, Koifman RJ, Fujimoto D, Souza VC de O, F. Barbosa Jr., Koifman S. Reference values of cadmium, arsenic and manganese in blood and factors associated with exposure levels among adult population of Rio Branco, Acre, Brazil. *Chemosphere*. 2015. 128, pp. 70-78. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.12.083.

Garza-Lombó C, Pappa A, Panayiotidis MI, Gonsebatt ME, Franco R. Arsenic-induced neurotoxicity: a mechanistic appraisal. *J Biol Inorg Chem*. 2019;24(8):1305-1316. doi: 10.1007/s00775-019-01740-8.

Geloneze B, Repetto EM, Geloneze SR, Tambascia MA, Ermetice MN. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixed population IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006;72(2):219-20.

Geloneze B, Vasques AC, Stabe CF, Pareja JC, Rosado LE, Queiroz EC, et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2009;53(2):281-287.

Gurer H, Ercal N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? *Free Radic Biol Med*. 2000;29(10):927-45. doi: 10.1016/s0891-5849(00)00413-5.

Hill MK. *Understanding Environmental Pollution*. 3ed. New York, EUA: Cambridge University Press; 2010; p. 585.

Hong H, Xu Y, Xu J, Zhang J, Xi Y, Pi H, et al. Cadmium exposure impairs pancreatic beta-cell function and exaggerates diabetes by disrupting lipid metabolism. *Environ. Int.* 2021;149:106406. doi:10.1016/j.envint.2021.106406.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. Inquérito Domiciliar sobre Comportamentos de Risco e Morbidade Referida de Doenças e Agravos não Transmissíveis: Brasil, 15 capitais e Distrito Federal 2002–2003. Rio de Janeiro: 2004. [acesso em jul 2017]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/inquerito/docs/completa.pdf>.

Jacquet A, Arnaud J, Hininger-Favier I, Hazane-Puch F, Couturier K, Lénon M, Lamarche F, Ounnas F, Fontaine E, Moulis JM, Demeilliers C. Impact of chronic and low cadmium exposure of rats: sex specific disruption of glucose metabolism. *Chemosphere.* 2018 Sep;207:764-773. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.05.099.

Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol.* 2014;7(2):60-72. doi:10.2478/intox-2014-0009.

Kira CS, Sakuma AM, De Capitani EM, de Freitas CU, Cardoso MRA, Gouveia N. Associated factors for higher lead and cadmium blood levels, and reference values derived from general population of São Paulo, Brazil. *Sci Total Environ.* 2016 Feb 1;543(Pt A):628-635. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.11.067.

Kolachi NF, Kazi TG, Afridi HI et al. Status of Toxic Metals in Biological Samples of Diabetic Mothers and Their Neonates. *Biol Trace Elem Res.* 2011;143, 196–212. doi:10.1007/s12011-010-8879-7.

Kuivenhoven M, Mason K. Arsenic Toxicity. [Updated 2022 Aug 3]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541125/>. Access: 28 April 2023.

Kuno R, Roquetti MH, Becker K, Seiwert M, Gouveia N. Reference values for lead, cadmium and mercury in the blood of adults from the metropolitan area of Sao Paulo, Brazil. *Int J Hyg Environ Health.* 2013 Jun;216(3):243-9. doi: 10.1016/j.ijheh.2012.05.010.

Lai PS, Christiani DC. Impact of occupational exposure on human microbiota. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2019;19(2):86-91. doi: 10.1097/ACI.0000000000000502.

Lopes ACBA, Martins AC, Urbano MR, Buzzo ML, Camargo AEI, Peixe TS, Aschner M, Barbosa F, Silva AMR, Paoliello MMB. Blood reference values for metals in a general adult population in southern Brazil. *Environ Res.* 2019;177:108646. doi: 10.1016/j.envres.2019.108646.

Mehrfar Y, Zamanian Z, Pirami H. Respiratory Exposure to Toxic Gases and Metal Fumes Produced by Welding Processes and Pulmonary Function Tests. *Int. J. Occup. Environ. Med.* 2019;10(1):40–49. doi: 10.15171/ijoem.2019.1540.

Mochizuki H. Arsenic Neurotoxicity in Humans. *Int J Mol Sci.* 2019;20(14):3418. doi: 10.3390/ijms20143418.

Nascimento LFC, Vieira LCPF, Mantovani KCC, Moreira DS. Air pollution and respiratory diseases: ecological time series. *Sao Paulo Med J.* 2016;134(4):315-21. doi: 10.1590/1516-3180.2015.0237250216.

Olympio KPK, Gonçalves C, Günther WMR, Bechara EJH. Neurotoxicity and aggressiveness triggered by low-level lead in children: a review. *Rev. Panam. Salud pública.* 2009;26, 266–275. <https://doi.org/10.1590/s1020-49892009000900011>.

Olympio KPK, Salles FJ, Akiba N, Luz MS. Biomarkers of Lead Exposure: Platforms and Analysis. In: Patel, V.B., Preedy, V.R., Rajendram, R. (eds) *Biomarkers in Toxicology. Biomarkers in Disease: Methods, Discoveries and Applications.* Springer, Cham. 2022. doi: 10.1007/978-3-030-87225-0\_31-1.

Pagliari BG, Moreira MFR, Mannarino CF, Santos GB. Risk of exposure to metals in soil contaminated by steel industry waste for a population in Volta Redonda, RJ. *Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*. 2021;16(4):1. doi:10.4136/ambi-agua.2696.

Paiva RFPS. Hospital morbidity due to diseases associated with air pollution in the city of Volta Redonda, Rio de Janeiro: cases and economic cost. *Cad. Saúde Colet.*, Rio de Janeiro. 2014;22(2):127-32. doi: 10.1590/1414-462X201400020004.

Peduzzi P, Concato J, Kemper E, Holford TR, Feinstein AR. A simulation study of the number of events per variable in logistic regression analysis. *J Clin Epidemiol*. 1996 ;49(12):1373-9. doi: 10.1016/s0895-4356(96)00236-3.

Pereira EC, Ferreira APSS, Sato APS, Fischer FM, Olympio KPK. Home-based outsourced informal work by children and adolescents impacts sleep and leisure—a preliminary study. *Environ. Sci. Pollut. Res*. 2020, 27:32754–32761. doi: 10.1007/s11356-020-09551-0.

Perini JA, Silva MCd, Correa LV, Silva YM, Borges RM, Moreira MdFR. Chronic Cadmium Exposure and Genetic Polymorphisms of MMP-2 and MMP-9 in a Population Exposed to Steel Slag in the State of Rio de Janeiro, Brazil: A Cross-Sectional Study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022; 19(22):15304. <https://doi.org/10.3390/ijerph192215304>.

Reis MM, Guimarães MT, Braga ALF, Martins LC, Pereira LAA. Air pollution and low birth weight in an industrialized city in Southeastern Brazil, 2003-2006. *Rev. Bras. Epidemiol*. 2017; 20(2):189-199. doi: 10.1590/1980-5497201700020001.

Riccelli MG, Goldoni M, Poli D, Mozzoni P, Cavallo D, Corradi M. Welding Fumes, a Risk Factor for Lung Diseases. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(7):2552. Published 2020 Apr 8. doi:10.3390/ijerph17072552.

Saha JC, Dikshit AK, Bandyopadhyay M. A Review of Arsenic Poisoning and its Effects on Human Health. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 1999; 29(3):281–313. doi: 10.1080/10643389991259227.

Salles FJ, Sato APS, Luz MS, Favaro DIT, Ferreira FJ, Paganini WS, Olympio KPK. The environmental impact of informal and home productive arrangement in the jewelry and fashion jewelry chain on sanitary sewer system. *Environ. Sci. Pollut. Reserch*. 2018;25:10701-10713. doi:10.1007/s11356-018-1357-z.

Salles FJ, Tavares DJB, Freire BM, Ferreira APSS, Handakas E, Batista BL, Olympio KPK. Home-based informal jewelry production increases exposure of working families to cadmium. *Sci. Total Environ*. 2021; 785:147297. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.147297.

Salles FJ, Leroux IN, Araújo ANM, Assunção NA, Luz MS, Veiga GRL, Fonseca FLA, Diaz-Quijano FA, Olympio KPK. Is chemical exposure present in informal work associated with Sars-Cov-2 infection? *Rev Saude Publica*. 2023a;57(Suppl 1):11s. doi:10.11606/s1518-8787.2023057004829.

Salles FJ, Frydas IS, Papaioannou N, Schultz DR, Luz MS, Rogero MM, Sarigiannis DA, Olympio KPK. Occupational exposure to potentially toxic elements alters gene expression profiles in formal and informal Brazilian workers. *Environ Res*. 2023b;236(Pt 2):116835. doi: 10.1016/j.envres.2023.116835.

Schulte PA, Iavicoli I, Fontana L, Leka S, Dollard MF, Salmen-Navarro A, Salles FJ, Olympio KPK, et al. Occupational Safety and Health Staging Framework for Decent Work. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022, 19, 10842. doi:10.3390/ijerph191710842.

Shiek SS, Sajai ST, Dsouza HS. Arsenic-induced toxicity and the ameliorative role of antioxidants and natural compounds. *J. Biochem. Mol. Toxicol*. 2023;37:e23281. doi:10.1002/jbt.23281.

Street RA, Goessler W, Naidoo S, Shezi B, Cele N, Rieger J, Ettinger K, Reddy T, Mathee A. Exposure to lead and other toxic metals from informal foundries producing cookware from scrap metal. *Environ Res*. 2020 Dec;191:109860. doi: 10.1016/j.envres.2020.109860.



Suttorp MM, Siegerink B, Jager KJ, Zoccali C, Dekker FW. Graphical presentation of confounding in directed acyclic graphs. *Nephrol Dial Transpl.* 2015;30, 1418–1423.

Textor J, van der Zander B, Gilthorpe MS, Liskiewicz M, Ellison GT. Robust causal inference using directed acyclic graphs: the R package 'dagitty'. *Int J Epidemiol.* 2016 Dec 1;45(6):1887-1894. doi: 10.1093/ije/dyw341.

WHO. World Health Organization. Lead Poisoning. 2022. Available in: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health#:~:text=There%20is%20no%20known%20safe,symptoms%20and%20effects%20also%20increase.>>. Access in: November 28, 2023.

Yang A, Liu S, Cheng N, Pu H, Dai M, Ding J, et al. Multiple metals exposure, elevated blood glucose and dysglycemia among Chinese occupational workers. *J Diabetes Complications.* 2017;31(1):101-107. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2016.07.022.

## MATERIAL SUPPLEMENTAR

Table S1. TQ ICP-MS Operating Conditions, Mass values defined in the quadrupoles and limit of detection (LD) for each element determined in blood samples.

Instrumental parameters		Element	Q1 mass (u)	Q3 mass (u)	Blood (LD)
RF Power	1550 W	Cr	52	68 ( <sup>52</sup> Cr <sup>16</sup> O <sup>+</sup> )	0.05
Nebulizer Gas Flow	1.04 L min <sup>-1</sup>	Mn	---	55	0.20
He flow gas	4.8 L min <sup>-1</sup>	Co	---	59	-
O2 flow gas	0.60 L min <sup>-1</sup>	Ni	---	60	1.45
Nebulizer	MicroMist U-Series 0.4 mL min <sup>-1</sup>	Cu	---	63	2.4
Spray Chamber	Glass Cyclonic spray chamber	Zn	---	66	7.55
Injector	2.5 mm id, Quartz	As	75	91 ( <sup>75</sup> As <sup>16</sup> O <sup>+</sup> )	0.05
Interface	High Sensitivity (3.5 mm insert), Ni cones	Cd	---	111	0.05
Peristaltic Pump	40 rpm	Sn	---	118	0.05
Spray chamber temp	2.7 °C	Sb	---	121	0.05
Dwell time	0.1 s	Hg	---	202	0.35
Number of Sweeps	10	Pb	---	208	0.30

Table S2. Geometric means (GM) and confidence intervals (CI 95%) of glucose, insulin, and lipid profile determined in blood of exposed and control participants from Volta Redonda, RJ. The p-value shows the comparison between groups by the Mann-Whitney test.

	Units	<u>Exposed group</u> GM (IC 95%)	<u>Control group</u> GM (IC 95%)	p-value
Insulin	$\mu\text{IU mL}^{-1}$	6.5 (5.3 - 7.9)	7.3 (6.0 - 8.8)	0.44
Glucose	$\text{mg dL}^{-1}$	82.4 (78.9 - 86.1)	84.6 (80.5 - 89.0)	0.25
Cholesterol	$\text{mg dL}^{-1}$	177.7 (163.8 - 192.8)	186.3 (172.4 - 201.4)	0.38
HDL cholesterol	$\text{mg dL}^{-1}$	44.2 (38.9 - 50.2)	45.1 (42.1 - 48.2)	0.86
Non-HDL cholesterol	$\text{mg dL}^{-1}$	130.4 (115.8 - 146.8)	139.6 (125.9 - 154.7)	0.44
LDL cholesterol	$\text{mg dL}^{-1}$	101.6 (89.2 - 115.7)	117.8 (106.3 - 130.5)	0.08
VLDL cholesterol	$\text{mg dL}^{-1}$	18.5 (13.9 - 24.6)	20.6 (17.4 - 24.4)	0.60
TG	$\text{mg dL}^{-1}$	118.4 (89.6 - 156.5)	102.3 (86.3 - 121.3)	0.52
HOMA-IR	-	1.3 (1.1 - 1.7)	1.5 (1.2 - 1.9)	0.51

Table S3. Associations (prevalence ratios [PR]) and their 95% confidence interval (95% CI) between blood lead (Pb), arsenic (As), and cadmium (Cd) concentrations and health outcomes in Volta Redonda population.

<b>Blood Pb (<math>\mu\text{g dL}^{-1}</math>)</b>	<b>PR (95% CI)</b>	<b>p-value</b>
Neurological Manifestation	1.01 (0.97 - 1.05)	0.65
Neurological disease	0.99 (0.91 - 1.08)	0.80
Headaches	1.04 (0.99 - 1.09)	0.15
Respiratory manifestations	0.98 (0.93 - 1.03)	0.39
<b>Blood Cd (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>PR (95% CI)</b>	<b>p-value</b>
Neurological Manifestation	0.94 (0.39 - 2.31)	0.90
Neurological disease	0.70 (0.08 - 5.91)	0.75
Headaches	1.22 (0.56 - 2.66)	0.62
Respiratory manifestations	3.32 (1.36 - 8.13)	0.009
<b>Blood As (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>PR (95% CI)</b>	<b>p-value</b>
Neurological Manifestation	1.30 (0.67 - 2.51)	0.44
Neurological disease	2.41 (1.11 - 5.23)	0.03
Headaches	1.13 (0.51 - 2.50)	0.76
Respiratory manifestations	1.56 (0.44 - 5.59)	0.49

### 4.3 MANUSCRITO III

#### **Occupational exposure to potentially toxic elements alters gene expression profiles in formal and informal Brazilian workers**

Fernanda Junqueira Salles<sup>1,8</sup>, Ilias S. Frydas<sup>2,3</sup>, Nafsika Papaioannou<sup>2,3</sup>, Dayna R. Schultz<sup>2,3</sup>, Maciel Santos Luz<sup>4</sup>, Marcelo Macedo Rogero<sup>5</sup>, Dimosthenis A. Sarigiannis<sup>2,3,6,7</sup>, Kelly Polido Kaneshiro Olympio<sup>1,8</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Health, School of Public Health, University of Sao Paulo, Av. Dr. Arnaldo, 715, Cerqueira Cesar, CEP 01246-904, São Paulo, SP, Brazil.

<sup>2</sup>Environmental Engineering Laboratory, Department of Chemical Engineering, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, 54124, Greece.

<sup>3</sup>HERACLES Research Center on the Exposome and Health, Center for Interdisciplinary Research and Innovation, Balkan Center, Bldg. B, 10th Km Thessaloniki-Thermi Road, 57001, Greece.

<sup>4</sup>Laboratory of Metallurgical Process, Institute for Technological Research, Sao Paulo, SP, Brazil.

<sup>5</sup>Nutritional Genomics and Inflammation Laboratory, Department of Nutrition, School of Public Health, University of Sao Paulo, 01246-904 São Paulo, Brazil.

<sup>6</sup>National Hellenic Research Foundation, Athens, Greece.

<sup>7</sup>Environmental Health Engineering, Science, Technology and Society Department, School for Advanced Study (IUSS), Pavia, Italy

<sup>8</sup>The Human Exposome Research Group/ Expossoma e Saúde do Trabalhador – eXsat, School of Public Health, University of Sao Paulo, Av. Dr. Arnaldo, 715, Cerqueira Cesar, CEP 01246-904, São Paulo, SP, Brazil.

#Corresponding Author: Fernanda J Salles. e-mail: fjsalles@usp.br (+55 12 991668161); Kelly PK Olympio. e-mail: kellypko@usp.br (+55 11 30617121)

Funding Source: This research was funded by “Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo,” FAPESP, grant number 2017/25424-9; 2020/00919-8; 2018/18391-0 and 2017/20752-8; 2014/50887-4”. KPKO is the recipient of a scholarship from “Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico” (CNPq #314637/2021-4).

Acknowledgment: The authors would like to thank the volunteers who agreed to participate in this investigation. The authors acknowledge the support of the Health Secretariat of Limeira city and the collaboration of all community health agents and coordinators of the basic health units from Limeira. The authors acknowledge the support of the Center for Worker Health and Human Ecology from the National School of Public Health Sergio Arouca, Oswaldo Cruz Foundation, and the members of the eXsat research group for the sample collection in the city of Volta Redonda.

**Abstract**

Chemical elements, such as toxic metals, have previously demonstrated their ability to alter gene expression in humans and other species. In this study, microarray analysis was used to compare the gene expression profiles of different occupational exposure populations: a) informal workers who perform soldering of jewelry inside their houses (n=22) in São Paulo (SP) State; b) formal workers from a steel company (n=10) in Rio de Janeiro (RJ) state, Brazil. Control participants were recruited from the same neighborhoods without occupational chemical exposure (n=19 in SP and n=8 in RJ). A total of 68 blood samples were collected and RNA was extracted and hybridized using an Agilent microarray platform. Data pre-processing, statistical and pathway analysis were performed using GeneSpring software. Different expression was detected by fold-change analysis resulting in 16 up- and 33 down-regulated genes in informal workers compared to the control group. Pathway analysis revealed genes enriched in MAPK, Toll-like receptor, and NF-kappa B signaling pathways, involved in inflammatory and immune responses. In formal workers, 20 up- and 50 down-regulated genes were found related to antimicrobial peptides, defensins, neutrophil degranulation, Fc-gamma receptor-dependent phagocytosis, and pathways associated with atherosclerosis development, which is one of the main factors involved in the progression of cardiovascular diseases. The gene IFI27 was the only one commonly differentially expressed between informal and formal workers and is known to be associated with various types of cancer. In conclusion, differences in gene expression related to occupational exposure are mainly associated with inflammation and immune response. Previous research has identified a link between inflammation and immune responses and the development of chronic diseases, suggesting that prolonged occupational exposures to potentially toxic elements in Brazilian metal workers could lead to negative health outcomes. Further analysis should be carried out to investigate direct effects and to validate causal associations.

**Keywords:** Occupational exposure; Toxic elements, Inflammation, Immune response.

## 1. INTRODUCTION

The transcriptome is the set of RNA molecules synthesized during the transcription process of an organism, organ, tissue, or cell and therefore directly reflects the gene expression of an organism, organ, tissue, or cell (Passos, 2014; Pećina-Šlaus and Pećina, 2015; De Bord et al., 2016). Hence, transcriptomics is the identification of total RNAs expressed in each organism, the study of interactions between these genes and the environment, characterization of polymorphisms associated with transcribed genes, recognition of markers for molecular diagnosis of diseases, and may indicate changes in the proteome and/or metabolome (Van Breda et al., 2015; DeBord et al., 2016). A common technology utilized in transcriptomics and more specifically in gene expression and the analysis of mRNAs is microarray technology. The latter is capable of simultaneously measuring thousands of genes and is an effective method to identify gene expression patterns. Microarray has been widely utilized in the biomedical field to study complex biological processes, including disease progression and cellular signaling pathways. They have also proven extremely useful in the field of environmental toxicology to determine subtle differences in gene expression profiles associated with specific environmental exposure scenarios (Korashy et al., 2017; Espín-Pérez et al., 2018; Papaioannou et al., 2021).

Some chemical elements found in the environment have already demonstrated their ability to change the transcriptome, among them benzene, dioxins, phthalates, polycyclic aromatic hydrocarbons, diesel, metals, metallic fumes, and tobacco (Smith et al., 2005; van Leeuwen et al., 2006; Wild et al., 2013; Korashy et al., 2017; Papaioannou et al., 2021). According to Idaghdour et al. (2008), 30% of the transcriptome can be altered by different environmental conditions, which can be represented by a combination of biotic, abiotic, and cultural factors. Whereas toxic elements can effectively cause gene expression alterations, and thus, studying molecular responses on the blood transcriptome in exposed human populations

might elucidate in more detail the biological processes associated with these chemicals (Wild et al., 2013; Espín-Pérez et al., 2018; Papaioannou et al., 2021).

Among the sources of exposure that humans are subjected to during life, a very important one is occupational exposure, especially considering that a high portion of adult life is spent in working hours. Whole blood transcriptomic analysis performed in adults exposed to metal fumes in a U.S. cohort study, identified differences in the expression of genes related to inflammatory responses, oxidative stress, cell cycle, and apoptosis (Wang et al., 2005). The working population can be occupationally exposed to hazardous chemicals that cause toxicity, and dysregulation in gene expression which leads to negative health outcomes (Pronk et al., 2022) and it is therefore pertinent to identify the hazards associated with certain occupations in order to reduce the country-wide burden of disease and enforce safer workplace practices. The Global Burden of Disease (GBD) estimates that environmental and occupational risks in Brazil are responsible for 1.39% of total deaths by chronic respiratory diseases and for 3.57% of deaths by cardiovascular diseases, being that the main causes of death in the country, with stroke and ischemic heart disease accounting for over 20% of deaths.

The city of Limeira in Brazil is known as the capital of plated jewelry. The production of jewelry and fashion jewelry in the municipality is characterized by a high level of informality and outsourcing in the production stages, and thus, a significant percentage of industrial work is being replaced by improvised work in homes (Ferreira et al., 2019; Barrozo et al., 2022). Metal parts are hand-crafted manipulating manually a welding torch or acids without adequate occupational hygiene and the use of protective equipment (Lacorte et al., 2013; Ferreira et al., 2019; Barrozo et al., 2022). The city of Volta Redonda is the home of one of the largest steel companies in Latin America, which produces approximately 5.8 million tons of steel annually (CSN, 2017). The main production units are the coke oven, sintering, steelworks, continuous casting, hot and cold rolling, zinc plating, chroming, and electrolytic tinning. These processes

involve activities known to impact the environment and the local population health due to the use and disposal of chemical compounds such as polycyclic aromatic hydrocarbons, potentially toxic elements, and solvents (Chen et al., 2015).

The aim of this study is to compare the gene expression profiles of different occupational exposure populations: informal workers from Limeira city in São Paulo state (SP) and formal workers from Volta Redonda city in Rio de Janeiro State (RJ) state, Brazil. To do so, blood samples were collected from volunteers and subjected to microarray analysis and then analysed to identify trends and differences. Human transcriptomic analysis methodologies are rarely used in Brazil and are important to deepen the knowledge about the effects caused by occupational exposure to potentially toxic elements.

## 2. METHODOLOGY

The present study is part of a larger research investigation entitled, “The ‘omics’ era applied to society: the impact of formal and informal labor on the exposome of workers with an emphasis on metabolomics, transcriptomics and lipidomics” by the Human Exposome Research Group of the School of Public Health, University of São Paulo. All individuals participating in this study were volunteers and reside in two Brazilian cities. Ethical approval was obtained from the Institutional Review Board of the School of Public Health of the University of Sao Paulo (Protocol N° 32580820.8.0000.5421).

### 2.1 Informal Work Population

The first population who participated in this study resides in Limeira, State of São Paulo. The participants were recruited and selected with the assistance of the Health Secretariat of Limeira city and Family Health Care Centers of the Brazilian Public Health System. The local

community health workers indicated possible participants and helped in researcher communication. All selected informal workers sold jewelry at home using torches or acids.

## 2.2 Formal Work Population

The second population who participated in this study resides in Volta Redonda, State of Rio de Janeiro. The participants from this population were selected by snowball technique where an initial number of subjects from the target population were selected and these subjects then identified other potential participants. Steelworkers included in this study carry out activities in different sectors of the company, such as coke plant, galvanization, chrome plating, and maintenance (90% of them perform soldering, the only one who did not carry out this activity worked in the coke plant). The average number of years working in the steel industry was 10 (minimum: 2 years, maximum: 22 years).

## 2.3 Study selection

To control the genetic variability that exists in the transcriptome and ensure the reliability of results, certain criteria were adopted for study population selection. These criteria were defined based on the existing transcriptome literature, which selects healthy individuals, since the effects of age, diet, disease, and drug consumption may alter gene expression (Whitney et al., 2003; Bahr et al., 2013; McHale et al., 2013; Vrijheid et al., 2014). Exclusion criteria were a) aged under 18 years and over 50 years; b) athletes; c) smokers; d) pregnant women; e) women with menopausal symptoms; f) diagnosed with cancer and/or autoimmune disease; g) use of anti-inflammatory drugs in the last 30 days before recruitment.

The exposed group was composed of formal and informal workers from each city while the control group was recruited from the same neighborhoods as the exposed participants (at least four houses away) and of which none worked in activities with known chemical exposures.



Individuals who were omitted through the exclusion criteria and who agreed to sign the consent form were included in this study.

In addition, a specific criterion was considered for each of the populations. For Limeira, the population was composed exclusively of females since most informal workers were women who carry out soldering activities at home while also undertaking domestic duties and childcare responsibilities. In the city of Volta Redonda, the population profile was the opposite, since most formal steelworkers were men; therefore, only male individuals were included in this sample.

Therefore, in Limeira, the participants (all female, n=41) were divided into the exposed group (n=22) composed of informal outsourced workers who perform soldering of jewelry and fashion jewelry inside their houses; and the control group (n=19). In Volta Redonda, participants (all male, n=18) were divided into an exposed group (n=10) composed of formal steelworkers and a control group (n=8).

#### 2.4 Sample collection

Blood samples (2.5 mL) were collected in Paxgene Blood RNA tubes (PreAnalytix, Qiagen) for transcriptomics analysis. Additional 6 mL of whole blood was collected in heparinized tubes free of trace elements (Vacutainer®) for potentially toxic elements (PTEs) determination. In Limeira, sample collection was carried out between October and November 2019 (n= 41), whereas, in Volta Redonda, sample collection occurred between November and December 2021 (n=18). All participants were instructed to refrain from any type of physical exercise 48h before the blood collection and to avoid consumption of any type of alcoholic beverage for 1 week prior to blood collection. The research team provided the last meal of the day before the collection to standardize the dietary influence on the findings. Blood was drawn by qualified nurses and transported on ice to the Laboratory of Human Exposure to

Environmental Contaminants (LEHCA) of the University of São Paulo, Brazil, where the samples were frozen and stored at -80 °C until downstream analysis.

All participants completed questionnaires about demographic characteristics (education level, ethnicity, and length of time residing in the region) and lifestyle habits (yes/no) including alcoholic consumption, physical activity level, and use of medications. Body mass index (BMI) values were calculated using height and weight measured on the day of sample collection. The BMI classification follows those laid out by the World Health Organization (WHO, 2000). Glucose, insulin, and lipid profile exams were performed on all participants. The HOMA-IR value, a method used to estimate insulin resistance, was also calculated based on the measured glucose and insulin values. HOMA-IR values above 2.71 indicated insulin resistance (Geloneze et al., 2006; Geloneze et al., 2009). Additionally, plasma samples collected by the research group were used to quantify high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) by immunoturbidimetry.

## 2.5 Potentially Toxic Elements determination

Levels of PTEs in blood were determined by Triple Quadrupole Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (iCAP TQ ICP-MS, Thermo Fisher Scientific™, Bremen, Germany) at the Institute for Technological Research. Blood aliquots (200 µL) were diluted (1:50) with 1 mL of internal standard solution and then made up to 10 mL with a diluent of 0.01% (w/v) of Triton X-100 and 0.5% (v/v) of doubled distilled HNO<sub>3</sub> (Merck®). Quality control of the analytical results was performed with the use of calibration curves with mono-elemental standard solutions (Ga, Ir, Y, and Tb), blank, and the certified reference material (Seronom® TE Whole Blood Level II - Stasjonsveien) for blood. All dilutions and blanks analyses were performed in triplicate (n = 3).

## 2.6 Microarray analysis

Blood samples were transported by a certified biomaterial transportation company (AmerisourceBergen Corporation, World Courier) on dry ice at -80 °C to Thessaloniki, Greece. Sample preparation, RNA isolation, and microarray analysis were performed at the HERACLES Research Center (Health and Exposome Research: Assessing Contributors to Lifetime Exposure and State of Health) at the Center for Interdisciplinary Research and Innovation (KEDEK) in Greece.

According to the manufacturer's instructions, RNA was extracted with a Paxgene Blood RNA kit (PreAnalytiX, 2015). Briefly, 2.5 mL of sample was incubated for 2 h at room temperature in PAXgene® Blood RNA tubes and centrifuged to obtain cell pellets that were incubated with a binding buffer and proteinase K. The resultant lysate was centrifuged in a PAXgene® Shredder spin column, and the supernatant was mixed with 100% ethanol. A DNase mix was added to remove any DNA fragments. The purified RNA was eluted with elution buffer and denatured by incubation at 65 °C for 5 min. RNA concentration and quality were analyzed by spectrophotometric measurement (A260/A280 ratios) using a Nanodrop ND-1000 instrument (Marshall Scientific, Hampton, NH, USA). All analyzed samples were of > 1.8 A260/280 ratios. Samples with low RNA Integrity Number (RIN) values or low RNA concentration after extraction were appropriately excluded to ensure reliable data (n = 8 samples from RJ, n = 1 sample from SP). The final RNA samples were stored at -20 °C until microarray analysis.

The isolated RNA was reversed transcribed and labeled with Cy3 in a cDNA synthesis reaction following the “Low input quick amp labeling protocol G4140-90040 version 6.5” (Agilent, 2015). Agilent RNA Spike-In mix was added to 200 ng of total RNA used for the reactions to monitor both labeling reactions and microarray performance. After the first step of sample purification, dye incorporation, and cRNA yield were checked with Nanodrop ND-1000

(Marshall Scientific, Hampton, NH, USA). Then, samples were hybridized on the SurePrint G3 Human Gene Expression 8x60K v2 Microarray ID:039494 (Agilent Technologies, Inc., CA). After hybridization and post-hybridization washes, microarrays were scanned for the quantification of signals in a SureScan Microarray Scanner (Agilent Technologies, Inc., CA). QC reports were used to evaluate microarray performance. Raw data were extracted using Feature Extraction software (version 10.7.1.1; Agilent Technologies) and feature extraction files were imported into Genespring GX 13.1.1 software (Agilent Technologies, Inc., CA) for further analysis. The microarray quality parameters are presented in Table S1 of the Supplementary Material.

## 2.7 Data processing and statistical analysis

Statistical analysis of PTEs results in blood was performed using STATA 13.1 software (STATA Corporation, TX, USA). Elements, where blood concentrations were below the limit of detection (LD), were assigned a value of  $LD/\sqrt{2}$  (Crogham and Egeghy, 2003). Differences in blood concentrations between the Exposed and Control groups were tested by the Mann-Whitney test (non-parametric).

Transcriptomic data pre-processing included filtering of compromised and non-detected probes and quantile normalization. The resulting entity list was further filtered to remove control and alignment probes from the analysis as well as probes with less than a 50% coefficient of variation. Statistical evaluation included a fold change analysis (FC) to identify genes with different expression ratios in terms of up- or down-regulation between exposed and control conditions ( $FC > 2$ ). Hierarchical clustering analysis was performed to visualize differences between samples based on their gene expression profiles. Principal component analysis (PCA) was employed for visual exploration providing information on the overall structure of the analyzed dataset, sample discrimination, and analytical performance.

Differentially expressed genes (DEGs) were mapped to available pathways from WikiPathways and KEGG databases. Gene ontology (GO) analysis was performed on PANTHER 14.1 (Mi et al., 2019). A network analysis was performed on NetworkAnalyst 3.0 online platform to investigate Gene-Disease Associations (Zhou et al., 2019).

### 3. RESULTS

#### 3.1 Participant characteristics

Participants from Limeira, Sao Paulo State (SP), Brazil (n=41) were all females (mean age:  $33.5 \pm 9.2$  years; mean BMI: 27.65) of these, less than 50% had completed high school, more than 36% considered themselves to be white and more than 50% lived in the region between 10 and 20 years. Participants from Volta Redonda, Rio de Janeiro State (RJ), Brazil (n=18) were all males (mean age:  $31.4 \pm 8.9$  years; mean BMI: 25.76) of these, more than 60% had completed high school, more than 50% considered themselves to be of mixed race and more than 70% lived in the region for more than 20 years. Insulin, glucose, lipid profile, and hs-CRP levels were not significantly different between exposed and control groups for both populations. Demographic variables, such as ethnicity and educational level, also showed no significant differences. A detailed volunteer profile is presented in the Supplementary material (Table S2 for SP and Table S3 for RJ).

The concentration of 11 elements in the blood was determined for arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr), copper (Cu), mercury (Hg), manganese (Mn), nickel (Ni), lead (Pb), strontium (Sb), tin (Sn), and zinc (Zn). The geometric mean (GM), the 95% confidence interval (CI), and the 95<sup>th</sup> percentile of each of the PTEs in each population are shown in Table 1. Blood Cd and Pb concentrations were significantly higher in the exposed group than in the control group from the city of Limeira. In the city of Volta Redonda, no statistically significant

difference was observed between the groups. The contribution of each PTE in each study group is shown in the Supplementary material (Figure S1).

### 3.2 Transcriptomics results of informal workers in Limeira

Differential gene expression analysis revealed 16 up- and 33 down-regulated genes (FC > 2) in the informal workers compared to controls. Figure 1 shows the expression of DEGs in each sample; the resulting list of pathways (p-value < 0.05) and their functions are presented in Table 2.

The results indicate that many of the enriched pathways associated with differentially expressed genes are related to the inflammation process and immune response. Some of the significant pathways (p<0.05) are involved in MAPK signaling and cascade or are mediated by MAP kinases, in addition, there are significant chemokine, Toll-like receptor, and NF-kappa B signaling pathways.

Table 1. Geometric mean (GM), confidence interval (CI 95%), and 95<sup>th</sup> percentile of potentially toxic elements (PTEs; given in  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) detected in the blood, of participants in Exposed and Control groups from Limeira and Volta Redonda. The p-value is provided for comparisons between exposure groups from the respective cities.

PTEs	<u>LIMEIRA</u>					<u>VOLTA REDONDA</u>				
	<u>Exposed</u>		<u>Control</u>			<u>Exposed</u>		<u>Control</u>		
	95 <sup>th</sup> percentile	GM (CI 95%)	95 <sup>th</sup> percentile	GM (CI 95%)	p-value	95 <sup>th</sup> percentile	GM (CI 95%)	95 <sup>th</sup> percentile	GM (CI 95%)	p-value
<b>As</b>	1.11	0.45 (0.36 - 0.57)	7.45	0.37 (0.24 - 0.56)	0.17	1.47	0.74 (0.53 - 1.02)	2.45	0.92 (0.57 - 1.48)	0.37
<b>Mn</b>	17.7	7.57 (6.22-9.20)	13.4	7.88 (6.70 - 9.28)	0.52	14.63	9.72 (7.98 - 11.82)	14.77	9.88 (7.84 - 12.45)	0.91
<b>Ni</b>	6.48	0.81 (0.27-2.42)	5.75	1.29 (0.42 - 3.93)	0.35	-	-	-	-	-
<b>Cd</b>	6.27	0.36 (0.20 - 0.66)	0.53	0.04 (0.01 - 0.09)	<0.01	1.03	0.21 (0.05 - 0.90)	1.70	0.19 (0.03 - 1.11)	0.89
<b>Cr</b>	6.09	1.05 (0.75 - 1.47)	6.96	1.22 (0.90 - 1.65)	0.21	-	-	-	-	-
<b>Sb</b>	2.96	2.14 (1.98 - 2.32)	2.93	2.10 (1.94 - 2.28)	0.62	3.21	0.97 (0.68 - 1.39)	1.88	1.04 (0.75 - 1.45)	0.75
<b>Sn</b>	1.32	0.80 (0.65 - 0.98)	1.42	0.85 (0.66 - 1.08)	0.72	12.61	6.29 (4.85 - 8.15)	9.89	6.52 (5.17 - 8.21)	0.96
<b>Cu</b>	1,818	1,163 (1073-1261)	1,744	1,181 (1088-1283)	0.61	1,013	811.17 (732.56-898.21)	1,028	785.19 (677.06-910.59)	0.71
<b>Zn</b>	7,076	4228 (3721-4804)	6,774	4737 (4306-5211)	0.92	6,778	5,584 (4984-6255)	8,029	6,444 (5719-7260)	0.06
<b>Pb*</b>	5.01	1.37 (0.98 - 1.93)	2.03	0.86 (0.69 - 1.07)	0.02	3.60	2.17 (1.75 - 2.69)	4.03	1.97 (1.45 - 2.68)	0.68
<b>Hg</b>	2.69	1.11 (0.93 - 1.33)	6.06	1.02 (0.79 - 1.33)	0.29	2.42	0.38 (0.20 - 0.71)	5.30	0.55 (0.11 - 2.83)	0.16

\* Pb value given in  $\mu\text{g dL}^{-1}$

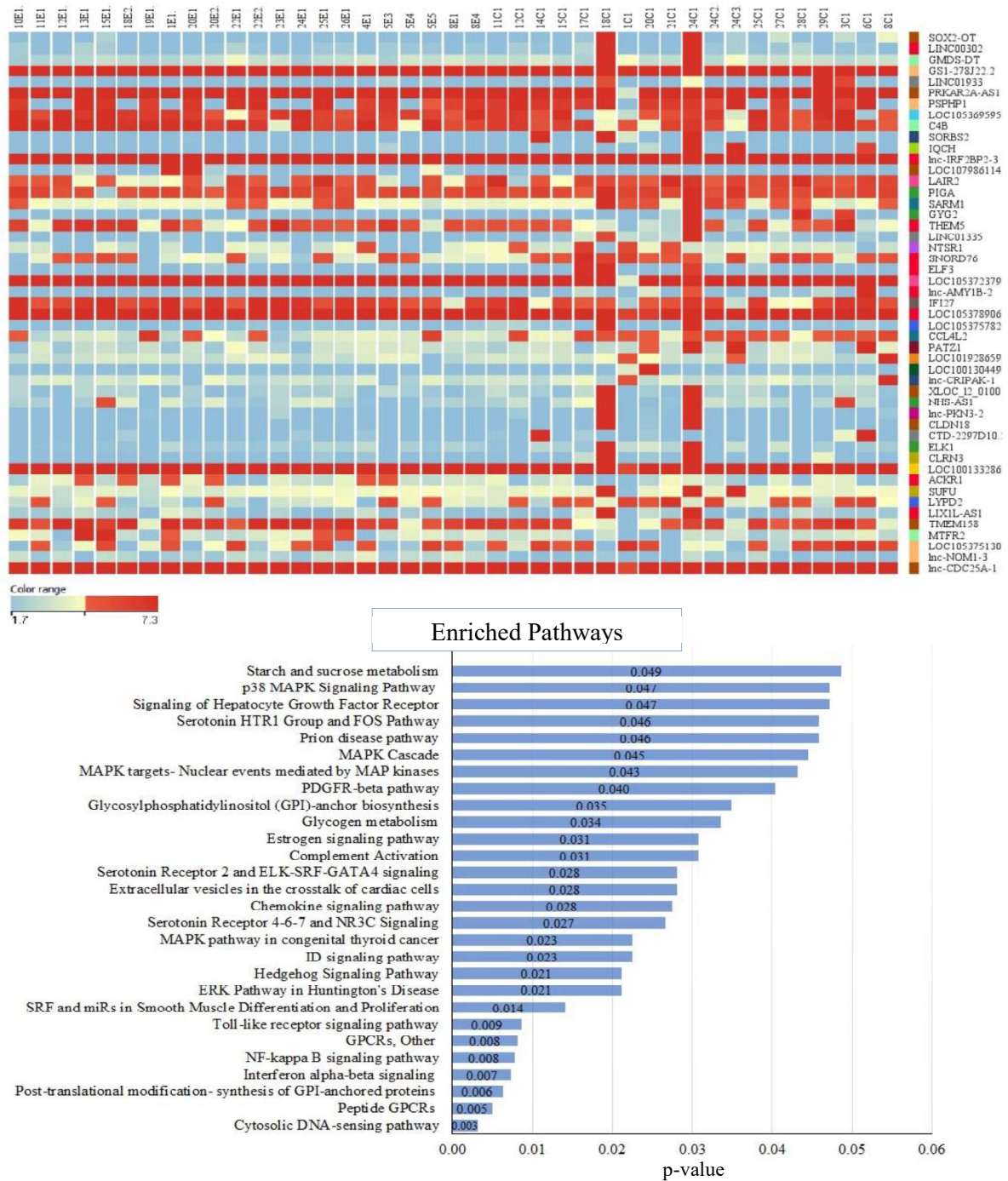


Figure 1. Top: Heat map of the 49 significantly differentially expressed genes (DEGs) in informal workers compared to controls from Limeira where columns represent samples and rows represent genes and red depicts upregulation while blue depicts downregulation. Bottom: Enriched biological pathways and respective p-values associated with the perturbed DEGs.



Table 2. Gene Symbol, name, direction, and function of the 49 differentially expressed genes detected between control and exposed groups from Limeira.

Gene Symbol	Gene Name	Regulation	Function
CCL4	C-C motif chemokine ligand 4 like 2	down	Chemokine receptor binding, signaling receptor activity, cytokine activity.
ELK	ETS transcription factor ELK1	down	RNA polymerase II transcription regulatory region sequence-specific DNA binding.
NTSR1	Neurotensin receptor 1	down	Neuropeptide binding and receptor activity.
ELF3	E74 like ETS transcription factor 3	down	DNA transcription activator, RNA polymerase II-specific and binding.
SUFU	Negative regulator of hedgehog signaling	down	Transcription factor binding.
PIGA	Phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class A	down	Acetylglucosaminyltransferase activity.
THEM5	Thioesterase superfamily member 5	up	Thioester hydrolase activity.
IFI27	Interferon alpha inducible protein 27	up	Interferon alpha-inducible protein 27.
PATZ1	POZ/BTB and AT hook containing zinc finger 1	down	Regulation of cytokine production and immune system, negative regulation of transcription by RNA polymerase II.
MTRF2	Mitochondrial fission regulator 2	up	Unknown.
CLDN18	Claudin 18	down	Cell adhesion, tight junction assembly.
C4B	Complement C4B	up	Carbohydrate, immune complex, and complement binding.
SORBS2	Sorbin and SH3 domain containing 2	down	Binding, cytoskeletal anchor activity.
IQCH	IQ motif containing H	down	Molecular function. Spermatogenesis.
LAIR2	Leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 2	down	Protein binding, encodes a protein member of the immunoglobulin superfamily.
SARM1	Sterile alpha and TIR motif containing 1	down	Protein binding, NAD <sup>+</sup> nucleosidase activity, cyclic ADP-ribose generating.
GYG2	Glycogenin 2	down	Glycosyltransferase activity.
CLRN3	Clarin 3	down	Protein binding.
ACKR1	Atypical chemokine receptor 1	up	Chemokine binding, signaling receptor.
LYPD2	LY6/PLAUR domain containing 2	down	Unknown.
TMEM158	Transmembrane protein 158	up	Receptor for brain injury-derived neurotrophic peptide (BINP).
SNORD76	Small nucleolar RNA, C/D box 76	down	Non-coding
NHS-AS1	NHS antisense RNA 1	down	Non-coding
LIX1L-AS1	LIX1L antisense RNA 1	down	Non-coding
LINC01335	Long intergenic non-protein coding	down	Non-coding
lnc-IRF2BP2-3	lnc-IRF2BP2-3:1	up	Non-coding
lnc-AMY1B-2	lnc-AMY1B-2:1	down	Non-coding
lnc-CRIPAK-1	lnc-CRIPAK-1:4	down	Non-coding
lnc-PKN3-2	lnc-PKN3-2:1	down	Non-coding
lnc-NOM1-3	lnc-NOM1-3:1	up	Non-coding
lnc-CDC25A-1	lnc-CDC25A-1:1	up	Non-coding
SOX2-OT	SOX2 overlapping transcript	down	Non-coding
LINC00302	Long intergenic non-protein coding	down	Non-coding
GMDS-DT	GMDS divergent transcript	down	Non-coding
LINC01933	Long intergenic non-protein coding	down	Non-coding
PRKAR2A-AS1	PRKAR2A antisense RNA 1	up	Non-coding

Differentially expressed genes classified as uncharacterized were not included in this table.

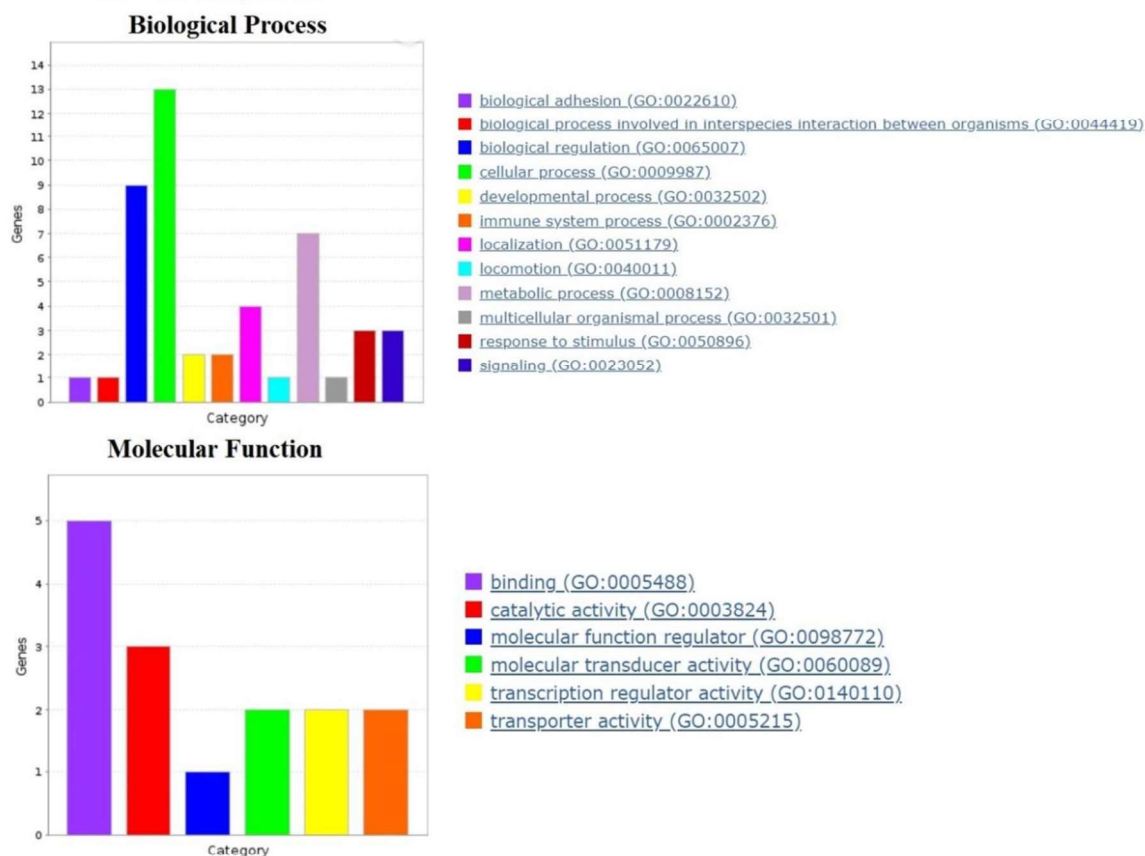


Figure 2. Informal occupational exposure of jewelry welders affects mostly biological processes related to cellular and metabolic processes and biological regulation, and molecular functions related to binding and catalytic activity, according to the performed GO analysis data using PANTHER14.1

Functional classification was performed using gene ontology (GO) analysis on the DEGs to investigate results associated with molecular functions and biological processes in informal work-related occupational exposure (Figure 2). The top GO terms identified for biological processes were “cellular processes”, “biological regulation”, and “metabolic processes”. Regarding molecular functions, in the top GO terms were “binding” and “catalytic activity”.

The gene-disease network showed one of the DEGs, the CCL4, is associated with the inflammation process, atherosclerosis, and myocardial ischemia, among other outcomes (Figure 3).

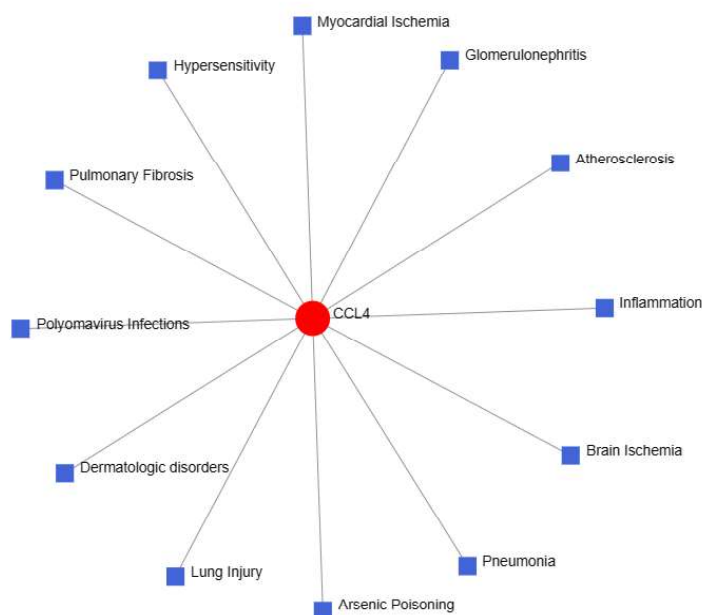


Figure 3. Gene-disease network from Limeira population. Red circle nodes represent the CCL4 gene, and blue squares represent associated diseases.

### 3.3 Transcriptomics results of formal workers in Volta Redonda

Differential gene expression analysis revealed 20 up- and 50 down-regulated genes in the formal workers compared to controls ( $FC > 2$ ). Figure 4 depicts the status of gene expression of each of the detected DEGs across samples and the resulting list of enriched pathways ( $p$ -value  $< 0.05$ ) found in association with formal occupational exposure. The list of all genes and their functions is presented in Table 3.

The results indicate that many of the enriched pathways associated with the perturbed genes are involved in immune response and with the process of atherosclerosis development. Antimicrobial peptides, defensins, neutrophil degranulation, and phagocytosis dependent on the Fc gamma receptor pathways play a defensive role in the immune system. Whilst, scavenger receptor pathways, pathways of cell surface interactions in the vessel wall, and the pathway of smooth muscle cell proliferation and differentiation can be related to atherosclerosis.

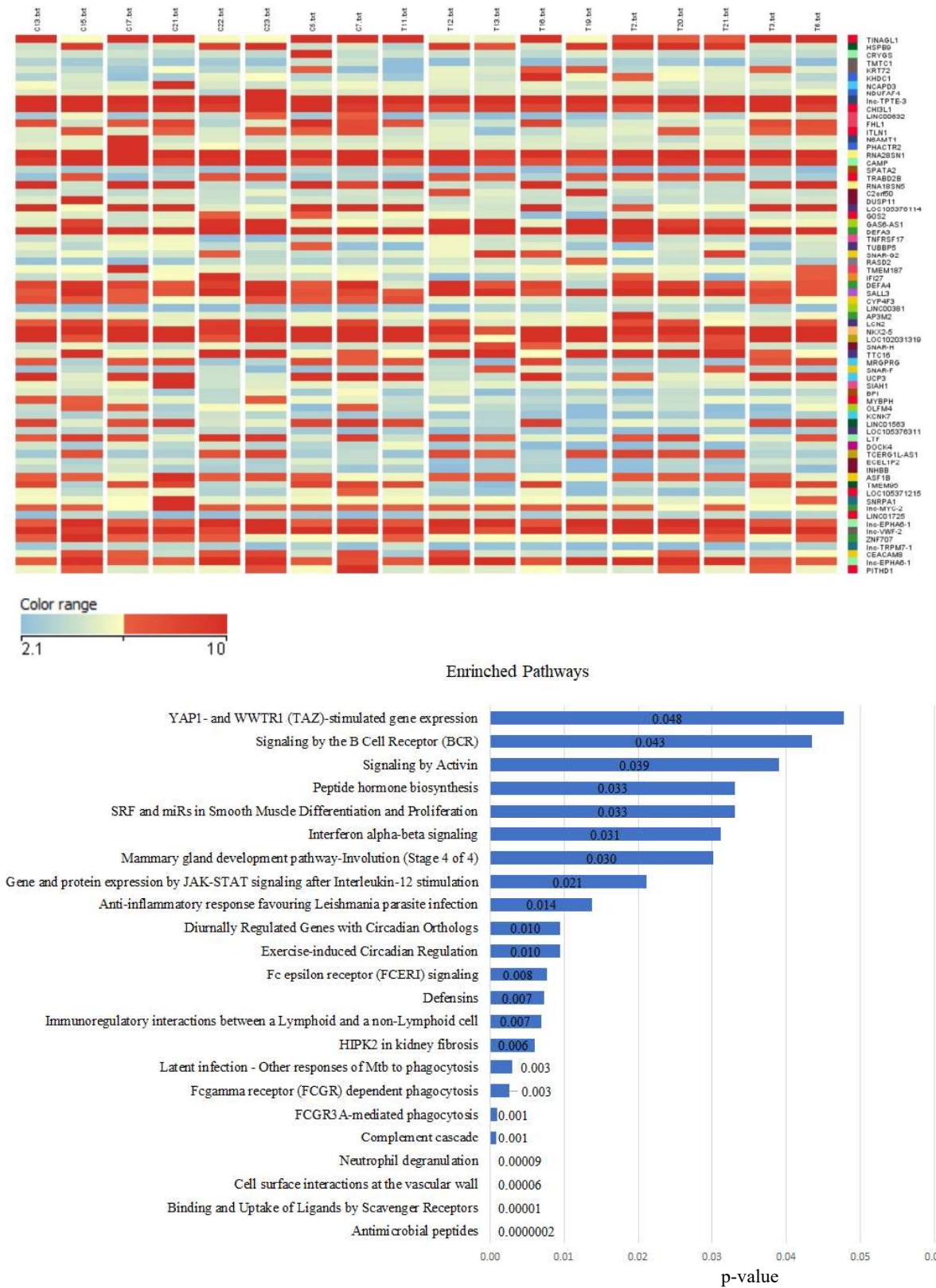


Figure 4. Top: Heat map of the 70 significantly differentially expressed genes (DEGs) in formal workers compared to controls from Volta Redonda where columns represent samples and rows represent genes and red depicts upregulation while blue depicts downregulation. Bottom: Enriched biological pathways and respective p-values associated with the perturbed DEGs.

Table 3. Gene Symbol, name, direction, and function of the 70 differentially expressed genes detected between control and exposed groups from Volta Redonda.

Gene Symbol	Gene Name	Regulation	Function
TINAGL1	Tubulointerstitial nephritis antigen like 1	down	Enables extracellular matrix structural constituent, laminin, and protein binding.
HSPB9	Heat shock protein family B (small) member 9	up	Protein binding.
CRYGS	Crystallin gamma S	down	Protein binding enables the structural constituents of the eye lens.
TMTC1	Transmembrane O-mannosyltransferase targeting cadherins 1	down	Mannosyltransferase activity.
KRT72	Keratin 72	up	Structural constituents of skin epidermis, protein binding, and molecular function.
KHDC1	KH domain containing 1	up	RNA binding. Predicted to be involved in the apoptotic process.
NCAPD3	Non-SMC condensin II complex subunit D3	down	Histone binding and protein binding.
NDUFAF4	NADH:ubiquinone oxidoreductase complex assembly factor 4	down	Protein binding. Involved in the mitochondrial respiratory chain.
CH3L1	Chitinase 3 like 1	down	Chitin and carbohydrate binding. Chitinase activity.
FHL1	Four and a half LIM domains 1	down	Metal ion binding, molecular function, protein and transmembrane transporter binding.
ITLN1	Intelectin 1	down	Calcium ion binding, protein, and oligosaccharide binding.
N6AMT1	N-6 adenine-specific DNA methyltransferase 1	down	Nucleic acid and protein binding. Protein methyltransferase activity.
PHACTR2	Phosphatase and actin regulator 2	down	Actin binding. Protein phosphatase inhibitor activity.
CAMP	Cathelicidin antimicrobial peptide	down	Encodes a member of antimicrobial peptide family. Lipopolysaccharide binding.
SPATA2	Spermatogenesis associated 2	down	Protein-coding complex binding. Signaling receptor complex adaptor activity. Ubiquitin-specific protease binding.
TRABD2B	TraB domain containing 2B	up	Wnt-protein binding. Metal ion binding. Metalloendopeptidase activity.
C2orf50	Chromosome 2 open reading frame 50	up	Protein binding.
DUSP11	Dual specificity phosphatase 11	down	RNA binding. Phosphatase activity.
G0S2	G0/G1 switch 2	down	Molecular function and protein binding. Extrinsic apoptotic signaling pathway.
DEFA3	Defensin alpha 3	down	Molecular function. Protein homodimerization activity. Host defense.
DEFA4	Defensin alpha 4	down	Molecular function. Protein homodimerization activity. Host defense.
TNFRSF17	TNF receptor superfamily member 17	up	Protein binding. Signaling receptor activity. Encode a protein member of the TNF-receptor superfamily.
RASD2	RASD family member 2	up	G-protein beta-subunit binding. GTPase activity.
TMEM187	Transmembrane protein 187	down	Molecular function and protein binding.
IFI27	Interferon alpha inducible protein 27	down	Interferon alpha-inducible protein 27
SALL3	Spalt like transcription factor 3	up	DNA-binding transcription factor activity. DNA binding to specific regulatory region by RNA polymerase II. Metal ion binding.

Gene Symbol	Gene Name	Regulation	Function
AP3M2	Adaptor related protein complex 3 subunit mu 2	up	Protein trafficking to lysosomes and specialized organelles.
LCN2	Lipocalin 2	down	Enterobactin binding. Iron ion binding. Protein and small molecule binding.
NKX2-5	NK2 homeobox 5	down	DNA-binding transcription factor activity. DNA binding to specific regulatory region by RNA polymerase II. Chromatin binding. Protein homodimerization activity.
TTC16	Tetratricopeptide repeat domain 16	up	Unknown.
MRGPRG	MAS related GPR family member G	down	G protein-coupled receptor activity.
UCP3	Uncoupling protein 3	down	Oxidative phosphorylation uncoupler activity. Protein binding.
SIAH1	Siah E3 ubiquitin protein ligase 1	down	Protein binding. Ubiquitin-conjugating enzyme binding. Zinc ion binding. Ubiquitin-protein transferase and ligase activity.
BPI	Bactericidal permeability increasing protein	down	Lipopolysaccharide binding. Encodes a protein associated with human neutrophil granules with antimicrobial activity.
MYBPH	Myosin binding protein H	down	Protein binding. Enables structural constituent of muscle.
OLFM4	Olfactomedin 4	down	Cadherin and protein binding. Enables structural molecule activity.
KCNK7	Potassium two pore domain channel subfamily K member 7	down	Potassium channel and potassium ion leak channel activity.
LTF	Lactotransferrin	down	DNA, protein, lipopolysaccharide, heparin, and iron ion binding. Cysteine-type endopeptidase inhibitor activity. Protein serine/threonine kinase activator activity. Serine-type endopeptidase activity.
DOCK4	Dedicator of cytokinesis 4	down	PDZ and SH3 domain binding. Receptor tyrosine kinase and small GTPase binding. Guanyl-nucleotide exchange factor activity. GTPase activator activity.
INHBB	Inhibin subunit beta B	down	Protein and host cell surface receptor binding. Cytokine, growth factor and hormone activity. Protein homodimerization activity.
ASF1B	Anti-silencing function 1B histone chaperone	down	Histone and protein binding. Histone chaperone activity.
TMEM95	Transmembrane protein 95	down	Protein binding.
SNRPA1	Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide A'	down	RNA and protein binding.
CEACAM8	CEA cell adhesion molecule 8	down	Protein binding. Protein heterodimerization activity
PITHD1	PITH domain containing 1	down	Positive regulation of megakaryocyte differentiation and transcription, DNA-templated.
ZNF707	Zinc finger protein 707	down	Metal ion and protein binding. DNA-binding transcription factor activity. DNA binding to specific regulatory region by RNA polymerase II.
RNA28SN1	RNA, 28S ribosomal N1	down	rRNA.

Gene Symbol	Gene Name	Regulation	Function
GAS6-AS1	GAS6 antisense RNA 1	up	Non-coding.
SNAR-G2	Small NF90 (ILF3) associated RNA G2	up	Non-coding.
SNAR-F	Small NF90 (ILF3) associated RNA F	up	Non-coding.
SNAR-H	Small NF90 (ILF3) associated RNA H	up	Non-coding.
LINC01725	Long intergenic non-protein coding.	up	Non-coding.
LINC00381	Long intergenic non-protein coding.	up	Non-coding.
LINC00632	Long intergenic non-protein coding	down	Non-coding.
LINC01563	Long intergenic non-protein coding.	down	Non-coding.
TCERGIL-AS1	TCERG1L antisense RNA 1	up	Non-coding.
lnc-EPHA6-1	lnc-EPHA6-1	up	Non-coding.
lnc-VWF-2	lnc-VWF-2	down	Non-coding.
lnc-MYC-2	lnc-MYC-2	down	Non-coding.
lnc-TRPM7-1	lnc-TRPM7-1	down	Non-coding.
lnc-TPTE-3	lnc-TPTE-3	up	Non-coding.
lnc-EPHA6-1	lnc-EPHA6-1	up	Non-coding.

Differentially expressed genes classified as uncharacterized were not included in this table.

Functional classification was performed using gene ontology (GO) analysis on the DEGs to investigate results associated with molecular functions and biological processes in formal work-related occupational exposure (Figure 5). The top GO terms identified for biological processes were “cellular processes”, “metabolic processes”, and “response to a stimulus”. Regarding molecular functions, in the top GO terms were similar to informal workers with “binding activities” and “catalytic activities”.

The gene-disease network showed that the genes NKX2-5, NDUFAF4, and FHL1 forms a network and are linked to cardiac, EKG, and electrocardiogram pathology (Figure 6).

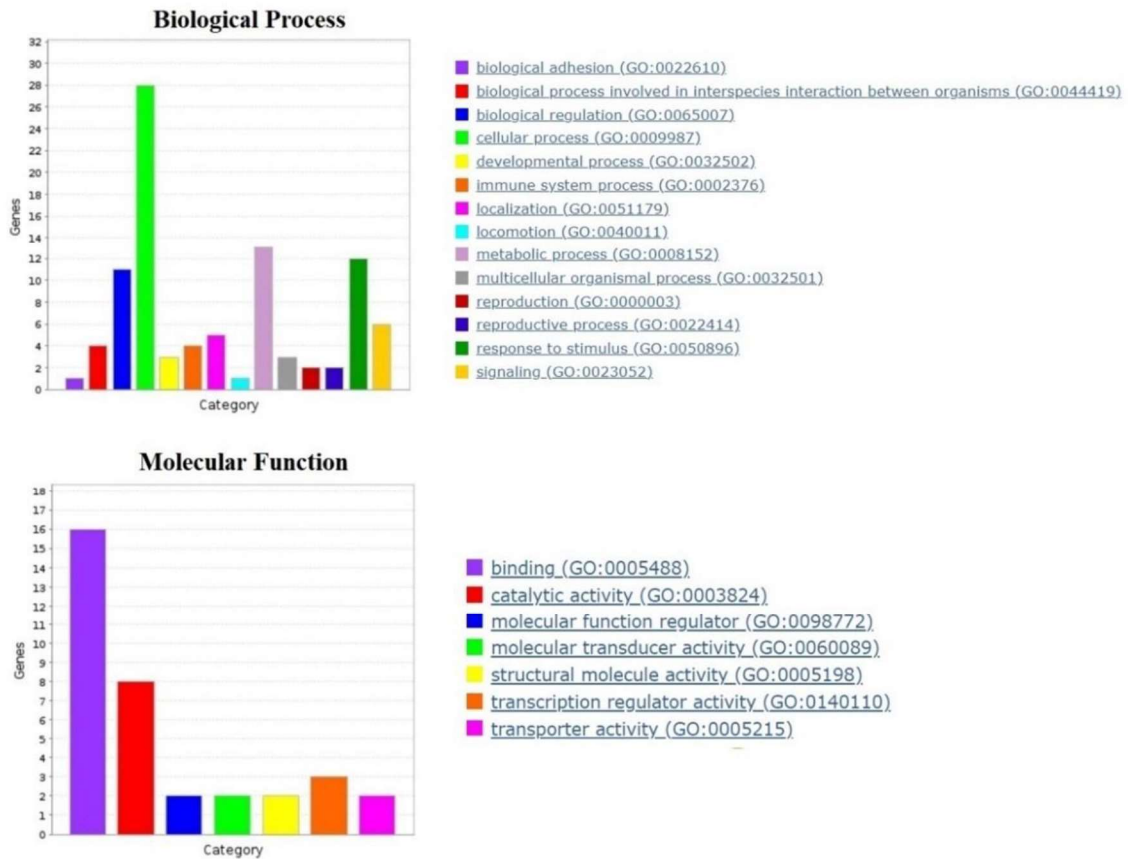


Figure 5. Formal occupational exposure of steelworkers affects mostly biological processes related to cellular and metabolic processes and molecular functions related to binding and catalytic activity, according to the performed GO analysis data using PANTHER14.1

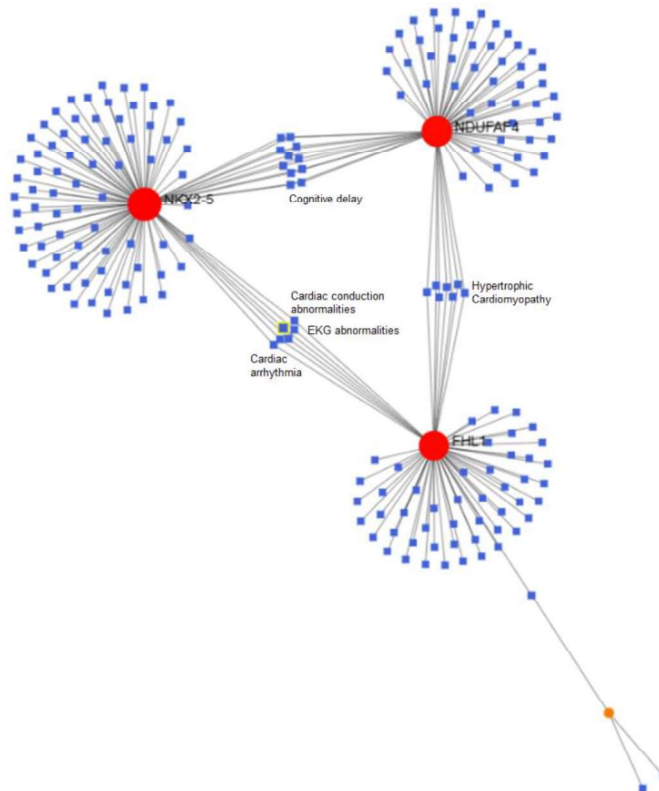


Figure 6. Gene-disease network from Volta Redonda population. Red circle nodes represent the NKX2-5, NDUFAF4, and FHL1 genes, and blue squares represent associated diseases.



#### 4. DISCUSSION

To the best of our knowledge, this is the first study investigating changes in the transcriptome profile of informal welders from a jewelry production chain and formal steelworkers. The results indicate changes in gene expression associated with inflammation and immune response related to occupational exposure to potentially toxic elements in both formal and informal work environments. A total of 49 DEGs were observed in the informal work population, including CCL4L1, CCL4L2, ELK1, NTSR1, PIGA, IFI27, and SUFU (the complete list can be seen in Table 2). Pathway analysis revealed that these genes are mainly involved in inflammatory and immune responses; more specifically, the detected DEGs are enriched in MAPK, Toll-like receptor, and NF-kappa B chemokine signaling pathways. The Toll-like receptors activate innate immune responses, such as the induction of inflammatory cytokines, and protein recruitment triggering downstream signaling cascades and leading to the activation of transcription factor nuclear factor-kappaB (NF- $\kappa$ B) and MAP kinases (Kawai and Akira, 2007; Kawasaki and Kawai, 2014). NF- $\kappa$ B proteins control the induction of proinflammatory cytokines and chemokines; they also regulate the expression of genes involved in immunity, inflammation, stress responses, and cancer progression (Kawai and Akira, 2007; Mitchell and Carmody, 2017). MAP kinases activate protein kinases that regulate cell proliferation, differentiation, and death (Morrison, 2012). Other pathways that appear enriched in this study are also related to the activation of the MAP kinase cascade, such as the platelet-derived growth factor receptor (PDGFR) and G-protein-coupled receptors (GPCRs) (Jain et al., 2018). The results of the GO analysis also demonstrated that most of the differentially expressed genes in informal workers are involved with cellular process activities, and as observed in the pathway analysis, some of these genes are also associated with inflammatory processes, including CCL4L1, CCL4L2, and ELK1.

Uncontrolled or dysregulated inflammation signaling has been shown to manifest in a range of diseases including rheumatoid arthritis, autoimmune diseases, atherosclerosis, and cancer (Mitchell and Carmody, 2017). The pathways associated with these disease outcomes can be activated by external factors to which the population is exposed, such as exposure to toxic elements. Various epidemiological studies have demonstrated that exposure to PTEs, such as Pb, Cr, As, Hg, Ni, and Cd, leads to dysregulation of pro- and anti-inflammatory cytokines and is related to inflammatory processes involving the activity of TNF- $\alpha$ , and MAPK/ ERK pathways (Brucker et al., 2015; Machoń-Grecka et al., 2017; López-Vanegas et al., 2020; Zhang et al., 2020; Renu et al., 2021). Brucker et al. (2015) report that concentrations of Hg, As, and Pb in the blood of Brazilian taxi drivers exposed to PTEs in vehicle emissions were positively associated with pro-inflammatory cytokines (such as IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$ ), increasing inflammatory biomarkers and contributing to the development of cardiovascular diseases. Zhang et al. (2020) observed that Pb, Cd, Hg, and As can cause dysregulation in the immune response and an increase in systemic inflammation (Zhang et al., 2020). Furthermore, battery recycling workers with high blood lead levels showed an increase of chronic inflammatory processes, dysfunction in leukocytes, inadequate immune response, and increased susceptibility to infections (López-Vanegas et al., 2020). Occupational exposure to Pb has been associated with the promotion of inflammatory response via the induction of cytokines and the modulation of angiogenesis which, once stimulated, may be related to cancer progression (Machoń-Grecka et al., 2017).

Other studies in welders indicate that exposure to the set of chemicals present in welding fumes is associated with DNA damage (Rafiee et al., 2022), and can change the expression of genes involved in inflammation, defense response, oxidative stress, phosphate metabolism, cell proliferation, and programmed cell death (Wang et al., 2005; Jönsson et al., 2011). Other investigations to detect welding-related gene expression changes observed genes associated

with inflammatory responses, toxic chemical metabolism, stress proteins, transcription factors, and signal transduction (Rim et al., 2007; Audureau et al., 2018).

As we observed previous studies carried out in the city of Limeira have reported higher PTEs concentrations in the blood and breathing zone of informal workers (Ferreira et al., 2019) and in their urine (Salles et al., 2021) compared to controls. Correlations were also observed between the concentration of PTEs in the dust of houses where welding activities take place and the blood of children residing in those environments (Barrozo et al., 2022). Another study in the same jewelry production chain found that 30 proteins were differentially expressed in the saliva of welders and correlated with at least one blood PTE (Araujo et al., 2023). The MNDA protein was upregulated in welders and correlated with blood concentrations of tin (Araujo et al., 2023), an element that can be found in soldering wires used in jewelry production (Barrozo et al., 2022). This protein is also related to NF-kappa-B signaling pathways which corroborate with the results of the present study. Metabolomic results from the plasma of welders and multi-omics analysis revealed disturbance in amino acid pathways (Araujo et al., 2023).

A total of 70 DEGs were observed in the formal work population of Volta Redonda, including CAMP, DEFA3 E 4, LTF, BPI, OLFM4, NKX2-5, and others. Pathway analysis revealed that these genes are mainly involved in immune responses, some of which play a defensive role in the immune system or have antimicrobial functions (Table 3). Further analysis showed a predominance in pathways related to the immune system processes, such as antimicrobial peptides and defensins, neutrophil degranulation, and phagocytosis dependent on the Fc gamma receptor.

The Fc gamma receptor is an important mediator between humoral and cellular immune responses through the binding of the Fc domains of IgG. This binding stimulates a variety of biological responses, including processes directly related to antigen clearance, such as phagocytosis (Daéron, 1997). Defensins are antimicrobial peptides naturally synthesized by

humans in neutrophils and gastrointestinal cells encoded by DEFA genes. Its antimicrobial activity is part of the innate immune defense against bacterial, viral, and fungal infections (Contreras et al., 2020; Xu et al., 2020). Neutrophil degranulation is one of the first cellular responses of the innate immune response (Effah et al., 2021; Klopff et al., 2021). Pro- and anti-inflammatory substances are the main components of neutrophil granules that are released to destroy invading pathogens, triggering a series of antimicrobial activities (Effah et al., 2021). Neutrophils have regulatory activities in the immune system and in the inflammatory response.

Pathway enrichment analysis of Volta Redonda also indicated important associations with the process of atherosclerosis development, one of the main factors involved in the progression of cardiovascular diseases. Scavenger receptor pathways, pathways of cell surface interactions in the vessel wall, and the pathway of smooth muscle cell proliferation and differentiation are all related to atherosclerosis. Scavenger receptors constitute a family of recognition proteins related to the uptake of oxidized LDL in macrophages, therefore related to lipid metabolism and atherogenesis. Through interaction with lipoproteins, these receptors play an important role in modulating vascular inflammation, in the accumulation of lipids, and, consequently, in the formation of plaques in vessels, which are all part of the pathophysiology of atherosclerosis progression (Mineo et al., 2020). Cell surface interactions in the vascular wall may include regulation of blood transport to underlying cells and tissues, permeability, vascular tone, cell adhesion, smooth muscle cell proliferation, angiogenesis, and vessel wall inflammation (Neubauer and Zieger, 2020). Dysfunctions in these processes precede the clinical complications of atherosclerosis (Mineo et al., 2020). Smooth muscle cell proliferation and differentiation pathways are also involved in more advanced stages of atherosclerosis (Frismantiene et al., 2018; Neubauer and Zieger, 2020). Smooth muscle cells are essential components of vascular development, maturation, repair, and regeneration. Over time, these cells move to the lining of the artery wall and multiply, together with fat cells forming a lumpy

deposit called an atheroma or atherosclerotic plaque (Frismantiene et al., 2018). In addition, the network analysis shows the connection of three genes (NKX2-5, NDUFAF4, and FHL1) that are associated with different types of cardiac problems, including arrhythmias, EKG abnormalities, and heart conduction disorders (Zhang and Liu, 2015; Baban et al., 2022).

The mean blood concentrations of PTEs were not found to be significantly different between the groups from Volta Redonda in this study, which may indicate that other risk factors may be contributing to the alteration in gene expression. Other studies with steelworkers point to associations between risk factors such as obesity, insomnia, and shift work with atherosclerosis (Yu et al., 2022a,b; Wang et al., 2022a,b). Other pollutants such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and volatile organic compounds (VOCs) emitted from the iron and steelmaking operations should be investigated (Chen et al., 2015; Hou et al., 2023) and may be responsible for differences in gene expression. Furthermore, it is important to consider the levels of air pollution in Volta Redonda, which affects both the exposed and control groups and may have influenced the results. Scientific research has already been carried out in the region to evaluate the effects of pollution on workers and the surrounding population (Paiva, 2014; Nascimento et al., 2016; Reis et al., 2017). Higher levels of tin were determined in household dust in the eastern region of the city, and in atmospheric air samples in the southwest and southeast region (Azevedo et al., 2019), however, blood levels of tin ( $3.85 \mu\text{g L}^{-1}$ ) in adults living in the municipality were lower compared to this study. Steel companies have great potential for the emission of air pollutants, mainly emissions of particulate matter, and in Volta Redonda, it was possible to verify that the total suspended particles, particulate material ( $\text{PM}_{10}$ ), and ozone ( $\text{O}_3$ ) exceeded the limits of Brazilian legislation (Rocha and Guimarães, 2017). Additionally, the mandatory use of personal protective equipment (PPE) seems to be an important protective factor for formal workers, while air pollution seems to be an important

exposure factor for the general population in Volta Redonda, reflecting similar blood PTE concentrations.

Great emphasis has been placed on the association between high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) plasma concentration and cardiovascular risk and mortality. The American Heart Association established, in 2003, relative risk categories with cutoff points for hs-CRP, including low ( $< 1 \text{ mg L}^{-1}$ ), medium ( $1\text{-}3 \text{ mg L}^{-1}$ ), and high risk ( $> 3 \text{ mg L}^{-1}$ ) (Pearson et al., 2003). The plasma concentration of hs-CRP is positively correlated with the components of metabolic syndrome, blood glucose, waist circumference, concentrations of triacylglycerols and cholesterol associated with HDL and blood pressure, as well as fasting insulinemia, microalbuminuria, and reduced fibrinolysis (Pearson et al., 2003). In this study, higher geometric means of hs-CRP were observed in the Limeira population ( $2.61 \text{ mg L}^{-1}$ ), with a medium to high risk, while in Volta Redonda the mean insinuates low risk ( $0.75 \text{ mg L}^{-1}$ ). However, it was not possible to observe a relationship between informal or formal work and an increase in this risk, which may indicate the influence of other factors, such as habits, lifestyle, and diet, and points to the complex nature of cohort studies.

Both work populations impacted similar GO ontologies but do not present many common DEGs. The only in common in both populations was the IFI27 (Interferon alpha-inducible protein 27). IFI27 was found to be upregulated in informal workers and downregulated in formal workers. This gene is part of the family of interferon-inducible proteins- that regulate resistance to viral infections, enhance innate and immune responses, and modulate normal and tumor cell survival and death. Upregulation of IFI27 is proven to be related to different types of cancer, including breast, ovarian, and pancreatic (Li et al., 2015; Huang et al., 2021). The downregulation can also be involved in tumor development by interfering with apoptosis through the TNF-related ligand and favoring cancer cell survival (Liu et al., 2014).

The main difference between the two populations of this study is the work activities. Informal workers perform their job in a domestic environment, replacing industrial steps with little or no training, guidance, or supervision. They also have irregular working hours, improvised and precarious workplaces, fewer opportunities to file complaints, and complete duties without the use of personal protective equipment (PPE). This scenario can promote an increased likelihood of occupational accidents and hazardous exposures, culminating in diseases and/or incapacities (Schulte et al., 2022). On the contrary, formal workers have a working agreement with basic rights assured, including health monitoring. Usually, the employer follows safety standards to mitigate risks and prevent hazardous exposures, such as the mandatory use of PPE and overall workplace safety procedures. Thus, formal work can expose an individual to a higher load of pollutants inside the industry than an informal job, however, they are normally more protected by work safety measures. It is also possible to consider differences between control conditions of each city, the air pollution and contamination of soil and water by industrial activities in the region of Volta Redonda should be considered and can explain PTE levels. The fact that the two populations are of different sexes also makes it difficult to compare the expressed genes. There are important population-related differences and so each case study should be handled separately, and extrapolation should be done carefully in future cohort studies and risk assessments.

The sample size included in this study is relatively small compared to other epidemiological studies. Unfortunately, workers commonly express concerns about the potential repercussions of their work, including being reported to authorities and facing retaliatory actions from competing factories, each of which may endanger their livelihood. As a result, there are frequently hesitations, lack of engagement, and skepticism from these workers when it comes to engaging in scientific studies such as this and are likely the cause for the low recruitment numbers. Still, this exposure scenario is unique and crucial for

understanding the health impacts of neglected informal activities commonly found in emerging and developing countries from across Africa, Asia, and Latin America (ILO, 2018).

There are a lot of factors from the human biology compartment that can affect results and complicate the interpretation of human population samples. However, these populations should not be avoided for scientific investigation. In this study, exploratory results based on microarray analysis (without further quantification of target genes and comprehension of the potential regulatory mechanisms) generate a starting point to set a basis for analysis in sensitive, understudied populations, especially from developing countries. The lack of validation of detected differentially expressed genes is a limitation. The observed patterns of occupational exposure effects on workers, as well as the use of specific genes as potential biomarkers, need to be further explored and validated using qPCR or other quantitative methods. Nevertheless, the knowledge gap and need for preliminary analyses far outweigh the limitations of the study. Future studies will select genes to perform target analyses, related to paths of interest and different exposures.

This study provides evidence that occupational exposures, whether formal or informal, have the potential to alter gene expression profiles in humans and highlights the effect of occupational activity on the exposome of laborers. By investigating how occupational exposure may influence systemic inflammatory processes and immune responses, and by association its contribution to the development of cardiovascular and metabolic diseases, we contribute to the growing body of literature that suggests such activities may contribute to public health problems responsible for high mortality and morbidity rates. Moreover, identifying specific patterns of gene expression may provide clues about how occupational exposures can alter the human transcriptome and lead to changes in metabolic patterns (van Breda et al., 2015). Correlations between the differentially expressed genes of this study, the diseases reported by the population,



and the blood levels of PTEs are currently being investigated and will be discussed in future studies.

## 5. CONCLUSIONS

The results of the microarray whole blood analysis found 49 DEGs between informal jewelry welders and the control group in Limeira and 70 DEGs between the formal steelworkers and the control group in Volta Redonda. By comparing the outcomes from each of these populations, we identified that differences in gene expression related to occupational exposure are mainly associated with inflammation and immune responses. Moreover, despite the fact that PTE levels in participant blood were not elevated between exposed and control groups, it was possible to observe DEGs in the two occupationally-exposed populations compared to the controls. These results may indicate that, over time, the impact of occupational exposures contribute to biological responses with potential outcomes in chronic diseases.

## 6. REFERENCES

Agilent. One-Color Microarray-Based Gene Expression Analysis: Low Input Quick Amp Labeling. Protocol Version 6.9.1. December 2015.

Araujo ANM, Leroux IN, Furtado DZS, Ferreira APSS, Batista BL, Silva HDT, Handakas E, Assunção NA and Olympio KPK. Integration of proteomic and metabolomic analyses: New insights for mapping informal workers exposed to potentially toxic elements. *Front. Public Health*. 2023;10:899638. doi: 10.3389/fpubh.2022.899638.

Audureau É, Simon-Deckers A, Franco-Montoya ML, Annangi B, Kermanizadeh A, Boczkowski J, Lanone S. Substantial modification of the gene expression profile following exposure of macrophages to welding-related nanoparticles. *Sci Rep*. 2018;8(1):8554. doi: 10.1038/s41598-018-26988-z.

Azevedo SV, Sobral A, Moreira MFR. Spatial pattern of the environmental exposure to tin in the vicinity of an alloy industry in Volta Redonda, Rio de Janeiro State, Brazil. *Cad Saude Publica*. 2019;14;35(10):e00079819. doi: 10.1590/0102-311X00079818.

Baban A, Lodato V, Parlapiano G, Drago F. Genetics in Congenital Heart Diseases: Unraveling the Link Between Cardiac Morphogenesis, Heart Muscle Disease, and Electrical Disorders. *Heart Fail Clin*. 2022 Jan;18(1):139-153. doi: 10.1016/j.hfc.2021.07.016.

Bahr D, Zambare V, Azevedo V [ed.] *Omics: application in biomedical, agricultural, and environmental sciences*. 2013. CRC Press, Taylor & Francis Group. Florida, USA.

Barrozo F, Almeida GA, Luz MS, Olympio KPK. A Low-Cost Method Shows Potentially Toxic Element Levels in Dust Correlated with Elevated Blood Levels of These Chemicals in Children Exposed to an Informal Home-Based Production Environment. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(23):16236. doi: 10.3390/ijerph192316236.

Brucker N, Moro A, Charão M, Bubols G, Nascimento S, Goethel G, Barth A, Prohmann AC, Rocha R, Moresco R, Sangoi M, Hausen BS, Saint'Pierre T, Gioda A, Duarte M, Castro I, Saldiva PH, Garcia SC. Relationship between blood metals and inflammation in taxi drivers. *Clin Chim Acta*. 2015;444:176-81. doi: 10.1016/j.cca.2015.02.032.

Chen J, Aries E, Collins P, Anderson DR, Hodges JS. Characterization of Priority Substances in Effluents from an Integrated Steelworks in the United Kingdom. *Water Environ. Res*. 2015;87(2):132-44. doi:10.2175/106143014X14062131179311.

Contreras G, Shirdel I, Braun MS, Wink M. Defensins: Transcriptional regulation and function beyond antimicrobial activity. *Dev Comp Immunol*. 2020;104:103556. doi: 10.1016/j.dci.2019.103556.

Croghan C, Egeghy, PP. Methods of Dealing With Values Below the Limit of Detection Using SAS. Presented at Southeastern SAS User Group. 2003, pp. 22–24. Available in: [http://www8.sas.com/scholars/05/PREVIOUS/2001\\_200.4/2004\\_MOR/Proceed/\\_2003/Statistics/SD08-Croghan.pdf](http://www8.sas.com/scholars/05/PREVIOUS/2001_200.4/2004_MOR/Proceed/_2003/Statistics/SD08-Croghan.pdf) (Access in: April 30, 2019).

CSN. Companhia Siderúrgica Nacional [internet]. Unidades Fabris: Usina Presidente Vargas. 2017. [acesso em 19 out 2017]. Available in: [http://www.csn.com.br/conteudo\\_pti.asp?idioma=0&conta=45&tipo=60851&prSv=1](http://www.csn.com.br/conteudo_pti.asp?idioma=0&conta=45&tipo=60851&prSv=1).

Daëron M. Structural bases of FcγR functions. *Int Rev Immunol* 1997; 16: 1-27. doi: 10.3109/08830189709045701.

DeBord DG, Carreón T, Lentz TJ, Middendorf PJ, Hoover MD, Schulte PA. Use of the “Exposome” in the Practice of Epidemiology: A Primer on –Omic Technologies. *Am J Epidemiol*. 2016;184(4):302-14. doi: 10.1093/aje/kwv325.

Effah CY, Drokow EK, Agboyibor C, Ding L, He S, Liu S, Akorli SY, Nuamah E, Sun T, Zhou X, Liu H, Xu Z, Feng F, Wu Y, Zhang X. Neutrophil-Dependent Immunity During Pulmonary Infections and Inflammations. *Front Immunol*. 2021;12:689866. doi: 10.3389/fimmu.2021.689866.

Espín-Pérez A, Font-Ribera L, van Veldhoven K, Krauskopf J, Portengen L, Chadeau-Hyam M, Vermeulen R, Grimalt JO, Villanueva CM, Vineis P, Kogevinas M, Kleinjans JC, de Kok TM. Blood transcriptional and microRNA responses to short-term exposure to disinfection by-products in a swimming pool. *Environ Int*. 2018;110:42-50. doi: 10.1016/j.envint.2017.10.003.

Ferreira APSS, Pereira EC, Salles FJ, da Silva FF, Batista BL, Handakas E, Olympio KPK. Home-based and informal work exposes the families to high levels of potentially toxic elements. *Chemosphere*. 2019;218:319-27.

Frismantiene A, Philippova M, Erne P, Resink TJ. Smooth muscle cell-driven vascular diseases and molecular mechanisms of VSMC plasticity. *Cell Signal*. 2018;52:48-64. doi: 10.1016/j.cellsig.2018.08.019.

GBD. Global Burden of Disease. Institute for Health Metrics and Evaluation. "GBD Compare". 2019. Available at: <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/>. Accessed April 06, 2023.

Geloneze B, Repetto EM, Geloneze SR, Tambascia MA, Ermetice MN. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixed population IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006;72(2):219-20.

Geloneze B, Vasques AC, Stabe CF, Pareja JC, Rosado LE, Queiroz EC, et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2009;53(2):281-287.

International Labour Organization (ILO). *Women and Men in the Informal Economy: A Statistical Picture*, 3rd ed.; International Labour Organization: Geneva, Switzerland, 2018.

Hou Y, Li Y, Tao H, Cao H, Liao X, Liu X. Three-dimensional distribution characteristics of multiple pollutants in the soil at a steelworks mega-site based on multi-source information. *J Hazard Mater*. 2023 Apr 15;448:130934. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.130934.

Huang S, Zhao J, Song J, Li Y, Zuo R, Sa Y, Ma Z, OuYang H. Interferon alpha-inducible protein 27 (IFI27) is a prognostic marker for pancreatic cancer based on comprehensive bioinformatics analysis. *Bioengineered*. 2021;12(1):8515-8528. doi: 10.1080/21655979.2021.1985858.

Idaghdour Y, Storey JD, Jadallah SJ, Gibson G. A Genome-Wide Gene Expression Signature of Environmental Geography in Leukocytes of Moroccan Amazighs. *PLoS Genet*. 2008; 4(4):1-10. doi:10.1371/journal.pgen.1000052.

Jain R, Watson U, Vasudevan L, Saini DK. ERK Activation Pathways Downstream of GPCRs. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2018;338:79-109. doi: 10.1016/bs.ircmb.2018.02.003.

Jönsson LS, Nielsen J, Broberg K. Gene expression analysis in induced sputum from welders with and without airway-related symptoms. *Int Arch Occup Environ Health*. 2011 Jan;84(1):105-13. doi: 10.1007/s00420-010-0579-2.

Kawai T, Akira S. Signaling to NF-kappaB by Toll-like receptors. *Trends Mol Med*. 2007 Nov;13(11):460-9. doi: 10.1016/j.molmed.2007.09.002.

Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. *Front Immunol*. 2014 Sep 25;5:461. doi: 10.3389/fimmu.2014.00461.

Klopf J, Brostjan C, Eilenberg W, Neumayer C. Neutrophil Extracellular Traps and Their Implications in Cardiovascular and Inflammatory Disease. *Int J Mol Sci*. 2021;22(2):559. doi: 10.3390/ijms22020559.

Korashy HM, Korashy HM, Attafi IM, et al. Gene expression profiling to identify the toxicities and potentially relevant human disease outcomes associated with environmental heavy metal exposure. *Environ. pollut. (Barking, Essex: 1987)*. 2017;221:64-74. doi: 10.1016/j.envpol.2016.10.058.

Lacorte LEC, Vilela RAG, Silva RC, Chiesa AM, Tulio ES, Franco RR, Bravo ES. The knots of the child labor eradication network within the jewelry and costume jewelry production in Limeira, São Paulo, Brazil [in Portuguese]. *Rev. Bras. Saúde Ocup*. 2013;38(128):199-215. doi: 10.1590/S0303-76572013000200009.

Li S, Xie Y, Zhang W, Gao J, Wang M, Zheng G, Yin X, Xia H, Tao X. Interferon alpha-inducible protein 27 promotes epithelial-mesenchymal transition and induces ovarian tumorigenicity and stemness. *J Surg Res*. 2015;193(1):255-64. doi: 10.1016/j.jss.2014.06.055.

Liu N, Zuo C, Wang X, Chen T, Yang D, Wang J, Zhu H. miR-942 decreases TRAIL-induced apoptosis through ISG12a downregulation and is regulated by AKT. *Oncotarget*. 2014;5(13):4959-71. doi: 10.18632/oncotarget.2067.

López-Vanegas NC, Hernández G, Maldonado-Vega M, Calderón-Salinas JV. Leukocyte apoptosis, TNF- $\alpha$  concentration and oxidative damage in lead-exposed workers. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2020;391:114901. doi: 10.1016/j.taap.2020.114901.

van Leeuwen DM, van Herwijnen MHM, Pedersen M, Knudsen LE, Kirsch-Volders M, Sram RJ, Staal YCM et al. Genome-wide differential gene expression in children exposed to air pollution in the Czech Republic. *Mutat. res*. 2006;600:12-22. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2006.05.032.

Machoń-Grecka A, Dobrakowski M, Boroń M, Lisowska G, Kasperczyk A, Kasperczyk S. The influence of occupational chronic lead exposure on the levels of selected pro-inflammatory cytokines and angiogenic factors. *Hum Exp Toxicol*. 2017;36(5):467-473. doi: 10.1177/0960327117703688.

McHale CM, Zhang L, Thomas R, Smith MT. Analysis of the transcriptome in molecular epidemiology studies. *Environ Mol Mutagen*. 2013;54(7):500-17. doi:10.1002/em.21798.

Mi, H., Muruganujan, A., Ebert, D., Huang, X., Thomas, P.D., 2019. PANTHER version 14: more genomes, a new PANTHER GO-slim and improvements in enrichment analysis tools. *Nucleic Acids Res*. 47, D419–d426.

Mineo C. Lipoprotein receptor signalling in atherosclerosis. *Cardiovasc Res*. 2020;116(7):1254-1274. doi: 10.1093/cvr/cvz338.

Mitchell JP, Carmody RJ. NF- $\kappa$ B and the Transcriptional Control of Inflammation. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2018;335:41-84. doi: 10.1016/bs.ircmb.2017.07.007.

Morrison DK. MAP kinase pathways. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012 Nov 1;4(11):a011254. doi: 10.1101/cshperspect.a011254.

Nascimento LFC, Vieira LCPF, Mantovani KCC, Moreira DS. Air pollution and respiratory diseases: ecological time series. *Sao Paulo Med J*. 2016;134(4):315-21. doi: 10.1590/1516-3180.2015.0237250216.

Neubauer K, Zieger B. Endothelial cells and coagulation. *Cell Tissue Res*. 2022;387(3):391-398. doi: 10.1007/s00441-021-03471-2.

Paiva RFPS. Hospital morbidity due to diseases associated with air pollution in the city of Volta Redonda, Rio de Janeiro: cases and economic cost. *Cad. Saúde Colet., Rio de Janeiro*. 2014;22(2):127-32. doi: 10.1590/1414-462X201400020004.

Papaioannou N, Distel E, de Oliveira E, Gabriel C, Frydas IS, Anesti O, Attignou EA, Odena A, Díaz R, Aggerbeck M, Horvat M, Barouki R, Karakitsios S, Sarigiannis DA. Multi-omics analysis reveals that co-exposure to phthalates and metals disturbs urea cycle and choline metabolism. *Environ Res*. 2021;192:110041. doi: 10.1016/j.envres.2020.110041.

Passos GA (Ed.). *Transcriptomics in Health and Disease*. Springer. 2014. Doi:10.1007/978-3-319-11985-4.

Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003;107:499---511.

Pećina-Šlaus N, Pećina M. Only one health, and so many omics. *Cancer cell int*. 2015; 15:64. doi:10.1186/s12935-015-0212-2.

PreAnalytiX Company. *Blood RNA Kit Handbook*. Version 2. PAXgene. Switzerland. June 2015.

Précoma DB, Oliveira GMM, Simão AF, Dutra OP, Coelho OR, Izar MCO, et al. Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – 2019. *Arq Bras Cardiol*. 2019; 113(4):787-891. doi.org/10.5935/abc.20190204

Pronk, A, Loh, M; Kuijpers, E; Albin, M; Selander, J; Godderis, L; et al. Applying the exposome concept to working life health: The EU EPHOR project. *Environ Epidemiol*. 2022; 6(2):e185. doi: 10.1097/EE9.0000000000000185.

Rafiee A, Ospina MB, Pitt TM, Quémerais B. Oxidative stress and DNA damage resulting from welding fumes exposure among professional welders: A systematic review and meta-analysis. *Environ Res*. 2022 Nov;214(Pt 4):114152. doi: 10.1016/j.envres.2022.114152.

Reis MM, Guimarães MT, Braga ALF, Martins LC, Pereira LAA. Air pollution and low birth weight in an industrialized city in Southeastern Brazil, 2003–2006. *Rev. Bras. Epidemiol*. 2017; 20(2):189-199. doi: 10.1590/1980-5497201700020001.

Renu K, Chakraborty R, Myakala H, Koti R, Famurewa AC, Madhyastha H, Vellingiri B, George A, Valsala Gopalakrishnan A. Molecular mechanism of heavy metals (Lead, Chromium, Arsenic, Mercury, Nickel and Cadmium) - induced hepatotoxicity - A review. *Chemosphere*. 2021;271:129735. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.129735.

Rim KT, Park KK, Kim YH, Lee YH, Han JH, Chung YH, Yu IJ. Gene-expression profiling of human mononuclear cells from welders using cDNA microarray. *J Toxicol Environ Health A*. 2007;70(15-16):1264-77. doi: 10.1080/15287390701428986.

Rocha NLT, Guimarães CS. Estudo da qualidade do ar e a atividade siderúrgica na cidade de Volta Redonda [in portuguese]. *Cadernos UniFOA, Volta Redonda*, 2017; 33:25-36.

Salles FJ, Tavares DJB, Freire BM, Ferreira APSS, Handakas E, Batista BL, Olympio KPK. Home-based informal jewelry production increases exposure of working families to cadmium. *Sci. Total Environ*. 2021;785:147297. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.147297.

Schulte PA, Iavicoli I, Fontana L, Leka S, Dollard MF, Salmen-Navarro A, Salles FJ, Olympio KPK, et al. Occupational Safety and Health Staging Framework for Decent Work. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022, 19, 10842. doi:10.3390/ijerph191710842.

Smith MT, Vermeulen R, Li G, Zhang L, Lan Q, Hubbard AE, Forrest MS, McHale C, Zhao X, Gunn L, Shen M, Rappaport SM, Yin S, Chanock S, Rothman N. Use of 'Omic' technologies to study humans exposed to benzene. *Chem Biol Interact*. 2005;153-154:123-7. doi: 10.1016/j.cbi.2005.03.017.

Van Breda SGJ, Wilms LC, Gaj S, Jennen DGJ, Briedé JJ, Kleinjans JCS, de Kok TMCM. The exposome concept in a human nutrigenomics study: evaluating the impact of exposure to a complex mixture of phytochemicals using transcriptomics signatures. *Mutagenesis*, 2015; 30:723–731. doi:10.1093/mutage/gev008.

Vrijheid M, Slama R, Robins O, Chatzi L, Coen M, van den Hazel P et al. The Human Early-Life exposome (HELIX): Project Rationale and Design. *Environ Health Perspec*. 2014;122(6):535-44. doi: 10.1289/ehp.1307204.

Wang Z, Neuburg D, Li C, Su L, Kim JY, Chen JC, Christiani DC. Global Gene Expression Profiling in Whole-Blood Samples from Individuals Exposed to Metal Fumes. *Environ. Health Perspec*. 2005; 113(2):233-241. doi:10.1289/txg.7273.

Wang L, Zhang S, Yu M, Yuan J. Association between insomnia and subclinical atherosclerosis among Chinese steelworkers: a cross-sectional survey. *Arch Public Health*. 2022a;80(1):80. doi: 10.1186/s13690-022-00834-1.

Wang L, Zhang S, Yu M, Yuan J. Association between rotating night shift work and carotid atherosclerosis among Chinese steelworkers: a cross-sectional survey. *Hypertens Res*. 2022b;45(4):686-697. doi: 10.1038/s41440-021-00821-z.

Whitney AR, Diehn M, Popper SJ, Alizadeh AA, Boldrick JC, Relman DA, Brown PO. Individuality and variation in gene expression patterns in human blood. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2003;100(4):1896-90. doi:10.1073/pnas.252784499.

WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 2000;894:i-xii, 1-253.

Wild CP, Scalbert A, Herceg Z. Measuring the Exposome: A Powerful Basis for Evaluating Environmental Exposures and Cancer Risk. *Environ. and Mol. Mutagen*. 2013;54:480-99. doi: 10.1002/em.21777.

Xu D, Lu W. Defensins: A Double-Edged Sword in Host Immunity. *Front Immunol*. 2020;11:764. doi: 10.3389/fimmu.2020.00764-z.

Yu M, Wang L, Zhang S, Feng H, Wu J, Li X, Yuan J. Association between Neck Circumference and Subclinical Atherosclerosis among Chinese Steelworkers: A Cross-Sectional Survey. *Int J Environ Res Public Health*. 2022a;19(11):6740. doi: 10.3390/ijerph19116740.

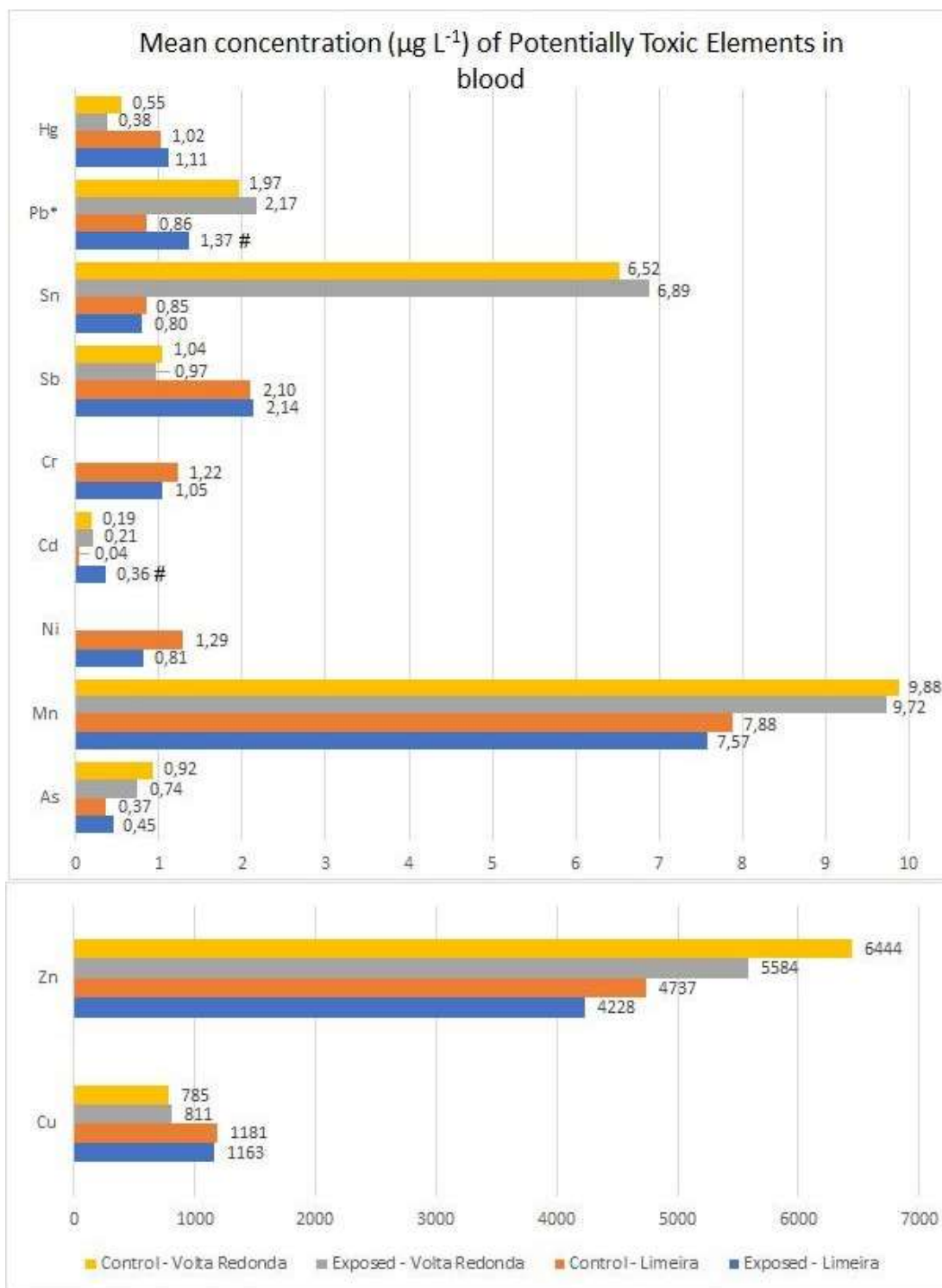
Yu M, Zhang S, Wang L, Wu J, Li X, Yuan J. Metabolically Healthy Obesity and Carotid Plaque among Steelworkers in North China: The Role of Inflammation. *Nutrients*. 2022b;14(23):5123. doi: 10.3390/nu14235123.

Zhang QJ, Liu ZP. Histone methylations in heart development, congenital and adult heart diseases. *Epigenomics*. 2015;7(2):321-30. doi: 10.2217/epi.14.60.

Zhang Y, Huo X, Lu X, Zeng Z, Faas MM, Xu X. Exposure to multiple heavy metals associate with aberrant immune homeostasis and inflammatory activation in preschool children. *Chemosphere*. 2020 ;257:127257. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127257.

Zhou, G., Soufan, O., Ewald, J., Hancock, REW, Basu, N. and Xia, J. (2019) "NetworkAnalyst 3.0: a visual analytics platform for comprehensive gene expression profiling and meta-analysis" *Nucleic Acids Research* 47 (W1): W234-W241. doi: 10.1093/nar/gkz240.

## MATERIAL SUPPLEMENTAR



\* Pb concentration in  $\mu\text{g L}^{-1}$

# statistically different in the exposed group compared to the control group ( $p < 0.05$ )

Figure S1. Potentially Toxic Elements (PTEs) mean concentrations in blood of each study group.

Table S1. Microarray Quality control parameters.

Quality control measures	
A260/280 Ratio	> 1.8
RIN numbers	> 7
Starting input of total RNA	200 ng
cRNA yield	> 0.825 $\mu$ g
Cy3 specific activity	$\geq$ 6 pmol Cy3 per $\mu$ g cRNA
Volume of labeled cRNA for hybridization	600 ng

Table S2. Absolute and relative frequency of demographic characteristics, habits, and health variables of female participants in the exposed group (informal workers) and control group in the city of Limeira, SP, Brazil.

Variables	Exposed Group		Control Group		Total		p-value
	n	%	n	%	n	%	
Participants	22	100.0	19	100.0	41	100.0	
Alcohol consumption							
Yes	11	50.0	5	26.3	16	39.0	0.20
No	11	50.0	16	73.7	27	61.0	
Physical exercise							
Yes	6	27.3	7	36.8	13	31.7	0.74
No	16	72.7	12	63.2	28	68.3	
Prescription medication use							
Yes	11	50.0	11	57.9	22	53.7	0.54
No	11	50.0	8	42.1	19	46.3	
Education							
Illiterate	1	4.5	0	0	1	2.4	0.52
Elementary School Incomplete	5	22.7	5	26.3	10	24.4	
Elementary School Complete	6	27.3	4	21.1	10	24.4	
High School Complete	10	45.5	9	47.4	19	46.3	
Higher Education Complete	0	0	1	5.3	1	2.4	
Ethnicity							
White	7	31.8	8	42.1	15	36.6	0.77
Black	4	18.2	3	15.8	7	17.1	
Pardo*	7	31.8	5	26.3	12	29.3	
Other	4	18.2	3	15.8	7	17.1	
Time residing in the region							
0 - 10 year	3	13.6	6	31.6	9	21.9	0.41
10 - 20 years	12	54.5	11	57.9	23	56.1	
> 20 years	7	31.8	2	10.5	9	21.9	
Body Mass Index (BMI) <sup>a</sup>							
Normal	6	27.3	5	26.3	11	26.8	0.12
Overweight	11	50.0	8	42.1	19	46.3	
Obese	5	22.7	6	31.6	11	26.8	
Cholesterol (mg dL <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>							
< 190	18	81.8	13	68.4	31	75.6	0.51
> 190	4	18.2	6	31.6	10	24.4	



Variables	Exposed Group		Control Group		Total		p-value
	n	%	n	%	n	%	
Cholesterol LDL <sup>b</sup>							
< 130	19	86.4	16	73.7	35	85.4	0.33
> 130	3	13.6	3	15.8	6	14.6	
Cholesterol HDL <sup>b</sup>							
< 40	10	45.5	10	52.6	20	48.8	0.97
> 40	12	54.5	9	47.4	21	51.2	
Triglycerides (mg dL <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>							
< 150	17	77.3	15	78.9	32	78.1	0.90
> 150	5	22.7	4	21.1	9	21.9	
Glucose (mg dL <sup>-1</sup> )							
60 – 99	20	90.9	18	94.7	38	92.7	0.21
> 99	2	9.1	2	10.5	4	9.8	
Insulin ( $\mu$ IU mL <sup>-1</sup> )							
3 - 25	20	90.9	19	100	39	95.0	0.21
> 25	2	9.1	0	0	2	5.0	
HOMA-IR <sup>c</sup>							
< 2,71	18	81.8	11	57.9	29	70.7	0.30
> 2,71	4	18.2	8	42.1	12	29.3	
C- Reactive Protein (mg L <sup>-1</sup> ) <sup>d</sup>							
< 1	5	22.7	3	15.8	8	19.5	0.48
1 - 3	5	22.7	5	26.3	10	24.4	
> 3	12	54.5	11	57.9	23	56.1	

\*The Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE) considered “Pardo” as a race category result of different races’ miscegenation.

<sup>a</sup> Normal (18.5 to 24.9); Overweight (25.0 to 29.9); Obese (> 30.0). WHO, 2000.

<sup>b</sup> Guideline on Cardiovascular Disease Prevention. Brazilian Society of Cardiology. Prêcoma et al., 2019.

<sup>c</sup> Geloneze et al., 2006; 2009.

<sup>d</sup> Low risk: < 1 mg L<sup>-1</sup>; medium risk: 1-3 mg L<sup>-1</sup>, and high risk: > 3 mg L<sup>-1</sup>. Pearson et al., 2003.

Table S3. The absolute and relative frequency of demographic characteristics, habits, and health variables of male participants in the exposed group (formal steelworkers) and control group in the city of Volta Redonda, RJ, Brazil.

Variables	Exposed Group		Control Group		Total		p-value
	n	%	n	%	n	%	
Participants	10	100.0	8	100.0	18	100.0	
Alcohol consumption							
Yes	5	50.0	5	62.5	10	55.6	0.66
No	5	50.0	3	37.5	8	44.4	
Physical exercise							
Yes	6	60.0	4	50.0	10	55.6	1.00
No	4	40.0	4	50.0	8	44.4	
Prescription medication use							
Yes	1	10.0	2	25.0	3	16.7	0.56
No	9	90.0	6	75.0	15	83.3	

Variables	Exposed Group		Control Group		Total		p-value
	n	%	n	%	n	%	
<b>Education</b>							
Elementary School Complete	0	0	2	25.0	2	11.1	0.81
High School Complete	7	70.0	4	50.0	11	61.1	
Higher Education Complete	3	30.0	2	25.0	5	27.8	
<b>Ethnicity</b>							
White	2	20.0	2	25.0	4	22.2	0.90
Black	2	20.0	1	12.5	3	16.7	
<i>Pardo</i> *	6	60.0	4	50.0	10	55.6	
Other	0		1	12.5	1	5.6	
<b>Time residing in the region</b>							
0 - 10 year	0	0	1	12.5	1	5.6	0.57
10 - 20 years	1	10.0	2	25.0	3	16.7	
> 20 years	9	90.0	5	62.5	14	77.8	
<b>Body Mass Index (BMI)<sup>a</sup></b>							
Normal	3	30.0	3	37.5	6	33.3	0.48
Overweight	7	70.0	4	50.0	11	61.1	
Obese	0	0	1	12.5	1	5.6	
<b>Cholesterol (mg dL<sup>-1</sup>)<sup>b</sup></b>							
< 190	8	80.0	4	50.0	12	66.7	0.21
> 190	2	20.0	4	50.0	6	33.3	
<b>Cholesterol LDL<sup>b</sup></b>							
< 130	9	90.0	3	37.5	12	66.7	0.10
> 130	1	10.0	5	62.5	6	33.3	
<b>Cholesterol HDL<sup>b</sup></b>							
< 40	1	10.0	0	0	1	5.6	0.09
> 40	9	90.0	8	100	17	94.4	
<b>Triglycerides (mg dL<sup>-1</sup>)<sup>b</sup></b>							
< 150	9	90.0	7	87.5	16	88.9	0.79
> 150	1	10.0	1	12.5	2	11.1	
<b>Glucose (mg dL<sup>-1</sup>)</b>							
60 – 99	10	100.0	8	100.0	18	100.0	0.53
> 99	0	0	0	0	0	0	
<b>Insulin (μIU mL<sup>-1</sup>)</b>							
3 – 25	10	100.0	8	100.0	18	100.0	0.53
>25	0	0	0	0	0	0	
<b>HOMA-IR<sup>c</sup></b>							
< 2.71	10	100.0	7	87.5	17	94.4	0.92
> 2.71	0	0	1	12.5	1	5.6	
<b>C-Reactive Protein (mg L<sup>-1</sup>)<sup>d</sup></b>							
< 1	6	60.0	5	62.5	11	61.1	0.93
1 - 3	4	40.0	2	25.0	6	33.3	
> 3	0	0	1	12.5	1	5.6	

\*The Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE) considered “Pardo” as a race category result of different races’ miscegenation.

<sup>a</sup> Normal (18.5 to 24.9); Overweight (25.0 to 29.9); Obese (> 30.0). WHO, 2000.

<sup>b</sup> Guideline on Cardiovascular Disease Prevention. Brazilian Society of Cardiology. Prêcoma et al., 2019.

<sup>c</sup> Geloneze et al., 2006; 2009.

<sup>d</sup> Low risk: < 1 mg L<sup>-1</sup>; medium risk: 1-3 mg L<sup>-1</sup>, and high risk: > 3 mg L<sup>-1</sup>. Pearson et al., 2003.

## 5. CONCLUSÕES

Os trabalhadores informais de Limeira, que realizam soldagem de joias e bijuterias em ambiente doméstico, apresentaram maiores concentrações de arsênio, cádmio e chumbo no sangue, assim como, maiores níveis de glicemia, quando comparados ao grupo Controle. Maiores concentrações de cádmio na urina dos trabalhadores informais e de seus familiares comparado aos controles e altas concentrações de EPTs em peças de joias e pó de solda analisadas evidenciam a exposição a metais nos cenários de exposição informal. Na população de Limeira, também foi observada uma associação positiva entre as concentrações de chumbo e arsênio no sangue e a prevalência de manifestações neurológicas, como por exemplo, dores de cabeça, problemas de sono, enxaqueca entre outros. Sendo que, participantes com concentrações de chumbo no sangue superiores a  $2,6 \mu\text{g dL}^{-1}$  apresentaram prevalência de manifestações neurológicas 2,3 vezes maior (IC 95%: 1,17 – 4,58;  $p = 0,02$ ) do que aqueles com concentrações mais baixas. Já as concentrações de cádmio no sangue foram positivamente associadas aos valores de glicemia.

Os trabalhadores formais de Volta Redonda não apresentaram diferenças estatísticas para as concentrações de EPTs no sangue e para as doenças e sintomas reportados comparado ao grupo Controle. Alguns fatores devem ser lavados em conta na interpretação desses resultados. A obrigatoriedade do uso de equipamento de proteção individual (EPI) parece ser um importante fator de proteção para os trabalhadores formais, enquanto a poluição do ar, resultante da atividade industrial, parece ser um importante fator de exposição para a população geral de Volta Redonda, refletindo em concentrações sanguíneas de EPTs semelhantes entre os grupos. Mesmo assim, foram encontradas diferenças na expressão gênica do grupo de trabalhadores formais comparado ao controle, sugerindo a existência de outros fatores de risco

que precisam ser estudados no futuro, como a exposição a outros poluentes e a misturas decorrentes da produção siderúrgica; e o impacto do trabalho em turnos na siderurgia.

Os resultados da análise transcriptômica indicam 49 genes diferencialmente expressos entre os trabalhadores informais e o grupo Controle de Limeira; e 70 genes diferencialmente expressos entre os trabalhadores formais da siderurgia e o grupo Controle de Volta Redonda. As diferenças na expressão gênica relacionadas à exposição ocupacional estão associadas, principalmente, à inflamação e às respostas imunes. Apesar das concentrações de EPTs no sangue dos participantes não serem elevadas, foi possível observar genes diferencialmente expressos nas duas populações expostas ocupacionalmente em comparação com os controles.

Os resultados apresentados nesta tese indicam que, ao longo do tempo, as exposições ocupacionais contribuem para respostas biológicas com potenciais desfechos em doenças crônicas. A identificação de padrões específicos de expressão gênica pode fornecer pistas sobre como as exposições ocupacionais podem alterar o transcriptoma humano e levar a mudanças nos padrões metabólicos. Nesta tese, os resultados exploratórios baseados na análise de microarrays geram um ponto de partida para estabelecer uma base para análises em populações sensíveis e pouco estudadas, especialmente de países em desenvolvimento. Análises adicionais devem ser realizadas para investigar efeitos diretos e validar associações causais.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES

Os resultados dessa tese fornecem evidências de que as exposições ocupacionais, sejam formais ou informais, têm o potencial de alterar os perfis de expressão gênica em humanos. Também foram identificadas associações entre a concentração de EPTs no sangue de trabalhadores informais e desfechos à saúde.

Foram observadas algumas diferenças significativas nas concentrações de EPTs no sangue entre os grupos em Limeira. Dentre todos os EPTs, devida atenção deve ser dada, principalmente, à exposição no trabalho informal ao chumbo, arsênio e cádmio. Estes elementos apresentaram concentrações significativamente maiores no sangue do grupo de trabalhadores informais, sendo que a concentração de cádmio também foi maior na urina. Somado a isso, as análises de raio-X nas peças de joias apontam concentrações acima dos limites da legislação brasileira para cádmio ( $100 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e chumbo ( $300 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e indicam que a composição do pó de solda é, predominantemente, de cádmio. As associações entre as concentrações de chumbo e arsênio no sangue com a prevalência de manifestações neurológicas, e das concentrações de cádmio no sangue com os valores de glicemia são relevantes. Outros resultados do grupo de pesquisa também apontam para valores acima dos limites ambientais e ocupacionais de chumbo e cádmio na zona de respiração dos trabalhadores informais (Ferreira et al., 2019); e apontam correlações entre os valores de arsênio e cádmio na poeira das casas e as concentrações no sangue de crianças expostas ao ambiente doméstico, onde o trabalho informal é realizado (Barrozo et al., 2022). Portanto, estes três elementos, comprovadamente, estão envolvidos no processo de produção.

Na cidade de Volta Redonda, não houve diferença estatística entre os grupos para a concentração de EPTs no sangue, o número de eventos de saúde e o poder amostral era pequeno para assumir associações para os desfechos. Mesmo assim, foram observadas diferenças na

expressão gênica dos trabalhadores formais comparada aos controles, portanto, outros fatores de risco precisam ser estudados para investigar as associações, incluindo outros poluentes e o trabalho em turnos. Também é imprescindível que se avalie a exposição ambiental da cidade, causada pela atividade da indústria siderúrgica, visto que as médias de alguns EPTs do grupo Controle de Volta Redonda apresentaram valores significativamente maiores do que o grupo Controle de Limeira, e outros estudos populacionais. Portanto, os níveis de poluição do ar, água e solo parecem ser um fator de risco importante para trabalhadores e moradores.

Com tais considerações finais destacadas, recomenda-se:

- A realização de mais estudos sobre os efeitos da exposição a elementos potencialmente tóxicos, seja ela de origem ocupacional e ou ambiental, a fim de ampliar o conhecimento sobre os seus efeitos a saúde. Foi possível observar diferenças na expressão gênica dos grupos, porém a identificação de associações diretas entre os genes, a concentração de EPTs no sangue e os desfechos clínicos podem ser aprofundadas. Estes estudos são fundamentais em países de menor renda *per capita*, onde diferentes condições de trabalho são impostas. Nestes casos, é importante caracterizar as diferentes condições para esclarecer se elas são comparáveis, além de incluir um número amostral suficiente e uma população representativa para desenvolver estratégias mais abrangentes de mitigação de riscos.
- A implementação de ações públicas de proteção à saúde do trabalhador, principalmente, entre os trabalhadores informais que são mais vulneráveis devido às condições econômicas e sociais, condições de higiene ocupacional, como a falta de uso de EPI, e ausência de benefícios e direitos. Monitorar a exposição e implementar intervenções para reduzir a exposição aos EPTs no ambiente de trabalho pode ser um passo significativo para a prevenção.
- O desenvolvimento e a implementação de política que integrem fatores econômicos e sociais são urgentes. Os trabalhadores informais representam uma parte importante da economia em países emergentes, mas não contam com o apoio de políticas

públicas e práticas de segurança. Neste estudo, por exemplo, a população de trabalhadores informais é composta exclusivamente por mulheres, que enxergam benefícios pessoais na realização desse tipo de trabalho, por ser uma forma de complementar a renda sem sair de casa. O trabalho doméstico na soldagem de joias permite que estas mulheres realizem as tarefas domésticas e cuidem dos seus filhos com um horário flexível de trabalho organizado por elas de forma independente e sem supervisor. Algumas das trabalhadoras relataram já terem trabalhado formalmente na indústria de joias, mas preferiram a informalidade, justamente, por esses benefícios. Portanto, as medidas propostas para evitar a contaminação por elementos tóxicos e garantir a proteção à saúde precisam, em primeiro lugar, criar condições nas quais estar sujeito a essa exposição não seja mais atraente. A criação de creches para as crianças, permitindo que as mães trabalhem fora de casa em melhores condições; e a criação de empregos formais com direitos garantidos e maior remuneração são cruciais. Além disso, é fundamental informar os trabalhadores sobre os riscos, promover melhores condições de saúde e segurança ocupacional, diminuir sua vulnerabilidade e evitar perdas econômicas.

- O treinamento e formação de profissionais de saúde que saibam identificar e tratar sintomas clínicos associados à exposição a EPTs é outra medida crucial. No cenário do trabalho informal doméstico, os agentes comunitários de saúde podem desempenhar um papel importante na prevenção de exposições, pois tem a confiança dos moradores e possuem contato direto e rotineiro com a população. Por meio de treinamento prévio, esses profissionais poderiam identificar fontes de exposição domiciliar e orientar medidas de mitigações dos riscos. No caso do trabalho formal em indústrias, esses profissionais podem auxiliar na identificação de sintomas e doenças relacionadas à exposição ocupacional.

- Os participantes deste estudo receberam os laudos com as concentrações dos EPTs no sangue e urina. Durante este estudo, a equipe de pesquisa recomendou que os médicos anexassem os resultados dos exames no prontuário dos pacientes que fossem até o posto de

saúde, a fim de registrar o histórico de exposição, no caso de doenças crônicas futuras. Os agentes de saúde, coordenadores e médicos do Centros de Saúde da Família de Limeira inseridos nesta pesquisa participaram de conversas com o grupo de pesquisa para entendimento dos principais sintomas e doenças relacionadas aos elementos avaliados neste estudo, assim como as possibilidades de tratamento.

- No ambiente doméstico, os trabalhadores foram orientados a afastar as crianças do cômodo de trabalho, ao menos durante a realização da atividade, e evitar o contato delas com os materiais de soldagem. Sempre que possível, foi indicado que a soldagem fosse realizada em ambiente arejado, seja ele externo ou com janelas e portas abertas, além disso, preferencialmente, em cômodo exclusivo, evitando que o trabalho fosse realizado na cozinha ou em áreas em comum com o restante da família. Também foram repassadas orientações de higiene para remoção do pó de solda das mãos, piso e mobília.

- Os resultados desta tese também apontam para a importância do uso de EPIs pelos trabalhadores formais da siderurgia. Porém, nos trabalhadores informais, o uso desse tipo de equipamento é raro, devido ao custo e disponibilidade. A orientação para que as trabalhadoras informais comprassem e utilizassem o EPI passa longe da realidade dessa população, portanto, acreditamos que o uso só seria frequente se fosse fornecido junto com as peças e materiais de soldagem pelas empresas que demandam do serviço.

- No ambiente de trabalho formal dentro da indústria siderúrgica é necessário seguir práticas básicas de segurança e prevenção de acidentes. Todas as empresas brasileiras têm a obrigatoriedade de cumprir com o disposto pelas normas regulamentadoras e fornecer, sem custo algum para o trabalhador, todos e quaisquer EPIs que se façam necessários. Somado a isso, todos os siderúrgicos têm direito ao adicional de insalubridade, como forma de compensar possíveis danos à saúde, e a exames e acompanhamento médicos periódicos. O investimento em saúde e segurança é necessário para um ambiente de trabalho seguro e



saudável. É importante realizar auditorias ou atividades de observação de segurança regularmente para rever programas de prevenção e reformular estratégias ultrapassadas. A atividade siderúrgica possui riscos intrínsecos que requerem um gerenciamento cuidadoso e complexo, que não se limita a proteger as pessoas da empresa, mas também inclui o meio ambiente, os ativos e a comunidade do entorno. Na cidade de Volta Redonda, medidas de controle e de mitigação de riscos são imprescindíveis e urgentes para diminuir o passivo ambiental da indústria siderúrgica. As montanhas de resíduos depositadas na margem do rio Paraíba, a contaminação do solo e da água e a poluição do ar na região obrigam a avaliação permanente e contínua da deterioração ambiental e seus efeitos sobre a saúde da população.

- Ações de educação ambiental também podem ser implementadas e inseridas nos currículos escolares e no atendimento de serviços de saúde. Estratégias de prevenção que envolvam a criação de websites e aplicativos interativos, são uma alternativa. Como exemplo, o projeto de prevenção de exposição ao chumbo desenvolvido por Olympio et al. (FSP/USP, 2021), em parceria com a Prefeitura de Suzano, a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), o Ministério da Saúde e a Organização Pan-Americana da Saúde.

- Criação de associações e cooperativas também são recomendadas, inclusive, para os trabalhadores informais. Dessa maneira, estes trabalhadores podem se organizar para a busca de objetivos e direitos comuns, além de representar uma forma de suporte e união da comunidade, promovendo a inclusão social.

- Por fim, o fortalecimento de políticas e programas para promoção da saúde e prevenção de doenças nos trabalhadores é fundamental. Aliado a isso, discussões entre as autoridades sanitárias e sociais dos municípios para definição de estratégias de atenção primária no SUS, desenvolvimento de protocolos clínicos padronizados para acompanhamento e tratamento de pessoas intoxicadas, e determinação de condições de trabalho decente são urgentes.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

Agnew UM, Slesinger TL. Zinc Toxicity. [Internet] 2023. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.

ALJ - Associação Limeirense de Joias [internet]. Limeira – A capital da Joia Folheada; 2014 [acesso em: 05 abr. 2015]. Disponível em: [http://www.alj.org.br/site/noticia\\_detalhes.php?ID\\_Noticia=756](http://www.alj.org.br/site/noticia_detalhes.php?ID_Noticia=756).

Atan L, Andreoni C, Ortiz V, Silva EK, Pitta R, Atan F, Srougi M. High kidney stone risk in men working in steel industry at hot temperatures. *Urology*. 2005;65(5):858-61. doi: 10.1016/j.urology.2004.11.048.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2005a. Toxicological profile for Nickel. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry 2005b. Toxicological Profile for Zinc. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2005c. Toxicological Profile for Tin and Compounds. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2007. Toxicological profile for Arsenic. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. doi: 10.15620/cdc:11481.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2012a. Toxicological profile for Cadmium. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2012b. Toxicological profile for Chromium. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2012c. Toxicological Profile for Manganese. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Services.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2019. Toxicological Profile for Antimony and Compounds. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Services.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2020. Toxicological profile for Lead. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. doi: 10.15620/cdc:95222.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2022a. Toxicological profile for Mercury. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2022b. Toxicological Profile for Copper. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Services.

Azevedo SV. População exposta ambientalmente a metais oriundos de resíduos industriais: uma avaliação do risco à saúde dos moradores de condomínio em Volta Redonda, RJ [tese]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, 2018.

Azevedo TM. Qualidade do sono em população exposta a metais e a hidrocarbonetos monoaromáticos presentes em resíduos de uma indústria siderúrgica [tese]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, 2023.

\*Estas referências são complementares àquelas anteriormente relacionadas nos manuscritos.

Bacon JR, Davidson CM. Is there a future for sequential chemical extraction? *The Analyst*. 2008; 133(1):25–46.

Borges RM. Avaliação da população residente na proximidade de depósito de rejeito de siderurgia por meio de biomarcadores de exposição e fatores de susceptibilidade [tese]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Fluminense, 2019.

Branco V, Aschner M, Carvalho C. Neurotoxicity of mercury: an old issue with contemporary significance. *Adv Neurotoxicol*, 2021; 5:239-262. doi: 10.1016/BS.ANT.2021.01.001.

Brunekreef B. Exposure Science, the Exposome, and Public Health. *Environ. mol. mutagen.* 2013;54:596-598. doi:10.1002/em.21767.

Buerck AM, Usowicz M, Cunningham JA, Khaliq M, Barrett LJP, Rakotoarisoa L, Rakotondrazaka R, Alfredo K, Sommariva S, Mihelcic JR. Health and Economic Consequences of Lead Exposure Associated with Products and Services Provided by the Informal Economy. *Environ Sci Technol*. 2021;55(12):8362-8370. doi: 10.1021/acs.est.0c08127.

Caldbeck S, Labonte R, Mohindra KS, Ruckert A. Globalization and the rise of precarious employment: the new frontier for workplace health promotion. *Glob Health Promot*. 2014;21(2):23-31. doi: 10.1177/1757975913514781.

Cetintepe SP, Iritas SB, Gunduzoz M, Alaguney ME, Wilson D, Bal C, Yilmaz OH, Tutkun L, Eun-Kee Park. Relation Between Lung Dysfunction and Blood Cadmium and Lead Levels Among Welders. *Expo Health*. 2019;11:13–19. doi:10.1007/s12403-017-0262-x.

Cheng SC, Scicluma BP, Arts RJW, Gresnigt MS, Lachmandas E, Giamarellos-Bourboulis EJ, Kox M et al. Broad defects in the energy metabolism of leukocytes underlie immunoparalysis in sepsis. *Nature Immunology*. 2016;17(4):406-13. doi: 10.1038/ni.3398.

Cherrie JW. Reducing occupational exposure to chemical carcinogens. *Occup. Med*. 2009; 59(2):96–100. doi:10.1093/occmed/kqn172.

CESTEH/ENSP/FIOCRUZ. Contaminação Ambiental no Condomínio Habitacional Volta Grande IV, Volta Redonda, RJ – Linha do Tempo. 2014. [acesso em 30 ago 2017]. Disponível em:

[http://www.voltaredonda.rj.gov.br/sms/images/ExperienciasExitosas2016/Apresentacao\\_Contaminacao\\_Ambiental\\_no\\_Condominio\\_Volta\\_Grande\\_IV.pdf](http://www.voltaredonda.rj.gov.br/sms/images/ExperienciasExitosas2016/Apresentacao_Contaminacao_Ambiental_no_Condominio_Volta_Grande_IV.pdf)

Cosgrove MP. Pulmonary fibrosis and exposure to steel welding fume. *Occupational Medicine*. 2015;65:706–712. doi:10.1093/occmed/kqv093.

Evans GR, Masullo LN. Manganese Toxicity. [Internet] 2023. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan–. PMID: 32809738.

Figueiredo, VCN. Morbidades referidas por trabalhadoras que produzem joias folheadas em Limeira, SP, *Rev. bras. Saúde Ocup*. 2011;36(124):247-57.

FSP/USP: Prevenção da contaminação por chumbo [internet]. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. [acesso em 05 set 2023]. Disponível em: <http://www.fsp.usp.br/prevencao-da-contaminacao-por-chumbo/>

Gemma SFB. Capítulo 2 – As Diferentes Camadas das Semijoias: foco no trabalho de produção em Limeira – SP. In: Gemma SFB, Lima FT, Viganô MMS, organizadores. *Produção de Semijoias em Limeira-SP: Conexões entre vida, trabalho e família*. [E-Book] BCCL/UNICAMP: Campinas/SP: 2021. Recurso digital, p. 102-120. doi: 10.20396/ISBN9786587175218.

Genchi G, Carocci A, Lauria G, Sinicropi MS, Catalano A. Nickel: Human Health and Environmental Toxicology. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(3):679. doi: 10.3390/ijerph17030679.

Goodman LA., Snowball sampling: *The Annals of Mathematical Statistics*, 1961; 32(1):148-70.

\*Estas referências são complementares àquelas anteriormente relacionadas nos manuscritos.

Guney M; Zagury GJ. Children's exposure to harmful elements in toys and low-cost jewelry: Characterizing risks and developing a comprehensive approach. *J Hazard. Mat.* 2014a; 271:321–330.

Guney M; Zagury GJ. Bioaccessibility of As, Cd, Cu, Ni, Pb, and Sb in Toys and Low-Cost Jewelry. *Environ. Sci. Technol.* 2014b, 48, 1238–1246.

Hill MK. *Understanding Environmental Pollution*. 3ed. New York, EUA: Cambridge University Press; 2010; p. 585.

Holland N. Future of environmental research in the age of epigenomics and exposomics. *Rev Environ Health.* 2016; 10p.

IARC. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs Supplement 7 – Lead and lead compounds. 2006. v 87: 230-2.

IARC. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs - Arsenic, metals, fibres and dusts. A review of Human Carcinogenic. Sup 7, 49, v 100C. 2012.

IARC. International Agency for Research on Cancer. Volume 131: Cobalt, antimony compounds, and weapons-grade tungsten alloy. IARC Working Group. Lyon, France; March 2–18, 2022. IARC Monogr Identif Carcinog Hazards Hum (in press).

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2021. Estimativas da População Residente no Brasil e Unidades da Federação com data de referência em 1º de julho de 2021. [acesso em 27 jul 2021]. Disponível em:

[https://ftp.ibge.gov.br/Estimativas\\_de\\_Populacao/Estimativas\\_2021/estimativa\\_dou\\_2021.pdf](https://ftp.ibge.gov.br/Estimativas_de_Populacao/Estimativas_2021/estimativa_dou_2021.pdf)

INEA. Instituto Estadual do Ambiente. Gerenciamento de Áreas Contaminadas do Estado do Rio de Janeiro - Cadastro de Áreas Contaminadas e Reabilitadas. Secretaria do Meio Ambiente. Governo do Rio de Janeiro. 2014. [acesso em ago 2023]. Disponível em: [http://arquivos.proderj.rj.gov.br/inea\\_imagens/downloads/areas\\_contaminadas/Relatorio\\_AreasContaminadasReabilitadas\\_1aEdicao.pdf](http://arquivos.proderj.rj.gov.br/inea_imagens/downloads/areas_contaminadas/Relatorio_AreasContaminadasReabilitadas_1aEdicao.pdf).

Li-Pook-Than J, Snyder M. iPOP goes the world: integrated Personalized Omics Profiling and the road towards improved health care. *Chem Biol.* 2013; 20(5):660–666. doi:10.1016/j.chembiol.2013.05.001.

Mathee A, Street R, Teare J, Naicker N. Lead exposure in the home environment: An overview of risks from cottage industries in Africa. *Neurotoxicology* 2020;81:34–39. doi:10.1016/j.neuro.2020.08.003.

Miller GW, Jones DP. The Nature of Nurture: Refining the Definition of the Exposome. *Toxicol. Sci.* 2014; 137(1):1–2. doi:10.1093/toxsci/kft251.

Oddone E, Scaburri A, Bai E, Modonesi C, Stracci F, Marchionna G, Crosignani P, Imbriani M. Occupational brain cancer risks in Umbria (Italy), with a particular focus on steel foundry workers. *G Ital Med Lav Ergon.* 2014;36(2):111-7.

O Globo [internet]. MP alerta que contaminação em Volta Redonda põe em risco o Paraíba do Sul; 2013 [acesso em set 2017]. Disponível em: <http://oglobo.globo.com/rio/mp-alerta-que-contaminacao-em-volta-redonda-poe-em-risco-paraiba-do-sul-8063117>.

Oliveira JGI, Paiva RFPS, Reis MM, Góis G. Poluição do ar e internações hospitalares por doenças respiratórias em Volta Redonda (RJ). *RBCIAMB.* 2020;55(1):72-88. doi: 10.5327/Z2176-947820200642.

Pavesi T, Moreira JC. Mechanisms and individuality in chromium toxicity in humans. *J Appl Toxicol.* 2020;40(9):1183-1197. doi: 10.1002/jat.3965.

Portal G1 [internet]. 'Pó preto' da CSN: a poluição que se espalha por Volta Redonda, afeta a saúde de moradores e deixou de ser fiscalizada pelas autoridades. Rio de Janeiro, 2023 [acesso em jul 2023]. Disponível em: <https://g1.globo.com/rj/rio-de-janeiro/noticia/2023/07/13/po-preto-da-csn-a-poluicao-que-se-espalha-por-volta-redonda-afeta-a-saude-de-moradores-e-deixou-de-ser-fiscalizada-pelas-autoridades.ghtml>.

Rappaport SM. Implications of the exposome for exposure science. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 2011;21:5–9. doi:10.1038/jes.2010.50.

Royer A, Sharman T. Copper Toxicity. [Internet] 2022 Mar 26. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan–. PMID: 32491388.

Saha JC, Dikshit AK, Bandyopadhyay M. A Review of Arsenic Poisoning and its Effects on Human Health. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 1999; 29(3):281–313. doi: 10.1080/10643389991259227.

Sarigiannis DA, Gotti GA, Reale C, Marafante E. Reflections on new directions for risk assessment of environmental chemical mixtures. *Int. J. Risk Assess. Manag.* 2009;13(3/4):216–41.

Sarigiannis DA, Salifoglou A. Research directives toward deciphering adverse outcome pathways induced by environmental metallotoxins. *Current Opinion in Chemical Engineering.* 2016;13:161–169. doi: 10.1016/j.coche.2016.09.010.

SBD. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020. Brasília: Sociedade Brasileira de Diabetes, 2019. 491 p. ISBN: 978-85-93746-02-4.

Sikder AM, Hossain T, Khan MH, Hasan MA, Fakhruzzaman M, Turner JB, Pestov D, McCallister LS, Elahi KM. Toxicity assessment of ash and dust from handmade gold jewelry manufacturing workshops in Bangladesh. *Environ Monit Assess* 2017;189: 279. doi:10.1007/s10661-017-5978-3.

Souza-Arroyo V, Fabián JJ, Bucio-Ortiz L, Miranda-Labra RU, Gomez-Quiroz LE, Gutiérrez-Ruiz MC. The mechanism of the cadmium-induced toxicity and cellular response in the liver. *Toxicology.* 2022;480:153339. doi: 10.1016/j.tox.2022.153339.

Sundar S, Chakravarty J. Antimony toxicity. *Int J Environ Res Public Health.* 2010;7(12):4267–77. doi: 10.3390/ijerph7124267.

Terra [internet]. Volta Redonda: moradores alegam ter sido contaminados por empresa; 2013 [acesso em: out 2017]. Disponível em: <https://www.terra.com.br/noticias/ciencia/sustentabilidade/meio-ambiente/volta-redonda-moradores-alegam-ter-sido-contaminados-por-empresa,7e24c4b74973e310VgnVCM4000009bcceb0aRCRD.html>.

Valenti C, Pozzi P, Busia A, Mazza R, Bossi P, De Marco C, Ruprecht AA, Borgini A, Boffi R. Respiratory illness and air pollution from the steel industry: the case of Piquiá de Baixo, Brazil (Preliminary report). *Multidisciplinary Respiratory Medicine*; 2016 11:41. doi: 10.1186/s40248-016-0077-9.

Vendramim MCS, Gemma SFB, Mata AS. Entre o trabalho e a escola: a infância suprimida na produção de semijoias e bijuterias. *Filos. e Educ.*, Campinas, SP. 2019;11(2):302–323. doi: 10.20396/rfe.v11i2.8657845.

Vilela RAG, Ferreira MAL. Nem tudo brilha na produção de joias de Limeira – SP. *Rev. Produção.* 2008;18(1):183–94.

Weidenhamer JD, Newman BE, Clever A. Assessment of leaching potential of highly leaded jewelry. *J Hazard Mater.* 2010;177(1-3):1150–2. doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.01.016.

WHO. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva; 1995. Disponível em: [http://www.unu.edu/unupress/food/FNBv27n4\\_suppl\\_2\\_final.pdf](http://www.unu.edu/unupress/food/FNBv27n4_suppl_2_final.pdf).

Wild CP. Complementing the genome with an “exposome”: The outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2005;14:1847–1850. doi:10.1158/1055-9965.EPI-05-0456

Yost JL, Weidenhamer JD. Accessible and total lead in low-cost jewelry items. *Integr Environ Assess Manag.* 2008;4(3):358–61. doi: 10.1897/IEAM\_2007-071.1.

## 8. ANEXOS

### ANEXO I

#### **Deliberação da CPG em sua sessão 9ª/2008 de 05/06/2008**

#### **Diretrizes para outra forma de apresentação de Tese e Dissertação dos Programas de Pós Graduação da Faculdade de Saúde Pública da USP**

- A **Dissertação de Mestrado** deve incluir, no mínimo, um manuscrito resultante do seu projeto de pesquisa de mestrado, submetido ou publicado em periódico arbitrado por pares, no período de sua matrícula no Programa.
- A **Tese de Doutorado** deve incluir, no mínimo, três manuscritos resultantes do seu projeto de pesquisa de doutorado, sendo que um deles não deve ter sido submetido ou publicado em periódico ou capítulo de livro. Os outros dois artigos devem ter sido submetidos ou publicados em periódicos ou capítulos de livro arbitrados por pares, no período de sua matrícula no Programa.
- São considerados como manuscritos: periódicos ou capítulos de livros. Em todos os manuscritos o candidato a Mestre ou Doutor deverá ser o primeiro autor.
- As Teses e Dissertações devem incluir obrigatoriamente:

**Apresentação:** descrição da estrutura do trabalho

**I. Introdução:** texto que sistematize o conhecimento existente e justifique o trabalho realizado.

**II. Objetivos**

**III. Metodologia:** descrição das definições, procedimentos e técnicas adotados para a realização do trabalho, não contempladas nos manuscritos apresentados.

**IV. Resultados e discussão:** onde serão inseridos os manuscritos que apresentam os resultados e discussão correspondente do trabalho realizado que permitam as conclusões e considerações finais.

**V. Conclusões ou considerações finais:** em que as contribuições do trabalho sejam sintetizadas.

**VI. Referências bibliográficas:** utilizadas no trabalho

**VII. Anexos**










- Os manuscritos devem ser formatados segundo as normas para publicação dos periódicos ou obras a que serão submetidos ou publicados.
- As referências bibliográficas devem ser apresentadas ao final de cada capítulo e, quando não se referirem aos manuscritos apresentados, devem seguir as normas gerais do Guia de Teses da FSP.

*Prof. Dr. Arlindo Philippi Jr.  
Presidente da CPG*

RSP

Revista de  
Saúde Pública<http://www.rsp.fsp.usp.br/>

## Is chemical exposure present in informal work associated with Sars-CoV-2 infection?

Fernanda Junqueira Salles<sup>1\*</sup> , Isabelle Nogueira Leroux<sup>2\*</sup> , Alda Neis Miranda de Araujo<sup>3</sup> , Nilson Antonio Assunção<sup>4</sup> , Maciel Santos Luz<sup>5</sup> , Glauca Raquel Luciano da Veiga<sup>6</sup> , Fernando Luiz Affonso Fonseca<sup>6,7</sup> , Fredi Alexander Diaz-Quijano<sup>8</sup> , Kelly Polido Kaneshiro Olympio<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Universidade de São Paulo. Faculdade de Saúde Pública. Departamento de Saúde Ambiental. São Paulo, SP, Brasil

<sup>2</sup> Universidade Federal de São Paulo. Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas. Diadema, SP, Brasil

<sup>3</sup> Instituto de Pesquisas Tecnológicas de São Paulo. Laboratório de Processos Metalúrgicos. São Paulo, SP, Brasil

<sup>4</sup> Centro Universitário Faculdade de Medicina do ABC. Laboratório Clínico. Santo André, SP, Brasil

<sup>5</sup> Universidade de São Paulo. Faculdade de Saúde Pública. Departamento de Epidemiologia. São Paulo, SP, Brasil

\* The first two authors warrant the same merit, having had the same level of participation in the data collection, statistical analysis, and manuscript writing.

### Correspondence:

Kelly Polido Kaneshiro Olympio  
Faculdade de Saúde Pública – USP  
Departamento de Saúde Ambiental  
Avenida Doutor Arnaldo, 715,  
Cerqueira César  
01246904 São Paulo, SP, Brasil  
E-mail: [kellypkz@usp.br](mailto:kellypkz@usp.br)

Received: May 5, 2022

Approved: Sep 16, 2022

**How to cite:** Salles FJ, Leroux IN, Araujo ANM, Assunção NA, Luz MS, Veiga GR, et al. Is chemical exposure present in informal work associated with Sars-Cov-2 infection? Rev Saude Publica. 2023;57(Suppl 1):115. <https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2023057004829>

**Copyright:** This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided that the original author and source are credited.



### ABSTRACT

**OBJECTIVE:** To compare the incidence of covid-19 symptoms between informal home-based workers and a control group and to assess the association of these cases with blood elements concentrations and other relevant risk factors for Sars-Cov-2 infection.

**METHODS:** Welders chemically exposed to potentially toxic elements (PTEs) (n = 26) and control participants (n = 25) answered questionnaires on adherence to social distancing and signs and symptoms of the disease for five months during the covid-19 pandemic. After follow-up, covid-19 serology tests were performed on a subsample of 12 chemically exposed workers and 20 control participants. Before the pandemic, PTE concentrations in blood (As, Mn, Ni, Cd, Hg, Sb, Sn, Cu, Zn, and Pb) were measured by ICP-MS.

**RESULTS:** The chemically exposed group had higher lead and cadmium levels in blood (p < 0.01). The control group presented lower adherence to social distancing (p = 0.016). Although not significant, welders had a 74% greater chance of having at least one covid-19 symptom compared with control participants, but their adherence to social distancing decreased this chance by 20%. The use of taxis for transportation was a risk factor significantly associated with covid-19 symptoms.

**CONCLUSION:** The lower adherence to social distancing among the control group greatly influences the development of covid-19. The literature lacks data linking exposure to PTEs and Sars-Cov-2 infection and/or severity. In this study, despite chemical exposure, working from home may have protected welders against covid-19, considering that they maintained greater social distancing than control participants.

**DESCRIPTORS:** Chemical Compound Exposure. Occupational Exposure. Informal Sector. Physical Distancing. COVID-19.

## INTRODUCTION

Exposure to potentially toxic elements (PTEs) occurs in many occupational activities. Welding materials can include metal alloys, mixtures made of different steels and chemical elements, which can be inhaled in the form of welding fumes. Thus, welding is one of the occupations most associated with respiratory diseases<sup>1,2</sup>. Contamination by PTEs can cause other adverse effects to health and the environment. This risk is even higher when occupational activities are informal and performed at home, where families may be at risk of occupational exposure in the absence of occupational hygiene<sup>3</sup>.

Exposure to pollutants, overcrowded housing, and socioeconomic stress are conditions that may promote greater susceptibility and the development of more severe symptoms of infectious diseases<sup>4</sup>, including covid-19, which is caused by the new coronavirus. In 2020, one in six people infected with covid-19 become seriously ill and experience breathing difficulties. Older adults and individuals with underlying health conditions, such as high blood pressure, heart and lung problems, diabetes, or cancer, are at increased risk of becoming seriously ill<sup>5</sup>.

Informal, home-based, and outsourced welders are influenced by their internal exposome and studies on associations with diseases should consider this type of occupational activity<sup>6</sup>. In 2019, a proteomic study based on the saliva of informal and home-based jewelry welders showed that exposure to PTEs (As, Cr, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb, and Zn) modulates protein expression. According to the results, welders may have immunity problems and their genes were overrepresented in metabolic processes, catalytic activity, stimulus-response, response to toxic substances, metabolism activity, apoptosis, changes in the cell cycle, and stress response<sup>7,8</sup>.

The global scenario of the covid-19 pandemic has increased the importance of assessing this type of occupational exposure and the negative health effects related to infectious diseases. Thus, this study aimed to compare the incidence of covid-19 symptoms between home-based and informal workers engaged in jewelry and fashion jewelry production and a control group, assessing the association of symptomatic episodes with blood metal concentrations and other relevant risk factors for Sars-Cov-2 infection.

## METHODS

### Study Population

This longitudinal study included home-based and informal jewelry welders of a local productive arrangement in the city of Limeira, São Paulo, and a control group with individuals who lived in the same neighborhood as the workers, but were not engaged in an occupational activity associated with chemical exposure.

The local productive arrangement is an important jewelry and fashion jewelry production center in Brazil, responsible for 60% of the country's jewelry production<sup>9</sup>. Previous studies published by the research group present further details on the work processes and characteristics of informal home-based activities<sup>10-13</sup>.

All adults participating in a preliminary study (*A era "omics" voltada para a sociedade: o impacto do trabalho formal e informal sobre o exposoma dos trabalhadores com ênfase em metabólica, transcriptômica e lipídica*) were invited to participate in this study. The initial recruitment was performed with the help of community agents of family health centers. All participants were women, in order to standardize this variable. Participants in the exposed group performed jewelry welding at home. Participants in the control group lived in the same neighborhood as the workers (at least four houses away) and performed no activity with chemical exposure. Usually, they worked outside the home. Participants who met this inclusion criterion, agreed to participate in the



study, and signed the informed consent form were included. Women younger than 18 years and who were pregnant or diagnosed with cancer were excluded.

Welders occupationally and chemically exposed to PTEs ( $n = 26$ ) and control participants ( $n = 25$ ) were followed up for five months during the covid-19 pandemic (June to September and December 2020) for the characterization of symptoms and preventive behaviors. With a sample size of 51 participants, ratio differences of 40% with a power of 80% could be found for dichotomic variables, as well as differences in means that exceed 1.2 times the standard deviation between samples with a power of 85% for quantitative variables (EpiData, version 3.11). At the end of the follow-up, covid-19 serology tests were performed on a subsample of 32 participants who agreed to undergo the test, including 12 from the chemically exposed group and 20 from the control group (Figure).

### Determination of Metals in Blood

Before the pandemic, PTE concentrations in the blood of participants (As, Mn, Ni, Cd, Hg, Sb, Sn, Cu, Zn, and Pb) were measured using an inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS Thermo, iCAP TQ ICP-MS, Bremen, Germany). Blood samples (6 mL) were collected in October 2019 at the participants' home and stored in heparin trace element-free tubes (Vacutainer®). Samples were diluted 1:50 in a 15 mL Falcon® polypropylene tube (Becton Dickinson) with a solution of 0.01% ( $v v^{-1}$ ) Triton® X-100, 0.5% ( $v v^{-1}$ ) nitric acid, and 1 mL of an internal standard solution of Y, Ga, Ir, and Tb. High purity deionized water (resistivity: 18.2 M  $\Omega$  cm at 25°C) was used to prepare samples and solutions. Quality control of analytical results was performed by calibration curves, blank analysis, and an analysis of the certified reference material (Seronorm® TE Whole Blood Level II, Stasjonsveien) for every 15 samples. A deviation between replicates (RSD) of 30% was considered.

### Self-reported covid-19 Monitoring Questionnaire

During the pandemic, all participants answered questionnaires via Google Forms every 30 days for five months to provide information on adherence to social distancing (days

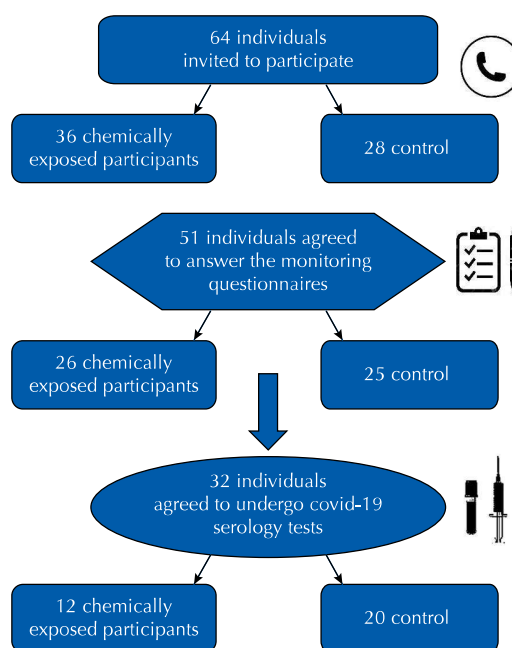


Figure. Flowchart of participant adherence throughout the study.

and hours away from home per week and the use of public transportation) and signs and symptoms of the disease (cough, congestion, sore throat, headache, conjunctivitis, diarrhea, loss of taste or smell, shortness of breath, and fever). Participants also answered questions on their current working conditions and the effect of the pandemic on their jobs (continuity, decrease, or interruption of activities). Thus, information included all symptoms perceived from October 2020 to the day of serology tests (December 2020). Throughout the five-month follow-up, 197 observations were collected from the 51 participants and 69 symptomatic episodes were identified.

### Serology Tests

The material for blood collection was prepared at the Laboratory for the Analysis of Human Exposure to Environmental Contaminants of the School of Public Health of the Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil. Blood collection was performed by an experienced nurse at the participants' home by prior appointment. Venous blood was collected in BD Vacutainer® EDTA tubes.

After blood collection, samples were labeled and transported in an ice box to the laboratory of the Faculdade de Medicina do ABC, where antibody serology tests were performed. First, samples were centrifuged to separate the serum. Then, 10 µL of serum was diluted to 1.0 mL in the sample buffer and mixed thoroughly using a vortex. Analyses were performed for total antibodies and IgG, which was detected using Euroimmun Elisa tests (Euroimmun US, Inc., NJ, USA). In these tests, the antigen is the structural recombinant protein, the S1 subunit of the SARS-CoV-2 spike protein, which is more specific than other antigens. The Advia Centaur® SARS-CoV-2 Total (COV2T) assay (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., NY, USA) was used for *in vitro* diagnostics in the qualitative detection of total antibodies (including IgG and IgM) to help with the diagnosis of patients with suspected SARS-CoV-2 infection and the identification of patients with an adaptive immune response, pointing to a recent or previous infection.

### Statistical Analysis

The chemically exposed and control groups were compared using chi-square tests for dichotomous variables (adherence to social distancing, days away from home per week, hours spent away from home when going out, use of public transportation, and positive or negative results of serology tests). Moreover, the t-test (parametric) was used to compare continuous variables (age and Mg, Ni, Zn, and Sn concentrations in blood). The Mann–Whitney test (nonparametric) was used for body mass index (BMI) and Cr, Co, As, Cd, Hg, and Pb concentrations in blood. The frequency of symptoms (cough, congestion, sore throat, loss of taste or smell, shortness of breath, and fever) and the difference between symptoms in the groups were assessed (Fisher's exact test or chi-square test).

Participants' symptoms were also analyzed by assessing the incidence of a composite outcome defined for the presence of at least one covid-19 symptom (cough, congestion, sore throat, loss of taste or smell, shortness of breath, and fever) during repeated assessments. Later, the associations between this composite outcome and variables, such as social distancing parameters and PTE levels, were assessed using random-effect logistic regression, considering the participant as the clustering variable. Statistical analysis was performed using Stata 14.2.

## RESULTS

Table 1 presents PTE levels in the blood of participants, their age, and BMI, which are considered risk factors for Sars-Cov-2 infection. BMI was statistically higher in the control group compared with the chemically exposed group ( $p = 0.01$ ) and lead (Pb) and

cadmium (Cd) levels in blood were higher in the chemically exposed group ( $p = 0.01$  and  $p < 0.001$ , respectively).

Headache, congestion, and cough were the most frequent symptoms (45.2%, 19.3%, and 15%, respectively). Congestion was the only symptom that statistically differed between groups ( $p = 0.02$ ), as it was more frequently among welders. Other symptoms had borderline significance ( $p = 0.05$ ) at different points during follow-up: cough and diarrhea were more prevalent among welders while control participants reported more tiredness. Table 2

**Table 1.** Age, body mass index (BMI), and potentially toxic element (PTE) distribution by group in Limeira, SP, Brazil.

Variable	Chemically exposed		Control		Total		p-value
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Age (years old)	37.23	11.54	35.32	9.19	36.29	10.40	0.52
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.89	7.47	30.76	6.41	29.53	7.01	0.01
Chromium (µg L <sup>-1</sup> )	1.22	0.81	1.50	1.64	1.36	1.28	0.58
Manganese (µg L <sup>-1</sup> )	8.98	3.57	8.12	2.58	8.56	3.12	0.33
Nickel (µg L <sup>-1</sup> )	3.31	1.64	3.13	1.71	3.22	1.65	0.73
Copper (µg L <sup>-1</sup> )	1,119.77	230.00	1,174.40	210.71	1,146.55	220.28	0.37
Zinc (µg L <sup>-1</sup> )	4,360.99	1,118.09	4,492.29	1,133.27	4,425.35	1,116.21	0.68
Arsenic (µg L <sup>-1</sup> )	0.44	0.22	0.97	2.11	0.70	1.49	0.42
Cadmium (µg L <sup>-1</sup> )	1.13	1.55	0.15	0.35	0.66	1.24	< 0.001
Tin (µg L <sup>-1</sup> )	0.97	0.26	0.95	0.34	0.96	0.30	0.83
Mercury (µg L <sup>-1</sup> )	1.24	0.57	1.16	0.94	1.20	0.77	0.16
Lead (µg dL <sup>-1</sup> )	2.15	1.53	1.09	0.51	1.63	1.26	0.01

**Table 2.** Prevalence of social distancing, symptoms, and covid-19 during the five-month follow-up (197 observations) by group in Limeira, SP, Brazil.

Variable	Chemically exposed		Control		Total		p-value
	n = 86	43.6%	n = 111	56.4%	n = 197	100%	
Presence of covid-19 symptoms							0.098
Yes	36	41.86%	33	29.73%	69	35.03%	
No	50	58.14%	78	70.27%	128	64.97%	
Adherence to social distancing							0.018
Yes	73	84.88%	78	70.27%	151	76.65%	
No	13	15.12%	33	29.73%	46	23.35%	
Days away from home per week							< 0.0001
≤ 4 days	77	89.53%	67	60.53%	144	73.10%	
> 4 days	9	10.47%	44	39.64%	53	26.90%	
Hours spent away from home when going out							< 0.0001
≤ 4 hours	76	88.37%	73	65.77%	149	75.63%	
> 4 hours	10	11.63%	38	34.23%	48	24.37%	
Use of public transportation							
Bus (n = 17)	2	11.76%	15	88.24%	17	100%	0.005
Car via transport apps (n = 44)	23	52.27%	21	47.73%	44	100%	0.228
Taxi (n = 8)	3	37.50%	5	62.50%	8	100%	1.000
Serology test (n = 32)							0.139
Positive (n = 11)	2	18.18%	9	81.82%	11	100%	
Negative (n = 21)	10	45.45%	11	54.38%	22	100%	

shows the prevalence of adherence to covid-19 preventive behaviors and symptomatic episodes in the exposed group.

The control group presented lower adherence to social distancing than the chemically exposed group ( $p = 0.02$ ), corroborating the greater number of days and hours spent away from home ( $p < 0.0001$ ) and the higher use of public transportation, such as the bus, by control participants ( $p = 0.006$ ) compared with chemically exposed participants. This result is in line with participants' occupational activities, since welders performed informal home-based work whereas control participants needed to leave home for work several days per week and stay out for longer periods.

The covid-19 pandemic affected the occupational activity of the chemically exposed group, which decreased or was interrupted more frequently than the activities of the control group ( $p < 0.001$ ). During follow-up, 41.4% of informal welders reported a reduction in the amount of work and 31% stopped working during the pandemic. For the control group, work conditions were quite different: for 36% of control participants, the pandemic did not affect their work, and 39% were not working before the pandemic.

In total, 63% of participants agreed to undergo covid-19 serology tests ( $n = 32$ ), especially control participants ( $n = 20$ ). Among participants who refused to undergo the test, 73.7% were from the chemically exposed group ( $p = 0.012$ ) and most of them did not present the composite outcome of covid-19 symptoms (74.1%;  $p = 0.04$ ; Table 3).

We observed no significant association between test results and covid-19 symptoms, as presented by the composite outcome ( $p = 0.96$ ). The results of serology tests also did not differ statistically between the two groups ( $p = 0.102$ ). PTE levels were also similar for both positive and negative test results, except for Pb ( $p = 0.0306$ ), as its levels were higher in participants who tested negative ( $1.87 \pm 1.32 \mu\text{g dL}^{-1}$ ) compared with those who tested positive ( $0.99 \pm 0.53 \mu\text{g dL}^{-1}$ ).

We analyzed associations between covid-19 symptoms and risk factors or preventive behaviors using random-effect logistic regression, considering the participant as the clustering variable. Although not significant, chemically exposed participants had a 74% higher chance of having at least one covid-19 symptom compared with the control group, however, adherence to social distancing decreased these chances by 20%. The use of taxis for transportation was significantly associated with symptoms, as the odds ratio of the composite outcome for users was 6.04 times greater than for non-users (Table 4). When adjusted for age and BMI, the odds ratio of the composite outcome for taxi users was 4.82 greater than for non-users (95%CI: 0.74–31.52;  $p = 0.10$ ).

**Table 3.** Observations considering the presence of covid-19 symptoms throughout the follow-up, according to participants' acceptance of being tested for covid-19 and groups.

Accepted being tested for covid-19	Observations with the presence of Covid-19 symptoms						p-value
	Yes		No		Total		
	n	%	n	%	n	%	
Chemically exposed group							0.043
Yes	29	49.15	30	50.85	59	100	
No	7	25.93	20	74.07	27	100	
Control group							0.104
Yes	27	27.27	72	72.73	99	100	
No	6	50.00	6	50.00	12	100	
Total							0.805
Yes	56	35.44	102	64.56	158	100	
No	13	33.33	26	66.67	39	100	

**Table 4.** Associations with 95% confidence interval (95%CI) between the composite outcome (the presence of at least one covid-19 symptom) and risk factors (n = 197 observations) in Limeira, SP, Brazil.

Risk factor	OR	95%CI	p-value
Group (chemically exposed or control)	1.74	0.83–3.68	0.14
Age (years old)	1.00	0.97–1.04	0.83
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.99	0.93–1.06	0.85
Chromium (ppb)	0.88	0.64–1.21	0.43
Manganese (ppb)	1.08	0.95–1.22	0.26
Nickel (ppb)	1.11	0.84–1.46	0.48
Copper (ppb)	1.00	1.00–1.00	0.50
Zinc (ppb)	1.00	1.00–1.00	0.91
Arsenic (ppb)	1.01	0.75–1.35	0.96
Cadmium (ppb)	1.09	0.80–1.49	0.59
Tin (ppb)	3.65	0.84–15.84	0.08
Mercury (ppb)	0.64	0.31–1.30	0.22
Lead (µg/dL)	1.22	0.89–1.68	0.22
Adherence to social distancing	0.80	0.34–1.86	0.60
Days away from home per week	1.02	0.87–1.19	0.83
Hours spent away from home when going out	1.09	0.86–1.38	0.48
Use of public transportation	1.25	0.34–1.87	0.61
Bus use	1.95	0.59–6.44	0.28
Car use via transport apps	0.96	0.43–2.18	0.93
Taxi use	6.04	1.05–34.87	0.04

## DISCUSSION

This study shows the incidence of symptomatic Sars-Cov-2 infections during the current pandemic. We found no statistical difference concerning this outcome, but the odds ratio of having covid-19 symptoms was higher for chemically exposed participants and the number of positive serology tests was greater in the control group. Moreover, we observed a relationship between using taxis and the incidence of this outcome, suggesting that factors related to transportation represent a key contributor to the risk associated with these respiratory diseases.

The results of this study showed no significant difference in covid-19 incidence between the two groups, although the control group had a greater number of positive serology tests for the SARS-CoV-2 antibody. This group probably had more cases due to lower adherence to social distancing and the need to work away from home several days per week. Social distancing is a primary tool and an effective strategy to combat the transmission of the coronavirus<sup>14,15</sup>. However, evidence shows systematic differences in adherence to social distancing among income levels and lower-income communities are typically more at risk of covid-19<sup>16</sup>. This factor has an important influence in Brazil, considering social and regional inequalities that require urgent economic measures to guarantee a minimum income for more vulnerable populations and ensure employment protection for salaried workers<sup>17</sup>.

Welders are probably at higher risk of having covid-19 symptoms because they are exposed to toxic elements during their occupational activities, which can cause adverse health effects. The protein expression of welders shows that they may have immunity problems<sup>7</sup>. According to previous studies<sup>11,13</sup>, Cd and Pb levels in urine and blood may explain some immunotoxic effects. Cd is involved in the modulation of immune responses and associated with the development of abnormal inflammatory responses and cytokine

and chemokine production, which may result in tissue damage, organ dysfunction, and increased susceptibility to infections<sup>18</sup>. The effects of Pb on the immune system are not well-established, however, studies suggest that it can affect immune response by changing T helper cell function, decreasing peripheral blood populations, and increasing susceptibility to autoimmunity and hypersensitivity<sup>19,20</sup>. Thus, this is a high-risk group mainly due to the uncontrolled occupational activity, which is responsible for the chemical exposure that pose a health risk to workers, their relatives, and children sharing the same household<sup>11,21</sup>.

Some welders already had respiratory symptoms before the pandemic, caused mainly by occupational exposure, which may explain the lack of association between covid-19 test results and symptoms. In a descriptive analysis performed in 2019, before the covid-19 pandemic<sup>22</sup>, the symptom of shortness of breath was statistically different between groups ( $p = 0.004$ ; 88.9% of the chemically exposed group versus 11.1% of the control group). Moreover, 40.9% of the sample had bronchitis, asthma, or upper respiratory infections (sinusitis, rhinitis, otitis, pharyngitis, tonsillitis). Welders are at risk of developing various respiratory signs and symptoms, since they are exposed to fumes made of a complex mixture of toxic elements<sup>1,23</sup>. Studies confirmed the association between welding and reduced pulmonary function, chronic bronchitis, and increased prevalence of wheezing<sup>2,23,24</sup>. Based on evidence from human and animal studies, the International Agency for Research on Cancer<sup>25</sup> classified welding fumes as possibly carcinogenic to humans. According to the Occupational Safety and Drug Administration, exposure to welding fumes can cause respiratory problems, cancer, ulcers, damage to the kidneys and nervous system, among other diseases<sup>26</sup>.

Besides its direct effect on respiratory physiology, exposure to toxic metals in welding fumes significantly modulate immune mechanisms, increasing welders' susceptibility to respiratory infections<sup>1,27</sup>. The adverse effects of toxic environmental and occupational exposure deteriorate the immune system, reducing barrier function, worsening airway inflammation, oxidative stress, and apoptosis, and increasing the likelihood of comorbidities, symptom severity, and covid-19 mortality<sup>4,28</sup>. Data show that As, Cd, Hg, and Pb exposure is associated with respiratory dysfunction and the severity of respiratory diseases, including influenza and pneumonia<sup>28</sup>.

In this study, participants who tested negative for the SARS-CoV-2 antibody had the highest Pb concentrations in blood, which may be due to possible immunosuppressive effects of Pb. This element can affect humoral immune response by reducing IgA and IgG production<sup>29,30</sup>. Pb levels in the blood of welders are associated with a significant lack of T helper lymphocytes, IgG, IgM, C3, C4 complement levels, chemotaxis, and neutrophil migration<sup>31</sup>. Jusko et al.<sup>32</sup> found that the odds of children seronegative to measles, mumps, and rubella increased with higher Pb concentrations in blood, which shows potential immunosuppression at Pb concentrations in blood  $< 5 \mu\text{g dL}^{-1}$ .

The only risk factor with a significant association with covid-19 symptoms was the use of taxis for transportation. Previous studies presented evidence on human-to-human transmission of covid-19 in public transport vehicles, such as trains, buses, and airplanes<sup>33</sup>. Public transports are confined spaces conducive for the transmission of infectious diseases caused by respiratory viruses and may play a crucial role in the nationwide spread of covid-19<sup>33,34</sup>. To prevent or control the spread of the disease, improving health education of passengers and drivers on the use of masks and hand hygiene and the ventilation and disinfection of vehicles is paramount<sup>34</sup>.

This study cannot exclude cross-reactivity with SARS-CoV-1 due to the high degree of similarity between S1 of SARS-CoV-1 and SARS-CoV-2. However, SARS-CoV-1 has not circulated since 2003 and specific antibodies were not detected until many years after infection. Thus, the presence of SARS-CoV-1 antibodies in this population is highly unlikely<sup>35</sup>. The performance of other tests to diagnose covid-19, the number of samples

analyzed, the nutritional status of participants, and the duration of the observation period can be limitations of this study. The sample size used may produce inaccurate estimates, with wide confidence intervals. Moreover, the power of the study may be insufficient to identify all associations. However, the interpretation of odds ratios shows associations between chemical exposure and covid-19 symptoms. These results point insights raised in an exploratory study. The associations observed between transportation (taxi) and the prevalence of covid-19 symptoms reinforce other studies that found robust associations<sup>33,36</sup>. Although the symptom outcome may have other etiologies, acute syndromes are relevant in a pandemic context. Moreover, if we considered a non-differential lack of specificity between different levels of exposure, the association could be even greater with real covid-19 cases<sup>37</sup>.

## CONCLUSION

This study showed results for a population with difficult access and very peculiar characteristics due to informal work and chemical exposure. The literature lacks data linking exposure to PTEs and Sars-Cov-2 infection and/or severity. Both epidemiological and laboratory studies are required to characterize the association between this exposure and the risk of covid-19. Individual differences in immune defense, nutrient supply, age, sex, comorbidities, socioeconomic class, as well as environmental exposure and its role in susceptibility to infectious diseases, need to be further studied and understood. Despite chemical exposure, working from home may have protected welders against covid-19, considering that they maintained greater social distancing than control participants.

We found no significant association between the results of serology tests and the incidence of covid-19 symptoms between groups, although most positive tests belonged to the control group. This may be due to lower adherence to social distancing in this group, along with the greater number of days and hours spent away from home and the higher use of public transportation. The use of taxis for transportation was significantly associated with covid-19 symptoms and users had 6.04 times greater odds of the outcome composite than non-users. Therefore, lower adherence to social distancing among control participants, who need to leave home for work, is probably the major influence on the development of covid-19. However, welders had 74% greater odds of having covid-19 symptoms than the control group, although adherence to social distancing decreased these odds by 20%. Further studies are needed to deeper understand the effect of chemical exposure on Sars-Cov-2 infection.

## REFERENCES

1. Antonini JM, Lewis AB, Roberts JR, Whaley DA. Pulmonary effects of welding fumes: review of worker and experimental animal studies. *Am J Ind Med.* 2003 Apr;43(4):350-60. <https://doi.org/10.1002/ajim.10194>
2. Mehrifar Y, Zamanian Z, Pirami H. Respiratory Exposure to Toxic Gases and Metal Fumes Produced by Welding Processes and Pulmonary Function Tests. *Int J Occup Environ Med.* 2019 Jan;10(1):40-9. <https://doi.org/10.15171/ijoem.2019.1540>
3. Teare J, Kootbodien T, Naicker N, Mathee A. The extent, nature and environmental health implications of cottage industries in Johannesburg, South Africa. *Int J Environ Res Public Health.* 2015 Feb;12(2):1894-901. <https://doi.org/10.3390/ijerph120201894>
4. Yao Y, Lawrence DA. Susceptibility to COVID-19 in populations with health disparities: posited involvement of mitochondrial disorder, socioeconomic stress, and pollutants. *J Biochem Mol Toxicol.* 2021 Jan;35(1):e22626. <https://doi.org/10.1002/jbt.22626>
5. Organização Pan-Americana da Saúde. Folha informativa sobre COVID-19. OPAS; 2020[cited 2021 Mar 26]. Available from: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=6101:covid19&Itemid=875](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=6101:covid19&Itemid=875)

6. Olympio KP, Salles FJ, Ferreira AP, Pereira EC, Oliveira AS, Leroux IN, et al. The human exposome unraveling the impact of environment on health: promise or reality? *Rev Saúde Pública*. 2019 Jan;53(6):6. <https://doi.org/10.11606/S1518-8787.2019053000649>
7. Araujo AN. Avaliação do perfil proteômico na saliva em trabalhadores da cadeia produtiva de joias, semijoias e bijuterias de Limeira, SP [dissertation]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2019.
8. Araujo AN, Furtado DZ, Silva HD, Olympio KP, Assunção NA. Evaluation of the proteomic profile in saliva of Brazilian home-based and informal workers. In: 33rd Annual Conference of the International Society for Environmental Epidemiology/ISEE 2021, August 23-26, Columbia University Mailman School of Public Health, New York, United States. 2021a. <https://doi.org/10.1289/isee.2021.P-060>
9. Lacorte LE, Vilela RA, Silva RC, Chiesa AM, Tulio ES, Franco RR, et al. [The knots of the child labor eradication network within the jewelry and costume jewelry production in Limeira, São Paulo, Brazil]. *Rev Bras Saúde Ocup*. 2013;38(128):199-215. [Portuguese]. <https://doi.org/10.1590/S0303-76572013000200009>
10. Salles FJ, Sato AP, Luz MS, Fávoro DI, Ferreira FJ, Paganini WS, et al. The environmental impact of informal and home productive arrangement in the jewelry and fashion jewelry chain on sanitary sewer system. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018 Apr;25(11):10701-13. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1357-z>
11. Ferreira AP, Pereira EC, Salles FJ, Silva FF, Batista BL, Handakas E, et al. Home-based and informal work exposes the families to high levels of potentially toxic elements. *Chemosphere*. 2019 Mar;218:319-27. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.083>
12. Pereira EC, Ferreira AP, Sato AP, Fischer FM, Olympio KP. Home-based outsourced informal work by children and adolescents impacts sleep and leisure—a preliminary study. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2020 Sep;27(26):32754-61. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09551-0>
13. Salles FJ, Tavares DJ, Freire BM, Ferreira AP, Handakas E, Batista BL, et al. Home-based informal jewelry production increases exposure of working families to cadmium. *Sci Total Environ*. 2021a;785:147297. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147297>
14. Kucharski AJ, Klepac P, Conlan AJ, Kissler SM, Tang ML, Fry H, et al. Effectiveness of isolation, testing, contact tracing, and physical distancing on reducing transmission of SARS-CoV-2 in different settings: a mathematical modelling study. *Lancet Infect Dis*. 2020 Oct;20(10):1151-60. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30457-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30457-6)
15. Matrajt L, Leung T. Evaluating the effectiveness of social distancing interventions to delay or flatten the epidemic curve of coronavirus disease. *Emerg Infect Dis*. 2020 Aug;26(8):1740-8. <https://doi.org/10.3201/eid2608.201093>
16. Weill JA, Stigler M, Deschenes O, Springborn MR. Social distancing responses to COVID-19 emergency declarations strongly differentiated by income. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020 Aug;117(33):19658-60. <https://doi.org/10.1073/pnas.2009412117>
17. Aquino EM, Silveira IH, Pescarini JM, Aquino R, Souza-Filho JA, Rocha AS, et al. Social distancing measures to control the COVID-19 pandemic: potential impacts and challenges in Brazil. *Cien Saúde Colet*. 2020;25(suppl 1):2423-2446. <https://doi.org/10.1590/1413-81232020256>
18. Hossein-Khannazer N, Azizi G, Eslami S, Alhassan Mohammed H, Fayyaz F, Hosseinzadeh R, et al. The effects of cadmium exposure in the induction of inflammation. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2020 Feb;42(1):1-8. <https://doi.org/10.1080/08923973.2019.1697284>
19. Mishra KP, Rani R, Yadav VS, Naik S. Effect of lead exposure on lymphocyte subsets and activation markers. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2010 Sep;32(3):446-9. <https://doi.org/10.3109/08923970903503668>
20. Fenga C, Gangemi S, Di Salvatore V, Falzone L, Libra M. Immunological effects of occupational exposure to lead. *Mol Med Rep*. 2017 May;15(5):3355-60. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6381>
21. Barrozo F, Olympio KP. Conditions of home-based and informal work of jewelry and fashion jewelry production in Brazil. In: Abstract E-book of the 32nd Annual Conference of the International Society for Environmental Epidemiology; 2020 August 24-27. [cited 2021 Aug 30]. p. 396. Available from: [https://isee2020virtual.org/wp-content/uploads/sites/122/2020/09/ISEE2020Virtual\\_Abstract\\_Book\\_EPosters.pdf](https://isee2020virtual.org/wp-content/uploads/sites/122/2020/09/ISEE2020Virtual_Abstract_Book_EPosters.pdf)



22. Salles F, Luz MS, Olympio KP. Occupational exposure to potentially toxic elements in home-based and informal workers. In: 33rd Annual Conference of the International Society for Environmental Epidemiology; 2021 August 23-26. Columbia University Mailman School of Public Health, 2021[2021 Aug 30].
23. Riccelli MG, Goldoni M, Poli D, Mozzoni P, Cavallo D, Corradi M. Welding fumes, a risk factor for lung diseases. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(7):2552. <https://doi.org/10.3390/ijerph17072552>
24. Lillienberg L, Zock JP, Kromhout H, Plana E, Jarvis D, Torén K, et al. A population-based study on welding exposures at work and respiratory symptoms. *Ann Occup Hyg*. 2008 Mar;52(2):107-15. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mem063>
25. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Welding In: International Agency for Research on Cancer. Chromium, nickel, and welding. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Geneva: IARC; 1990. p. 447-525.
26. Fact Sheet OS. Controlling Hazardous fume and gases during welding. OSHA FactSheet. 2013[cited 2021 Feb 16]. Available from: [https://www.osha.gov/sites/default/files/publications/OSHA\\_FS-3647\\_Welding.pdf](https://www.osha.gov/sites/default/files/publications/OSHA_FS-3647_Welding.pdf)
27. Marongiu A, Hasan O, Ali A, Bakhsh S, George B, Irfan N, et al. Are welders more at risk of respiratory infections? Findings from a cross-sectional survey and analysis of medical records in shipyard workers: the WELSHIP project. *Thorax*. 2016 Jul;71(7):601-6. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2015-207912>
28. Skalny AV, Lima TR, Ke T, Zhou JC, Bornhorst J, Alekseenko SI, et al. Toxic metal exposure as a possible risk factor for COVID-19 and other respiratory infectious diseases. *Food Chem Toxicol*. 2020 Dec;146:111809. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111809>
29. Ayatollahi M. Study of the impact of blood lead level on humoral immunity in humans. *Toxicol Ind Health*. 2002 Feb;18(1):39-44. <https://doi.org/10.1191/0748233702th129oa>
30. Metryka E, Chibowska K, Gutowska I, Falkowska A, Kupnicka P, Barczak K, Chlubek D, Baranowska-Bosiacka I. Lead (Pb) exposure enhances expression of factors associated with inflammation. *Int J Mol Sci*. 2018;19(6):1813. <https://doi.org/10.3390/ijms19061813>
31. Başaran N, Undeğer U. Effects of lead on immune parameters in occupationally exposed workers. *Am J Ind Med*. 2000 Sep;38(3):349-54. [https://doi.org/10.1002/1097-0274\(200009\)38:3<349::AID-AJIM16>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1097-0274(200009)38:3<349::AID-AJIM16>3.0.CO;2-Z)
32. Jusko TA, Singh K, Greener EA, Oktapodas Feiler M, Thevenet-Morrison K, Lawrence BP, et al. Blood lead concentrations and antibody levels to measles, mumps, and rubella among U.S. children. *Int J Environ Res Public Health*. 2019 Aug;16(17):3035. <https://doi.org/10.3390/ijerph16173035>
33. Wei JT, Liu YX, Zhu YC, Qian J, Ye RZ, Li CY, et al. Impacts of transportation and meteorological factors on the transmission of COVID-19. *Int J Hyg Environ Health*. 2020 Sep;230:113610. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113610>
34. Shen J, Duan H, Zhang B, Wang J, Ji JS, Wang J, et al. Prevention and control of COVID-19 in public transportation: experience from China. *Environ Pollut*. 2020 Nov;266(Pt 2):115291. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115291>
35. Centers for Disease Control and Prevention. Disease or condition of the week. SARS (10 Years After). 2016[cited 2021 Mar 12]. Available from: <https://www.cdc.gov/dotw/sars/index.html>
36. Medlock KB 3rd, Temzelides T, Hung SY. COVID-19 and the value of safe transport in the United States. *Sci Rep*. 2021 Nov;11(1):21707. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01202-9>
37. Armstrong BG. Effect of measurement error on epidemiological studies of environmental and occupational exposures. *Occup Environ Med*. 1998 Oct;55(10):651-6. <https://doi.org/10.1136/oem.55.10.651>

**Funding:** *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo* (Fapesp - Grants No. #2017/25424-9, #2018/18391-0, #2017/20752-8). *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq - Diaz-Quijano FA and Olympio KPKO are CNPq research productivity fellows; Process No. 312656/2019-0 and 314637/2021-4, respectively). *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* – Brasil (Capes - Funding code 001).

**Authors' Contribution:** Study design and planning: FJS, KPKO. Data collection, analysis, and interpretation: FJS, INL, ANMA, MSL, GRLV, FLAF, FADQ. Writing or review of the manuscript: FJS, INL, ANMA, NAA, MSL, GRLV, FLAF, FADQ, KPKO. Approval of the final version: FJS, INL, ANMA, NAA, MSL, GRLV, FLAF, FADQ, KPKO. Public responsibility for the content of the article: FJS, INL, ANMA, NAA, MSL, GRLV, FLAF, FADQ, KPKO.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## ANEXO III

## CADASTRO

**Informações individuais dos participantes (moradores / trabalhadores do domicílio)**

Nome do morador: \_\_\_\_\_

Data do preenchimento do cadastro: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Área:

0|\_\_|0. Limeira - SP

1|\_\_|1. Volta Redonda – RJ

End. do domicílio: \_\_\_\_\_

CEP: \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ Bairro: \_\_\_\_\_

Telefone: (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_ Telefone 2: (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_

E-mail: \_\_\_\_\_

Facebook e/ouInstagram: \_\_\_\_\_

**1. Data de Nascimento**

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_

**2. Sexo**

0|\_\_|0. Feminino 1|\_\_|1. Masculino Resp.: \_\_\_\_\_

**3. Se feminino, está gestante?**

0|\_\_|0. Não 1|\_\_|1. Sim 99|\_\_|99. NS/NR

**4. Estado Civil**

0|\_\_|0. Casado / mora junto 1|\_\_|1. Separado / divorciado 2|\_\_|2. Solteiro

3|\_\_|3. Viúvo Resp.: \_\_\_\_\_

**5. Qual sua cor?**

0|\_\_|0. Branco 1|\_\_|1. Negro 2|\_\_|2. Pardo 3|\_\_|3. Amarelo

4|\_\_|4. Indígena 5|\_\_|5. Outro Resp.: \_\_\_\_\_

**6. Escolaridade**

0|\_|0 Ensino Fundamental I incompleto

5|\_|5 Ensino Médio completo

1|\_|1 Ensino Fundamental I completo

6|\_|6 Superior incompleto

2|\_|2 Ensino Fundamental II incompleto

7|\_|7 Superior completo

3|\_|3 Ensino Fundamental II completo

8|\_|8 Analfabeto

4|\_|4 Ensino Médio incompleto

99|\_|99 NS/NR

**7. Está estudando no momento?**

0|\_|0. Não

1|\_|1. Sim (informar o que, qual série ou ano)

99|\_|99.NS/NR

Resp.: \_\_\_\_\_

**8. Está trabalhando atualmente?**

0|\_|0. Não

1|\_|1. Sim (Pule para questão 10)

99|\_|99. NS/NR

Resp.: \_\_\_\_\_

**9. Por que não está trabalhando remuneradamente?**

0|\_|0. desempregado

3|\_|3. dona de casa

1|\_|1. afastado por doença ou acidente

4|\_|4. outro

2|\_|2. aposentado / pensionista

Resp.: \_\_\_\_\_

**10a. Quais as principais atividades que você faz no seu trabalho?**

Resp.: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**10b. Há quanto tempo você trabalha nessa atividade?**

Resp.: \_\_\_\_\_

**10c. Qual é o seu horário/ turno de trabalho? (anotar quais dias e horários a pessoa teria livre para fazer a coleta pela manhã).**

Resp.: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**11.** Trabalha ou já trabalhou no setor industrial ou teve contato com produtos químicos no trabalho?

0|\_\_|0. Não                      1|\_\_|1. Sim                      99|\_\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

**12.** Você é fumante?

0|\_\_|0. Não                      1|\_\_|1. Sim                      99|\_\_|99. NS/NR

**13.** Você pratica algum tipo de atividade física?

0|\_\_|0. Não                      1|\_\_|1. Sim                      99|\_\_|99. NS/NR

Se sim, Qual? \_\_\_\_\_

Frequência \_\_\_\_\_

**14.** Apresenta algum problema de saúde ou queixa? Qual?

0|\_\_|0. Não                      1|\_\_|1. Sim                      99|\_\_|99. NS/NR

Resp.: \_\_\_\_\_

**15.** Apresenta algumas das doenças abaixo?

0|\_\_|0. Doenças autoimunes

(Lúpus, doença celíaca, artrite reumatoide, esclerose múltipla, psoríase)

1|\_\_|1. Diabetes tipo 1 ou 2

2|\_\_|2. Problemas gastrointestinais crônicos

(doença inflamatória intestinal, doença celíaca...)

3|\_\_|3. Câncer

4|\_\_|4. Problemas de pressão (hipertensão arterial)

5|\_\_|5. Colesterol alto

6|\_\_|6. Triglicérides alto

7|\_\_|7. Anemia

**16a.** Toma algum medicamento todo dia? Se sim, qual?

Resp.: \_\_\_\_\_

**16b.** Toma algum dos medicamentos abaixo?

0|\_\_|0. anti-inflamatório

1|\_\_|1. controle de pressão

2|\_\_|2. anticoncepcional oral

**16c.** Toma alguma vitamina ou suplemento (comprimido, cápsula, sachê)? Se sim, qual?

Resp.: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_ kg

Altura: \_\_\_\_\_ metros

IMC:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_. Referido

\_\_\_\_\_. Aferido

### **Informações dos Moradores da residência**

(Realizar essa parte do questionário com apenas um informante da residência, não repetir as perguntas se tiverem mais participantes na mesma residência). Espaço para 10 trabalhadores, dependendo do número de moradores e trabalhadores da residência.

**1.** Quantas pessoas moram e/ou trabalham com você na casa?

Mora \_\_\_\_\_. Trabalha \_\_\_\_\_ 1:

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

Idade: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Mora \_\_\_\_\_. Trabalha \_\_\_\_\_ 2:

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

Idade: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Mora \_\_\_\_\_. Trabalha \_\_\_\_\_ 3:

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

Idade: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Mora \_\_\_\_\_. Trabalha \_\_\_\_\_ 4:

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

Idade: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Mora \_\_\_\_\_. Trabalha \_\_\_\_\_ 5:

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

Idade: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Mora \_\_\_\_\_. Trabalha \_\_\_\_\_ 6:

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

Idade: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Mora |\_|. Trabalha |\_| 7:

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

Idade: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Mora |\_|. Trabalha |\_| 8:

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

Idade: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Mora |\_|. Trabalha |\_| 9:

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

Idade: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Mora |\_|. Trabalha |\_| 10:

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

Idade: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

**2. Algumas dessas pessoas também desejam participar do estudo?**

1|\_| 1    2|\_| 2    3|\_| 3    4|\_| 4    5|\_| 5    6|\_| 6    7|\_| 7    8|\_| 8    9|\_| 9

10|\_| 10    11|\_| 11. Nenhuma    99|\_| 99. NS/NR

## ANEXO IV

## Questionário Domiciliar de Risco e Morbidade Referida

ID participante (informante): \_\_\_\_\_

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

Entrevistador: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Início |\_\_|\_\_|h |\_\_|\_\_|min

Área:

0|\_\_|0 Limeira - SP

1|\_\_|1 Volta Redonda – RJ

End. do domicílio: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

CEP: \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ Bairro: \_\_\_\_\_

Telefone: (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_

Telefone 2: (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_

Nº. Domicílio: \_\_\_\_\_

**Parte 1 - Identificação dos domicílios**

1. Como você define o seu domicílio?

0|\_\_|0. Alvenaria (tijolo, bloco, pedras)

1|\_\_|1. Madeira

2|\_\_|2. Outros \_\_\_\_\_

99|\_\_| NS/NR

2. Há quantos anos você reside nesse domicílio?

0|\_\_|0. menos de 1 ano

1|\_\_|1. De 1 - 3 anos

2|\_\_|2. De 3 - 5 anos

3|\_\_|3. De 5 - 10 anos

4|\_\_|4. De 10 - 15 anos

5|\_\_|5. De 15 – 20 anos

6|\_\_|6. mais de 20 anos

99|\_\_|. NS/NR

3. Há quantos anos você reside nesta região?

0|\_\_|0. menos de 1 ano

1|\_\_|1. De 1 - 3 anos

2|\_\_|2. De 3 - 5 anos

3|\_\_|3. De 5 - 10 anos

4|\_\_|4. De 10 - 15 anos

5|\_\_|5. De 15 – 20 anos

6|\_\_|6. mais de 20 anos

99|\_\_|. NS/NR

## 4. Qual é o revestimento da sua rua?

- 0|\_|0. Asfalto                      1|\_|1. bloquete de concreto                      2|\_|2. entulho  
 3|\_|3. Areia                      4|\_|4. barro batido                      5|\_|5. paralelepípedo  
 99|\_|. NS/NR

## 5. Num raio de 1000 metros (10 quarteirões) da sua residência existem estabelecimentos com as seguintes atividades? (Esta pergunta pode ter múltiplas respostas)

- 0 |\_|0. revestimento de metais                      1 |\_|1. terminais de carga/descarga  
 2.|\_|2. armazenagem de fertilizantes/produtos químicos  
 3|\_|3. pátio de containers                      4|\_|4. fábricas de joias e bijuterias  
 5|\_|5. aterros industriais ou domésticos                      6|\_|6. fábricas de baterias  
 7|\_|7. outras fábricas ou industrias \_\_\_\_\_  
 99 |\_|. NS/NR

## 6. Como é o esgoto de sua residência?

- 0|\_|0 fossa                      1|\_|1 céu aberto (solo, rua)                      2|\_|2 rio, córrego  
 3|\_|3 encanado (rede de esgoto)                      4|\_|4 outros \_\_\_\_\_  
 99|\_|99 NS/NR

## 7. Qual o destino do lixo gerado em seu domicílio? (Destino Predominante)

- 0|\_|0 coleta                      1|\_|1 terreno baldio                      2|\_|2 queimado                      3|\_|3 córrego  
 4|\_|4 caçamba                      5|\_|5. outro                      99|\_| NS/NR

**Parte 2 - Identificação dos****Moradores**

1. Quantas pessoas moram na casa: |\_\_\_\_|

2. Qual o nome delas?

Morador 5: \_\_\_\_\_

Morador 1: \_\_\_\_\_

Morador 6: \_\_\_\_\_

Morador 2: \_\_\_\_\_

Morador 7: \_\_\_\_\_

Morador 3: \_\_\_\_\_

Morador 8: \_\_\_\_\_

Morador 4: \_\_\_\_\_

Morador 9: \_\_\_\_\_

Morador 10: \_\_\_\_\_



**Parte 3 - Tabagismo**

1. Quais pessoas que moram em sua casa fumam?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_| (pule p/ questão 4)  
 99|\_|99. NS/NR

2. Há quantos anos essas pessoas fumam?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma|\_|      99|\_|99. NS/NR

3. Quantos cigarros elas fumam por dia?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

4. Quais pessoas que moram em sua casa já pararam de fumar?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|(pule p/ próxima parte)  
 99|\_|99. NS/NR

5. Quantos anos essas pessoas fumaram?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

6. Há quantos anos essas pessoas deixaram de fumar?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

7. Quantos cigarros elas fumavam por dia?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

**Parte 4 - Alcoolismo**

1. Quais pessoas que moram em sua casa consomem alguma bebida alcoólica como cerveja, vinho, cachaça, uísque, licores, etc?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_| (pule p/ questão 5)  
 99|\_|99. NS/NR

2. Há quantos anos essas pessoas consomem alguma bebida alcoólica?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6

7|\_\_|7 8|\_\_|8 9|\_\_|9 10|\_\_|10 nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

**3. O consumo de bebida alcoólica é feito quantas vezes por semana?**

1|\_\_|1 2|\_\_|2 3|\_\_|3 4|\_\_|4 5|\_\_|5 6|\_\_|6

7|\_\_|7 8|\_\_|8 9|\_\_|9 10|\_\_|10 nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

**4. Quantas doses essas pessoas bebem por dia?**

*(1 dose de bebida alcoólica = 1 lata de cerveja ou 1 taça de vinho ou 1 drinque ou 1 cocktail ou 1 dose de cachaça ou uísque. Considerar a média do consumo diário)*

1|\_\_|1 2|\_\_|2 3|\_\_|3 4|\_\_|4 5|\_\_|5 6|\_\_|6

7|\_\_|7 8|\_\_|8 9|\_\_|9 10|\_\_|10 nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

**5. Alguém na sua casa parou de beber?**

1|\_\_|1 2|\_\_|2 3|\_\_|3 4|\_\_|4 5|\_\_|5 6|\_\_|6

7|\_\_|7 8|\_\_|8 9|\_\_|9 10|\_\_|10 nenhuma |\_\_|(pule p/ próxima parte)

99|\_\_|99. NS/NR

**6. Quantos anos essas pessoas beberam?**

1|\_\_|1 2|\_\_|2 3|\_\_|3 4|\_\_|4 5|\_\_|5 6|\_\_|6

7|\_\_|7 8|\_\_|8 9|\_\_|9 10|\_\_|10 nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

**7. O consumo de bebida alcoólica era feito quantas vezes por semana?**

1|\_\_|1 2|\_\_|2 3|\_\_|3 4|\_\_|4 5|\_\_|5 6|\_\_|6

7|\_\_|7 8|\_\_|8 9|\_\_|9 10|\_\_|10 nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

**8. Há quantos anos essas pessoas deixaram de beber?**

1|\_\_|1 2|\_\_|2 3|\_\_|3 4|\_\_|4 5|\_\_|5 6|\_\_|6

7|\_\_|7 8|\_\_|8 9|\_\_|9 10|\_\_|10 nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

**9. Quantas doses essas pessoas bebiam por dia?**

*(1 dose de bebida alcoólica = 1 lata de cerveja ou 1 taça de vinho ou 1 drinque ou 1 cocktail ou 1 dose de cachaça ou uísque. Considerar a média do consumo diário)*

1|\_\_|1 2|\_\_|2 3|\_\_|3 4|\_\_|4 5|\_\_|5 6|\_\_|6

7|\_\_|7 8|\_\_|8 9|\_\_|9 10|\_\_|10 nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

## **Parte 5 - Percepção de saúde e morbidade referida**

**1.** Em sua opinião, como é a saúde das pessoas que moram na sua casa?

1|\_\_|1 2|\_\_|2 3|\_\_|3 4|\_\_|4 5|\_\_|5 6|\_\_|6

7|\_\_|7 8|\_\_|8 9|\_\_|9 10|\_\_|10 nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

(1)Excelente (2)Muito boa (3)Boa (4)Regular (5)Ruim (0) NS/NR

<b>MÓDULO – EXERCÍCIO FÍSICO</b>
----------------------------------

**2.** Quais pessoas da sua casa fazem ou fizeram exercícios físicos?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

**3.** Quantas vezes por semana?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

**4.** Quanto tempo (em horas por dias)?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

**5.** Qual exercício é praticado?

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_



<b>MÓDULO - GESTAÇÃO</b>
--------------------------

**8. Quais mulheres que moram em sua casa ficaram grávidas?**

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
 7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|      99|\_\_|99. NS/NR

**9. Quantas vezes elas ficaram grávidas?**

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
 7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|      99|\_\_|99. NS/NR

**10. Em quantas dessas gestações essas mulheres fizeram o pré-natal?**

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
 7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|      99|\_\_|99. NS/NR

**11. Essas mulheres tiveram filhos gêmeos? Quantos?**

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
 7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|      99|\_\_|99. NS/NR

**12. Essas mulheres sofreram aborto natural/espontâneo? Quantos?**

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
 7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|      99|\_\_|99. NS/NR

**13. Essas mulheres tiveram quantos bebês prematuros (antes do tempo – 37 semanas)?**

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
 7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|      99|\_\_|99. NS/NR

**14. Essas mulheres tiveram quantos bebês com peso abaixo de 2500 g?**

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
 7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|      99|\_\_|99. NS/NR

**15. Quantos bebês nasceram mortos? (após a 20ª semana de gestação/5º mês)**

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
 7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|      99|\_\_|99. NS/NR

**16. Essas mulheres tiveram quantos bebês com malformação (cistos renais, abertura na boca ou lábio, cabeça grande, cabeça pequena, alterações no coração, coluna exposta, alterações do intestino, alterações em braços ou pernas)?**

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6

7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

<b>Módulo – Doenças Neurológicas (Coluna; Cabeça)</b>
-------------------------------------------------------

**17.** Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram problemas neurológicos (enxaqueca, problemas do sono, epilepsia, outros, autismo)?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

**18.** Quais pessoas que moram em sua casa apresentam ou apresentaram problemas na coluna?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

**19.** Quais pessoas que moram em sua casa apresentam deficiência mental?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

**20.** Quais pessoas apresentam ou apresentaram os seguintes sinais/sintomas?

Tremores

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

Falta de Equilíbrio

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

Tonturas

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

Quando? \_\_\_\_\_

## Dores de cabeça

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

## Outras

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

<b>MÓDULO – DEPRESSÃO/ANSIEDADE/PROBLEMAS PSIQUIÁTRICOS</b>
-------------------------------------------------------------

**21.** Quais pessoas que moram em sua casa têm depressão/ansiedade/alterações de humor/dificuldade em ficar próximo de pessoas/ataque de pânico?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

<b>MÓDULO- DERRAME (AVC)</b>
------------------------------

**22.** Quais pessoas que moram em sua casa tiveram derrame/AVC?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

<b>MÓDULO- DISTÚRBIOS DE APRENDIZAGEM (DIFICULDADES NA ESCOLA)</b>
--------------------------------------------------------------------

**23.** Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram problemas de aprendizagem na escola?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

**24.** Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram problemas de comportamento na escola? (agressividade/indisciplina)

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

**25.** Quais pessoas apresentam ou apresentaram problemas de aprendizagem nas seguintes atividades?

## Leitura

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

## Escrita

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

## Cálculos matemáticos

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6      7|\_|  
 7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

## Fazer a lição de casa

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

## Assistir e acompanhar as aulas na escola

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

## Outras

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

<b>MÓDULO- DOENÇAS RESPIRATÓRIAS</b>
--------------------------------------

## 26. Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram doenças respiratórias?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

## 27. Quais pessoas apresentam ou apresentaram os seguintes problemas no pulmão?

## Enfisema

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR



## Bronquite crônica

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

## Asma

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Quando? \_\_\_\_\_

## Infecções de vias superiores (sinusites, rinites, otites, faringites, amigdalites)

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Quando? \_\_\_\_\_

## Tuberculose pulmonar

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Quando? \_\_\_\_\_

## Pneumoconioses (fibrose do pulmão)

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Quando? \_\_\_\_\_

## Outras

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

**28.** Quais pessoas que moram nessa residência apresentam os seguintes sintomas respiratórios com frequência:

## Tosse seca (irritativa)

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

## Tosse com catarro (expectoração)

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6

7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

Chiado no peito

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

Falta de ar

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

Cansaço nas atividades diárias

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

Irritação ou ardência nos olhos

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

Espirros / coceira no nariz

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_| 99|\_\_|99. NS/NR

Nariz entupido ou coriza

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      88.|\_\_|88.nenhuma  
99|\_\_|99. NS/NR

**29.** Alguém da sua casa teve algum desses sintomas no passado e agora não tem mais?

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      88.|\_\_|88.nenhuma  
99|\_\_|99. NS/NR

Qual sintoma? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_ N° morador \_\_\_\_\_

Qual sintoma? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_ N° morador \_\_\_\_\_

Qual sintoma? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_ N° morador \_\_\_\_\_

<b>MÓDULO- DOENÇAS DO CORAÇÃO</b>
-----------------------------------

30. Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram doenças do coração?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

31. Quais pessoas apresentam ou apresentaram os seguintes problemas no coração?

Ataque do coração/Infarto

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Angina ou doença das coronárias

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Insuficiência cardíaca/Coração inchado

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Arritmia (batimento do coração rápido, lento ou irregular)

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Outras

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

<b>MÓDULO- DOENÇAS DO ESTÔMAGO E/OU INTESTINO</b>
---------------------------------------------------

32. Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram doenças do estômago ou intestino?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

**33. Quais pessoas apresentam ou apresentaram os seguintes Sinais/sintomas?**

## Dor abdominal

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

## Náusea

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

## Vômito

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

## Outros

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

**MÓDULO- DOENÇAS DO FÍGADO****34. Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram doenças do fígado?**

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

**35. Quais pessoas apresentam ou apresentaram os seguintes problemas no fígado?**

## Hepatite

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

## Cirrose

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

## Gordura no fígado

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|    99|\_|99. NS/NR

Outras

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

### MÓDULO- DOENÇAS DO RIM

**36.** Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram doenças dos rins?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

### MÓDULO- DOENÇAS DO METABOLISMO (DIABETES, PRESSÃO ALTA, COLESTEROL)

**37.** Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram pressão alta?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

**38.** Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram problemas de colesterol?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

**39.** Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram problemas de

diabetes:

Diabetes Tipo 1 (desde a infância)

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Diabetes Tipo 2

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Diabetes Gestacional

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6

7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_| | 99|\_|99. NS/NR

**40.** Quais pessoas que moram em sua casa são ou foram obesos (têm acúmulo excessivo de gordura)?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_| | 99|\_|99. NS/NR

**41.** Quais pessoas que moram em apresentam ou apresentaram problemas de tireoide?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_| | 99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

#### MÓDULO- DOENÇAS DE PELE

**42.** Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram doenças de pele?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_| | 99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

#### MÓDULO- DOENÇAS DO SANGUE

**43.** Quais pessoas que moram em sua casa apresentam ou apresentaram problemas no sangue?

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_| | 99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

**44.** Quais pessoas que moram em sua casa apresentam ou apresentaram as seguintes doenças do sangue:

Anemia

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_| | 99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

Hemofilia

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6

7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|    99|\_\_|99. NS/NR

#### Talassemia

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|    99|\_\_|99. NS/NR

#### Leucopenia (diminuição dos glóbulos brancos)

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|    99|\_\_|99. NS/NR

#### Transtornos de plaqueta

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|    99|\_\_|99. NS/NR

Aumento ou diminuição? \_\_\_\_\_

#### Trombocitopenia

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|    99|\_\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

#### Outras

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|    99|\_\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

### MÓDULO- CÂNCER

#### 45. Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram câncer?

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|    99|\_\_|99. NS/NR

#### 46. Quais pessoas apresentam ou apresentaram os seguintes tipos de câncer? (localização primária)

##### Pulmão

1|\_\_|1      2|\_\_|2      3|\_\_|3      4|\_\_|4      5|\_\_|5      6|\_\_|6  
7|\_\_|7      8|\_\_|8      9|\_\_|9      10|\_\_|10      nenhuma |\_\_|    99|\_\_|99. NS/NR

## Mama

1 _ 1	2 _ 2	3 _ 3	4 _ 4	5 _ 5	6 _ 6
7 _ 7	8 _ 8	9 _ 9	10 _ 10	nenhuma  _	99 _ 99. NS/NR

## Aparelho reprodutor (próstata, pênis, ovário, vagina, vulva, trompas etc)

1 _ 1	2 _ 2	3 _ 3	4 _ 4	5 _ 5	6 _ 6
7 _ 7	8 _ 8	9 _ 9	10 _ 10	nenhuma  _	99 _ 99. NS/NR

## Tireoide

1 _ 1	2 _ 2	3 _ 3	4 _ 4	5 _ 5	6 _ 6
7 _ 7	8 _ 8	9 _ 9	10 _ 10	nenhuma  _	99 _ 99. NS/NR

## Leucemia

1 _ 1	2 _ 2	3 _ 3	4 _ 4	5 _ 5	6 _ 6
7 _ 7	8 _ 8	9 _ 9	10 _ 10	nenhuma  _	99 _ 99. NS/NR

## Estômago-intestino

1 _ 1	2 _ 2	3 _ 3	4 _ 4	5 _ 5	6 _ 6
7 _ 7	8 _ 8	9 _ 9	10 _ 10	nenhuma  _	99 _ 99. NS/NR

## Bexiga

1 _ 1	2 _ 2	3 _ 3	4 _ 4	5 _ 5	6 _ 6
7 _ 7	8 _ 8	9 _ 9	10 _ 10	nenhuma  _	99 _ 99. NS/NR

## Fígado, vias biliares e pâncreas

1 _ 1	2 _ 2	3 _ 3	4 _ 4	5 _ 5	6 _ 6
7 _ 7	8 _ 8	9 _ 9	10 _ 10	nenhuma  _	99 _ 99. NS/NR

## Tumores da infância (leucemia, cérebro, linfoma, neuroblastoma, gordura, articulações, osso, retina/olhos, ovários, testículos)

1 _ 1	2 _ 2	3 _ 3	4 _ 4	5 _ 5	6 _ 6
7 _ 7	8 _ 8	9 _ 9	10 _ 10	nenhuma  _	99 _ 99. NS/NR

## Rins

1 _ 1	2 _ 2	3 _ 3	4 _ 4	5 _ 5	6 _ 6
7 _ 7	8 _ 8	9 _ 9	10 _ 10	nenhuma  _	99 _ 99. NS/NR



Outras

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7      8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

<b>MÓDULO- MALFORMAÇÕES</b>
-----------------------------

**47. Quais pessoas que moram em sua casa apresentaram malformações ao nascer?**

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7 8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

**48. Quais pessoas apresentam os seguintes problemas de malformação?**

Membros inferiores ou superiores

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7 8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Coração

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7 8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Lábio leporino (abertura no lábio/boca/céu da boca)

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7 8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Espinha bífida (espinha partida)

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7 8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Hidrocefalia (cabeça grande)

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7 8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Outras

1|\_|1      2|\_|2      3|\_|3      4|\_|4      5|\_|5      6|\_|6  
 7|\_|7 8|\_|8      9|\_|9      10|\_|10      nenhuma |\_|      99|\_|99. NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

<b>MÓDULO- ALERGIAS-INTOLERÂNCIA-RESTRICÇÕES</b>
--------------------------------------------------

**49.** Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tinham algum tipo de alergia (alimentos, poeira, medicamento, animais, produto diversos, pelúcias, ácaros)?

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

**50.** Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tiveram restrições alimentares?

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

**51.** Quais pessoas que moram em sua casa têm ou tinham intolerância a algum alimento?

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_ Quando? \_\_\_\_\_

Término do módulo - |\_|\_| h |\_|\_| min

## ANEXO V

## Questionário de exposição ocupacional

Trabalhador: \_\_\_\_\_ ID do informante: \_\_\_\_\_

Nº domicílio: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Entrevistador: \_\_\_\_\_

Área:

 Limeira - SP Volta Redonda – RJ

Início |\_\_|\_\_|h |\_\_|\_\_|min

**Exposição Ocupacional (Atual)**

1. Quais participantes que moram nessa residência trabalham nos setores descritos e por quantos anos? (No campo correspondente ao indivíduo, indicado pelo informante, marque em meses trabalhados)

Indústria (Externo)	Comércio	Prestação de Serviços (Domiciliar)	Outras
1 _  1	1 _  1	1 _  1	1 _  1
2 _  2	2 _  2	2 _  2	2 _  2
3 _  3	3 _  3	3 _  3	3 _  3
4 _  4	4 _  4	4 _  4	4 _  4
5 _  5	5 _  5	5 _  5	5 _  5
6 _  6	6 _  6	6 _  6	6 _  6
7 _  7	7 _  7	7 _  7	7 _  7
8 _  8	8 _  8	8 _  8	8 _  8
9 _  9	9 _  9	9 _  9	9 _  9
10 _  10	10 _  10	10 _  10	10 _  10
99 _  NS/NR	99 _  NS/NR	99 _  NS/NR	99 _  NS/NR

2. Quais pessoas que moram em sua casa têm contato com produtos químicos no trabalho?

1|\_| 1    2|\_| 2    3|\_| 3    4|\_| 4    5|\_| 5    6|\_| 6    7|\_| 7  
 8|\_| 8    9|\_| 9    10|\_| 10    11|\_| nenhuma    99|\_| NS/NR

3. Quais pessoas trabalham com os produtos/atividades descritos?

Montagem de joias e bijuterias

1|\_| 1    2|\_| 2    3|\_| 3    4|\_| 4    5|\_| 5    6|\_| 6    7|\_| 7  
 8|\_| 8    9|\_| 9    10|\_| 10    11|\_| nenhuma    99|\_| NS/NR

## Solda a quente

1|\_\_\_| 1    2|\_\_\_| 2    3|\_\_\_| 3    4|\_\_\_| 4    5|\_\_\_| 5    6|\_\_\_| 6    7|\_\_\_| 7  
 8|\_\_\_| 8    9|\_\_\_| 9    10|\_\_\_| 10    11|\_\_\_| nenhuma    99|\_\_\_| NS/NR

## Solda a frio

1|\_\_\_| 1    2|\_\_\_| 2    3|\_\_\_| 3    4|\_\_\_| 4    5|\_\_\_| 5    6|\_\_\_| 6    7|\_\_\_| 7  
 8|\_\_\_| 8    9|\_\_\_| 9    10|\_\_\_| 10    11|\_\_\_| nenhuma    99|\_\_\_| NS/NR

## Ácidos (Clorídrico= C / Bórico= B / Fluorídrico= F/ Sulfúrico = S)

1|\_\_\_| 1    2|\_\_\_| 2    3|\_\_\_| 3    4|\_\_\_| 4    5|\_\_\_| 5    6|\_\_\_| 6    7|\_\_\_| 7  
 8|\_\_\_| 8    9|\_\_\_| 9    10|\_\_\_| 10    11|\_\_\_| nenhuma    99|\_\_\_| NS/NR

## Cianeto (Sódio= S / Potássio= P/ Prata= Pr / Cobre= C)

1|\_\_\_| 1    2|\_\_\_| 2    3|\_\_\_| 3    4|\_\_\_| 4    5|\_\_\_| 5    6|\_\_\_| 6    7|\_\_\_| 7  
 8|\_\_\_| 8    9|\_\_\_| 9    10|\_\_\_| 10    11|\_\_\_| nenhuma    99|\_\_\_| NS/NR

## Banhos Galvânicos

1|\_\_\_| 1    2|\_\_\_| 2    3|\_\_\_| 3    4|\_\_\_| 4    5|\_\_\_| 5    6|\_\_\_| 6    7|\_\_\_| 7  
 8|\_\_\_| 8    9|\_\_\_| 9    10|\_\_\_| 10    11|\_\_\_| nenhuma    99|\_\_\_| NS/NR

## Borax

1|\_\_\_| 1    2|\_\_\_| 2    3|\_\_\_| 3    4|\_\_\_| 4    5|\_\_\_| 5    6|\_\_\_| 6    7|\_\_\_| 7  
 8|\_\_\_| 8    9|\_\_\_| 9    10|\_\_\_| 10    11|\_\_\_| nenhuma    99|\_\_\_| NS/NR

## Fluoretos= FI / Boratos= Br

1|\_\_\_| 1    2|\_\_\_| 2    3|\_\_\_| 3    4|\_\_\_| 4    5|\_\_\_| 5    6|\_\_\_| 6    7|\_\_\_| 7  
 8|\_\_\_| 8    9|\_\_\_| 9    10|\_\_\_| 10    11|\_\_\_| nenhuma    99|\_\_\_| NS/NR

## Siderurgia

1|\_\_\_| 1    2|\_\_\_| 2    3|\_\_\_| 3    4|\_\_\_| 4    5|\_\_\_| 5    6|\_\_\_| 6    7|\_\_\_| 7  
 8|\_\_\_| 8    9|\_\_\_| 9    10|\_\_\_| 10    11|\_\_\_| nenhuma    99|\_\_\_| NS/NR

**Em caso de trabalho na siderúrgica CSN, indique:**

4. Qual etapa da siderurgia?

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_



7. Durante o trabalho, você nota que há formação/desprendimento de fumaça /vapores/ gases? Sim / Não / NS/NR

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

**Em caso de trabalho domiciliar com joias e bijuterias, indique:**

8. Em que local de sua residência você costuma trabalhar na produção das joias e bijuterias? (Esta pergunta pode ter múltiplas respostas)

1  1 Comodo separado e exclusivo

2  2 Comodo compartilhado

3  3 Outro local (especificar): \_\_\_\_\_

Obs.: Breve detalhamento da(s) área(s) e etapas realizadas em cada área:

9. No cômodo onde você costuma trabalhar, quantas janelas e portas existem?

1. Nº portas \_\_\_\_\_ Nº janelas \_\_\_\_\_ (local de trabalho 1)

2. Nº portas \_\_\_\_\_ Nº janelas \_\_\_\_\_ (local de trabalho 2)

3. Nº portas \_\_\_\_\_ Nº janelas \_\_\_\_\_ (local de trabalho 3)

**10.** Você costuma deixar tudo aberto ou prefere trabalhar com portas e janelas fechadas? (Indicar o local/locais para cada situação)

1. Tudo aberto |\_\_\_| local: \_\_\_\_\_
2. Tudo fechado |\_\_\_| local: \_\_\_\_\_
3. Portas abertas e janelas fechadas |\_\_\_| local: \_\_\_\_\_
4. Portas fechadas e janelas abertas |\_\_\_| local: \_\_\_\_\_
5. Não há portas e janelas |\_\_\_| local: \_\_\_\_\_
6. Variado de acordo com a temperatura e clima do dia |\_\_\_| local: \_\_\_\_\_
7. Outro motivo (Justifique: \_\_\_\_\_)

**11.** Quais etapas são realizadas no domicílio e quais moradores da casa participam destas atividades? (Indicar as atividades executadas e nº (s) do morador(es) que as executa).

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**12.** Quais materiais (ex.: soluções, pós, peças semi-prontas, gás GLP) e equipamentos (ex.: ferro de solda, alicate, banho de níquel, outros banhos) são utilizados nas etapas realizadas no domicílio? (Indicar a etapa conforme descrito na questão 11)

**13.** Fazem uso de equipamentos de proteção nas atividades realizadas no domicílio?  
(Indicar a etapa, nº do morador e o tipo de equipamento e frequência de uso: sempre, às vezes, nunca)

**14.** Durante o trabalho, você nota que há formação/desprendimento de fumaça /vapores/ gases? Sim / Não / NS/NR

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Resp.: \_\_\_\_\_ Etapa: \_\_\_\_\_

**15.** Você que compra os materiais para seu trabalho? (Em caso negativo, indique quem fornece)

1|\_\_| Sim 2|\_\_| Não 99|\_\_| NS/NR Resp.: \_\_\_\_\_

**16.** Com relação aos horários e dias de trabalho, informe:



**16a.** Quais dias da semana cada morador/trabalhador trabalha e quais etapas são realizadas, geralmente?

Nº Pessoa	Dia da semana							Observação
	Seg	Ter	Qua	Qui	Sex	Sáb	Dom	

**16b.** Quais os horários de trabalho, geralmente?

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Dias: \_\_\_\_\_ Horário: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Dias: \_\_\_\_\_ Horário: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Dias: \_\_\_\_\_ Horário: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Dias: \_\_\_\_\_ Horário: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Dias: \_\_\_\_\_ Horário: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Dias: \_\_\_\_\_ Horário: \_\_\_\_\_

Nº pessoa \_\_\_\_\_ Dias: \_\_\_\_\_ Horário: \_\_\_\_\_

**17.** Onde você joga os restos dos materiais e líquidos utilizados na produção de joias?

Resp.: \_\_\_\_\_

Término |\_\_|\_\_|h |\_\_|\_\_|min

## Informações curriculares seguindo a Portaria CPG/03/08 de 05/06/08

### Autora



### Fernanda Junqueira Salles

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/5083647069508238>

ID Lattes: **5083647069508238**

Última atualização do currículo em 24/10/2023

Doutoranda na Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP - USP). Mestre em Ciências pela FSP - USP. Bacharela em Ciências Biológicas pela Universidade de Taubaté. Áreas de atuação: Saúde Ambiental, Monitoramento ambiental, Mutagênese ambiental, toxicologia e genética. Durante a minha formação, participei de estudos científicos em diversos temas da saúde pública, saúde ambiental e toxicologia, atuando na concepção, elaboração, planejamento, execução, treinamentos, captação de recursos, aprovação ética, negociações interinstitucionais, articulação com secretaria de saúde, comunicação com a comunidade, colaborações internacionais, manuseio de bases de dados, processamento de dados, análise estatística, divulgação dos resultados, publicações científicas, relatórios e prestação de contas. E-mail: [fjsalles@usp.br](mailto:fjsalles@usp.br) / [fernandajsalles@hotmail.com](mailto:fernandajsalles@hotmail.com) (Texto informado pelo autor)

### Identificação

Nome	Fernanda Junqueira Salles
Nome em citações bibliográficas	SALLES, F. J.; SALLES, FERNANDA JUNQUEIRA; SALLES, FERNANDA; SALLES*, FERNANDA JUNQUEIRA
Lattes iD	<a href="http://lattes.cnpq.br/5083647069508238">http://lattes.cnpq.br/5083647069508238</a>
Orcid iD	<a href="https://orcid.org/0000-0002-1260-8780">https://orcid.org/0000-0002-1260-8780</a>

### Endereço

### Formação acadêmica/titulação

2018	Doutorado em andamento em Saúde Pública. Faculdade de Saúde Pública da USP, FSP, Brasil. Título: O impacto da exposição química sobre o transcriptoma de trabalhadores formais e informais Orientador:  Kelly Polido Kaneshiro Olympio. Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil. Grande área: Ciências da Saúde Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Genética / Subárea: Genética.
2015 - 2017	Mestrado em Saúde Pública. Faculdade de Saúde Pública da USP, FSP, Brasil. Título: Avaliação da presença de Elementos Potencialmente Tóxicos decorrentes da produção de joias e bijuterias na rede de esgoto doméstico de Limeira - SP, Ano de Obtenção: 2017. Orientador:  Kelly Polido Kaneshiro Olympio. Coorientador: Wanderley da Silva Paganini. Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil. Palavras-chave: toxicidade; metais; esgoto; contaminação. Grande área: Ciências da Saúde
2010 - 2014	Graduação em Ciências Biológicas. Universidade de Taubaté, UNITAU, Brasil. Título: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DO RIO JAGUARI E RIBEIRÃO LAVAPÊS, BRAGANÇA PAULISTA ? SP, POR MEIO DO TESTE Allium cepa. Orientador: Agnes Barbério. Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.

## Orientadora



## Kelly Polido Kaneshiro Olympio

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 2

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/5138426222420186>

ID Lattes: 5138426222420186

Última atualização do currículo em 07/12/2023

Kelly Polido Kaneshiro Olympio é Professora Associada do Departamento de Saúde Ambiental da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, tendo iniciado a sua carreira nesta instituição em 2014. É Doutora em Saúde Pública pela FSP-USP (2009). Concluiu Pós-Doutorado pela Universidade de São Paulo, financiado pelo PNPDCAPES (Departamento de Ciências Biológicas, FOB-USP, 2010-2011) e Pós-Doutorado financiado pela FAPESP (Departamento de Epidemiologia, FSP-USP, 2012-2013). Obteve o título de Livre-Docente em 2017. Orientadora em nível mestrado, doutorado e pós-doutorado, coordenando estudos em cooperação com instituições nacionais, como UFABC, FIOCRUZ, IPT, Unifesp, CETESB, e internacionais, como o Imperial College London (UK), Aristotle University of Thessaloniki (Greece) e South African Medical Research Council (África do Sul). Atua como Associate Editor na publicação científica *Frontiers in Reproductive Health* e faz parte do Editorial Board da *Current Opinion in Environmental Science and Health*, Review Editor no periódico *Frontiers in Oral Health* e Guest Editor nas revistas científicas *Frontiers in Public Health* e *Current Opinion in Environmental Science and Health (Woman and Child's Environmental Health: Impacts of pollutants in Children - special issue)*. Responsável pela criação do site para prevenção da exposição a chumbo voltado para crianças pré-escolares, responsáveis e profissionais de educação e saúde (<https://www.fsp.usp.br/prevencao-da-contaminacao-por-chumbo>), em parceria com Ministério da Saúde, Organização Pan-americana de Saúde, Secretarias Municipais de Educação e Meio Ambiente de Suzano - SP e CETESB. Tem interesse científico e projetos em andamento nas áreas da Toxicologia Ambiental e Ocupacional, Epidemiologia Ambiental, Saúde do Trabalhador e Saúde Ambiental, priorizando o estudo do expossoma humano. Participa de atividades de extensão voltadas à saúde do trabalhador e ambiental, fazendo parte de comissões voltadas à saúde do trabalhador. É líder do grupo de pesquisa eXsat: Expossoma e Saúde do Trabalhador (<http://www.fsp.usp.br/lehca/2019/04/02/exsat/>). Foi coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (2020 - 2023) e é vice-coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da FSP-USP (2022 - atual). É a orgulhosa mãe de duas filhas nascidas em 2006 e 2015. **(Texto informado pelo autor)**

### Identificação

Nome	Kelly Polido Kaneshiro Olympio
Nome em citações bibliográficas	OLYMPIO, K. P. K.;Olympio, K.;Olympio, K.P.;Olympio, Kelly Polido Kaneshiro;Olympio, Kelly P.K.;POLIDO KANESHIRO OLYMPIO, KELLY;OLYMPIO, KPK;OLYMPIO, Kelly Polido Kaneshiro;Kelly Polido Kaneshiro Olympio;KPK Olympio;Kelly P. K. Olympio;OLYMPIO, KELLY P. K.;OLYMPIO, KELLY;KANESHIRO OLYMPIO, KELLY POLIDO
Lattes iD	 <a href="http://lattes.cnpq.br/5138426222420186">http://lattes.cnpq.br/5138426222420186</a>
Orcid iD	 <a href="https://orcid.org/0000-0002-4257-8295">https://orcid.org/0000-0002-4257-8295</a>

### Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Saúde Ambiental, Av. Dr. Arnaldo, 715, Segundo Andar, Saúde do Trabalhador Pinheiros 01246904 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617121 URL da Homepage: <a href="http://www.fsp.usp.br">http://www.fsp.usp.br</a>
-----------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------