



**Centro de Tecnologia Mineral
Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação**

Coordenação de Processos Minerais – COPM

Funcate – Fundação de Ciência, Aplicações e Tecnologias Espaciais

RELATÓRIO CORRETOR

**“AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AMBIENTAL AO ARSÊNIO DE
POPULAÇÃO HUMANA DE PARACATU-MG”**

22 de Março de 2016

**VERSÃO
1**

EQUIPE TÉCNICA

COORDENAÇÃO GERAL - MCTI/CETEM

- Zuleica C. Castilhos, DSc - Geoquímica e Toxicologia Ambiental

Λ Coordenação Geral

MS/ FUNASA- Instituto Evandro Chagas

- Iracina de Jesus, DSc – Especialista em Vigilância em Saúde Ambiental do Instituto Evandro Chagas
 - Λ Epidemiologista, participante da equipe responsável pela abordagem, orientação e interpretação de dados da saúde da população;
- Kleber Faial – Mestre em Química Analítica
 - Λ Treinamento para coleta, preservação e transporte de amostras biológicas de população humana;
- Kelson Faial – Mestre em Química Analítica
 - Λ Análises de arsênio em material biológico
- Marcelo Lima – Doutor em Química
 - Λ Integração dos dados de arsênio e em matrizes abióticas e bióticas, aplicação de questionário epidemiológico.

IAL/SP- Núcleo de Contaminantes Inorgânicos do Instituto Adolfo Lutz

- Luciana Arauz- Doutora em Química, Mestre em Ciências Biológicas e Doutora em Tecnologia Bioquímico-farmacêutica
- Lidiane Mataveli – Bióloga, Mestre em Ciências Farmacêuticas e Doutora em Ciências com ênfase em Química Analítica

FCM/UNICAMP

Eduardo Mello De Capitani, DSc – Médico, Pneumologista, Especialista em Saúde Coletiva

- Λ Delineamento de estratégia epidemiológica, interpretação e integração de dados de saúde e de exposição ambiental.

APRESENTAÇÃO

A primeira fase do estudo interdisciplinar “Avaliação da Contaminação Ambiental por Arsênio e Estudo Epidemiológico da Exposição Ambiental Associada em Populações Humanas de Paracatu-MG” incluiu a caracterização dos níveis de As na principal via de exposição humana, e para a maior parte da população de Paracatu: nas águas de abastecimento doméstico de consumo humano na área urbana. A caracterização de níveis de As em material particulado na atmosfera, outra via de exposição de potencial importância, foi priorizada na sequência dos estudos. Outros compartimentos ambientais também foram avaliados, como as águas superficiais, águas subterrâneas, sedimentos de fundo e solos, nas três sub-bacias hidrográficas do Rio Paracatu. A segunda fase relaciona-se ao estudo epidemiológico e à avaliação dos biomarcadores de exposição (As em urina, sangue e cabelo) e de efeitos, pela investigação de casos de dermatoses e dermatologias referidas nos PSFs em Paracatu. Tais atividades foram realizadas após a aprovação do projeto pelo Comitê de Ética, registrado no CONEP/CAE (04328912.0.0000.0019). Paralelamente, foram realizados um levantamento de dados de mortalidade por câncer na população de Paracatu e uma análise do banco de dados municipal sobre tratamento fora do domicílio, com ênfase em casos de câncer.

Este estudo foi realizado por 6 instituições públicas de pesquisas do Ministério da Educação-MEC: Programa de Pós-Graduação em Geoquímica Ambiental- UFF e Universidade de Brasília- UnB-Centro de Desenvolvimento Sustentável; do Ministério de Saúde-MS: Instituto Evandro Chagas e FIOCRUZ- Escola Nacional de Saúde Pública e a Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, do Estado de São Paulo. O estudo se desenvolveu de forma independente durante 34 meses (início em março de 2011 e término em dezembro de 2013), sendo financiado pela Prefeitura Municipal (Secretarias Municipais de Saúde e de Meio Ambiente) e com a contrapartida das instituições envolvidas na forma de cessão dos pesquisadores e realização de análises de amostras ambientais e humanas em seus laboratórios. Mais de 70 pesquisadores, técnicos e estudantes, incluindo agentes de saúde, enfermeiras e pessoal de apoio local estiveram envolvidos no projeto. As instituições locais envolvidas diretamente no projeto foram a Secretaria Municipal de Meio Ambiente e a Secretaria Municipal de Saúde e a Faculdade Tecsoma (Cursos de Biomedicina e de Enfermagem).

No decorrer deste período foram apresentados 6 relatórios técnicos parciais e um Relatório Final à Prefeitura. Audiência Pública para a apresentação dos resultados finais foi

realizada em 18 de março de 2014, na Câmara dos Vereadores de Paracatu. O Relatório Final foi apresentado em abril de 2014. Duas teses de doutorado e uma dissertação de mestrado, bem como dezenas de estágios e trabalhos de iniciação científica foram realizados. Mais de duas dezenas de trabalhos foram apresentados em congressos nacionais e internacionais, incluindo o “V Congresso Internacional sobre Arsênio no meio ambiente”, realizado em Buenos Aires, em maio passado. Naquela ocasião foram apresentados 13 resumos estendidos.

Durante o “V Congresso Internacional sobre Arsênio no meio ambiente”, integrantes da equipe técnica do presente estudo perceberam que os teores de arsênio em sangue e em urina observados em moradores de outras regiões no mundo mostravam diferentes relações daquelas observadas em Paracatu. Naquelas populações, os teores de arsênio em sangue se mostravam mais baixos para teores de arsênio em urina mais altos. A partir daí, as coordenações das sub-áreas da saúde empreenderam intensa revisão bibliográfica visando melhor compreensão destas relações. Entretanto, grande parte da literatura mostra resultados de análise de arsênio apenas em urina ou apenas em sangue. Foi decidido, então, primeiramente, por uma intercalibração interna, ou seja, utilizando distinta metodologia, mas ainda nos laboratórios da SAMAM/IEC. Posteriormente, foi iniciado um intenso exercício de intercalibração interlaboratorial externa, nacional e internacional, para avaliação dos teores de arsênio em urina, sangue e cabelo amostrados da população de Paracatu. Finalmente, as análises de arsênio em urina da população amostrada em Paracatu foram refeitas pelo Laboratório de Inorgânicos do Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo.

OBJETIVO

O objetivo geral é apresentar os resultados da intercalibração interlaboratorial e avaliar a exposição humana ao arsênio considerando os resultados de novas análises de arsênio nas amostras de urina da população de Paracatu.

JUSTIFICATIVA

Durante o “V Congresso Internacional sobre Arsênio no meio ambiente”, integrantes da equipe técnica do presente estudo perceberam que os teores de arsênio em sangue e em urina observados em moradores de outras regiões no mundo mostravam diferentes relações daquelas observadas em Paracatu. Naquelas populações, os teores de arsênio em sangue se mostravam mais baixos para teores de arsênio em urina mais altos. A partir daí, as coordenações das sub-áreas da saúde empreenderam intensa revisão bibliográfica sobre o assunto. Entretanto, foram identificadas

apenas algumas poucas publicações científicas que mostram estudos com avaliações simultâneas de teores de arsênio nas três matrizes: urina, sangue e cabelo. Assim, os esforços se concentraram em identificar o maior número possível de publicações científicas que mostrassem resultados de teores de arsênio, pelo menos, em sangue e urina. Compilados os dados disponíveis na literatura, e embora em um número relativamente limitado, os resultados confirmaram uma incompatibilidade na relação dos teores de arsênio em sangue e em urina na população de Paracatu: os teores de arsênio em sangue se mostravam extremamente elevados quando relacionados aos baixos teores observados em urina.

INTERCALIBRAÇÃO LABORATORIAL, NACIONAL E INTERNACIONAL

Após diversas reuniões com os coordenadores das sub-áreas da Saúde, em especial com os pesquisadores do Instituto Evandro Chagas-IEC, foi traçado um plano estratégico para re-avaliar as incertezas das análises químicas de teores de arsênio em amostras biológicas humanas realizadas no Instituto Evandro Chagas. Desta forma, foram executadas as seguintes atividades:

- 1- revisão da metodologia de cálculo para todas as matrizes;
- 2- avaliação dos resultados de teores de arsênio para amostras de branco
- 3- avaliação dos resultados de teores de arsênio para amostras certificadas de referência para teores de arsênio em urina e em sangue;
- 4- avaliação dos resultados de teores de arsênio fortificado para amostras de cabelo.

Considerando-se os bons resultados obtidos com as amostras certificadas de urina e não tendo sido observada claramente a localização de erro nas análises para pronta correção para as matrizes sangue e cabelo, partiu-se para um exercício de intercalibração interna, ou seja, no próprio laboratório da SAMAM/IEC, mas utilizando-se metodologia distinta.

Embora a matriz sangue seja mais complexa de se trabalhar do que urina, foi escolhido iniciar a reavaliação dos teores de arsênio em sangue ao invés de em urina porque: 1) era a matriz que estava indicando haver uma maior exposição ambiental, em contraste com os resultados de urina e de cabelo, que indicavam baixa exposição, e portanto, era necessária uma comprovação dos resultados; 2) a técnica para análise de arsênio em sangue por ICP-MS estava validada no laboratório da SAMAM/IEC e todas as condições do equipamento estavam estabelecidas para análises daquela matriz.

Para tanto, foram analisadas em ICP-MS, preliminarmente, 21 amostras de sangue escolhidas aleatoriamente dentre as amostras anteriormente coletadas e estocadas no IEC, e

analisadas por AAS-GF (2015). Na Tabela 1 pode-se observar que os resultados obtidos por ICP-MS mostraram-se, em média duas vezes menores do que os obtidos nas análises por AAS-GF em 2013.

Esses resultados indicaram que: a) a análise de arsênio em sangue por AAS-GF mostrava teores maiores do que os verdadeiros, ou b) poderia ter havido uma perda de analito em função do tempo de preservação das amostras falseando os resultados dessa segunda análise. Assim, para testar a segunda hipótese, as 21 amostras foram novamente analisadas por AAS-GF (2015) e os resultados estão mostrados na Tabela 1.

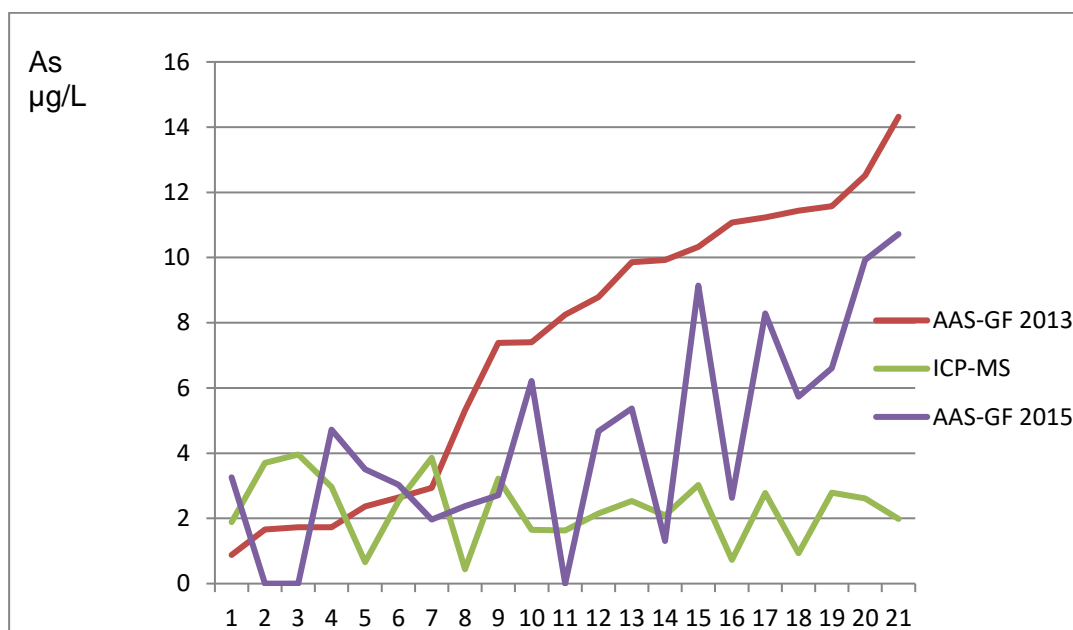
Os resultados indicaram que houve diferença média de aproximadamente mais de 50% nos teores de arsênio obtidos por AAS-GF em 2015 comparativamente aos obtidos em 2013. Apesar dessa diferença média entre os resultados, quando analisamos os resultados par a par de cada uma das amostras, essa tendência de redução dos valores não se reproduz em todas elas e não há coincidência deste decréscimo com o verificado no ICP (ver Gráfico 1), enfraquecendo a possível explicação da diferença de resultados ser devida à redução sistemática de analito ao longo do tempo de estocagem. Reforçando essa interpretação considera-se em geral que quando conservadas em temperatura entre 4°C a -4°C, as amostras de sangue e de urina tem validade de um ano para análise de arsênio. Entretanto, todas as amostras coletadas nesta investigação foram conservadas na temperatura de -80°C, o que permite muito maior prazo de validade.

Tabela 1. Teores de arsênio em amostras de sangue de população de Paracatu-MG, em exercício de intercalibração interna por distintos métodos analíticos, em AAS-GF, em duas épocas (2013 e 2015), e ICP-MS em 2015.

Amostra	AAS-GF-2013	ICP-MS-2015	AAS-GF-2015
1	0,88	1,89	3,26
2	1,66	3,7	-
3	1,73	3,96	-
4	1,73	2,97	4,72
5	2,37	0,66	3,51
6	2,64	2,52	3,03
7	2,94	3,86	1,96
8	5,31	0,44	2,38
9	7,38	3,22	2,71
10	7,4	1,65	6,22
11	8,25	1,63	-
12	8,79	2,15	4,67
13	9,86	2,53	5,37
14	9,93	2,09	1,31
15	10,33	3,02	9,14
16	11,07	0,73	2,63
17	11,23	2,78	8,29
18	11,44	0,93	5,73

19	11,58	2,79	6,61
20	12,52	2,61	9,93
21	14,32	1,98	10,72
Média	7,30	2,29	4,39
DP	4,31	1,03	3,21

Gráfico 1. Valores de arsênio em sangue de 21 amostras aleatórias analisadas em 2013 e reanalisadas em 2015 por AAS-GF, plotadas por pares de resultados da mesma amostra, mostrando a diferença entre os valores de 2013 e 2015 por amostra e resultados de ICP-MS para as mesmas amostras.



Assim, ainda que se tenha considerado que o sangue é uma matriz difícil de ser trabalhada, ou pelo menos, a mais difícil quando comparada com urina e cabelo, foi decidido prioritariamente que, frente a esses resultados preliminares, todas as amostras de sangue seriam novamente analisadas por ICP-MS no IEC, uma vez que o equipamento estava completamente pronto para as análises.

O IEC/SAMAM assumiu então o compromisso de, num primeiro momento, analisar por ICP-MS pelo menos as 140 amostras de sangue cujos resultados anteriores em AAS-GF apresentavam teores de arsênio acima de 10 ppb. Estas análises seriam realizadas durante a segunda ou terceira semana do mês de maio de 2015. Re-análises de todas as demais amostras utilizando ICP-MS seriam realizadas durante o mês de junho de 2015.

Entretanto, um problema técnico no equipamento ocorrido durante o processo de reanálise, impediu a leitura de grande quantidade de amostras já preparadas e exigiu mudança de estratégia, pois não havia previsão para o equipamento voltar a funcionar. O conserto realmente

demorou mais de 3 meses para se efetivar e deixar o equipamento novamente em condições de realizar as análises, sendo que o IEC irá reanalisar as amostras já coletadas.

Com base na informação de que os teores de arsênio em sangue poderiam estar abaixo do que inicialmente medido por AAS-GF e com a impossibilidade de se realizar as análises no laboratório SAMAM/IEC por problemas técnicos no equipamento, em abril de 2015, em reunião no Instituto Evandro Chagas, foi ratificada a necessidade de se realizar uma intercalibração interlaboratorial e foram discutidas estratégias para a realização de intercalibração externa para verificação de teores de arsênio não só em sangue, mas também em urina e cabelo da população amostrada em Paracatu-MG.

Assim, buscou-se intensamente contato com diversas Universidades brasileiras e em laboratórios comerciais, para avaliar a possibilidade de envio das amostras de sangue para nova análise dos teores de arsênio. Durante mais de 3 meses se tentou identificar alguma instituição nacional, pública ou privada, que pudesse dar conta desta atividade, mas não obtivemos sucesso.

Da mesma forma, durante este tempo, foram contatadas instituições estrangeiras, visando identificar os melhores laboratórios. Embora existam laboratórios no exterior com condições de executar as análises de arsênio em sangue, há impedimento para o envio do material biológico coletado em Paracatu para o exterior porque o processo aprovado no Comitê de Ética não previu envio de material biológico para o exterior. Isto significa que as análises do material biológico teriam necessariamente que ser realizadas em laboratórios situados no território nacional. Outra opção seria a resubmissão do processo no Comitê de Ética, mas foi considerado pela equipe técnica que esta opção poderia resultar em um maior prazo e, portanto, maior demora na obtenção dos resultados em diferente metodologia analítica.

A única matriz biológica com possibilidade técnica de ser analisada para teores de arsênio, em laboratórios no Brasil, públicos e privados, é a urina.

Sendo assim, após discussão técnica com os pesquisadores da SAMAM/IEC, foi decidido que seria realizado um exercício de intercalibração externa, ou seja, em laboratórios de outras instituições, para análise de arsênio nas três matrizes: urina, sangue e cabelo.

As análises de arsênio em urina seriam realizadas em laboratórios nacionais, enquanto que as análises de arsênio em sangue e em cabelo seriam realizadas em laboratório internacional, para os quais seria enviado um número limitado de amostras, apenas para o exercício de intercalibração, para o que não havia impedimento no Comitê de Ética.

Nesta reunião foram apresentadas e discutidas também as metodologias e os critérios a serem adotados para a geração aleatória de amostras de sangue, urina e de cabelo para intercalibração externa.

Para a intercalibração de teores de arsênio em urina foram convidados para o exercício de intercalibração, o Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo e selecionado o laboratório comercial Toxikón, credenciado para análises de arsênio em urina. Após a geração das tabuas aleatórias e identificação das amostras para o exercício de intercalibração externa, as amostras de urina foram separadas, descongeladas, alíquotadas (2 grupos de 5ml e um grupo com o restante-entre 10 a 20ml) e retornadas ao freezer. Para cada um dos laboratórios foi enviada uma alíquota da mesma amostra de urina. O transporte das amostras biológicas foi realizado por empresa credenciada. Uma alíquota de 5ml de cada uma das amostras selecionadas permanece no IEC.

As amostras de sangue foram consideradas em dois grupos: a) um grupo de 21 amostras já analisadas por dois métodos analíticos diferentes, como intercalibração interna no IEC, foram guardadas em freezer para envio a algum laboratório nacional. Diversos contatos foram tentados com o Laboratório de Toxicologia, em Ribeirão Preto, sob responsabilidade do Dr. Fernando Barbosa, mas não foi obtido sucesso até o momento, e, b) um grupo diferente, de 30 amostras, que seguiu o critério de seleção foram enviadas para o laboratório BrookRands (Seattle), nos Estados Unidos. O envio internacional das amostras seguiu protocolo do IEC e transporte por empresa especializada.

As amostras de cabelo foram selecionadas aleatoriamente, conforme metodologia previamente definida. A princípio, a estratégia era enviar 5 amostras para o Laboratório BrookRands e 5 amostras para laboratório nacional, possivelmente para o laboratório sob responsabilidade do Dr. Fernando Barbosa-SP. Entretanto, o envio de amostras para instituições nacionais não se mostrou possível, pois não há metodologia validada nos laboratórios nacionais e assim, além das amostras de sangue, as dez amostras de cabelo também foram enviadas para o laboratório BrookRands, nos Estados Unidos. O envio internacional das amostras seguiu protocolo do IEC e transporte por empresa especializada.

O IEC preparou as alíquotas de amostras de urina, sangue e cabelo e preservou o material referente à intercalibração de forma segura. O CETEM assumiu as despesas do envio do material biológico para os destinos doméstico e internacional, bem como das análises da intercalibração, tanto no Brasil quanto no exterior.

O laboratório BrookRands analisou arsênio em amostras de sangue e de cabelo utilizando a metodologia da EPA 1638 modificada. Para o cabelo, o limite de quantificação de arsênio é de 0,003 mg/Kg. As amostras de cabelo foram digeridas em hot-block com ácido nítrico e diluídas com água. O digerido foi analisado por ICP-MS usando tecnologia DRC (Dynamic reaction cell technology).

Para o sangue, o limite de detecção de arsênio é de 0,06µg/L. As amostras de sangue foram diluídas 50x com diluente e agitadas vigorosamente; ácido acético foi adicionado para aumentar a eficiência do plasma ionizante. As amostras foram analisadas para teores de arsênio por ICP-MS usando tecnologia DRC (Dynamic reaction cell technology).

O laboratório Toxikón utilizou procedimentos analíticos devidamente padronizados e validados antes de entrar em rotina, utilizando abertura com oxido-redução, separação por solvente orgânico e posteriormente com solução ácida e análise por AAS-GF (espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite). Para o preparo das curvas de calibração e dos controles analíticos internos foram utilizados padrões certificados, utilizando o 39436 lote BCBL3830V da Fluka Analytical (Sigma-Aldrich) com validade até novembro de 2016. As análises foram acompanhadas de, no mínimo, dois controles analíticos internos de concentrações diferentes, além de controle de reativos e o branco de urina. O laboratório participa periodicamente de Programas Interlaboratoriais de Controle de Qualidade Certificadores e, no caso específico do arsênio, a certificação foi obtida junto ao G-EQUAS (German External Quality Assessment Scheme), programa conduzido pela Sociedade Alemã de Medicina Ocupacional e Ambiental, sendo que o Certificado está vigente até janeiro de 2016. Análises de creatinina também foram realizadas pelo laboratório Toxikon e mostraram similaridade com os resultados obtidos anteriormente, em 2013, reforçando a boa preservação do material durante sua estocagem nos laboratórios do IEC.

O laboratório do Instituto Adolfo Lutz utilizou metodologia de ICP-MS. As amostras foram analisadas em duplicata, utilizando curva de adição padrão com concentrações de As no intervalo de 1 a 5 ppb. A linearidade da curva foi verificada no intervalo utilizado, sendo homocedástica, com valor C de Cochran de 0,6129. Os valores para limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram calculados de acordo com o DOC-CGCRE-008 do Inmetro, e os valores encontrados foram de 0,95 e 3,15 ppb, respectivamente. Para todas as curvas foram fortificadas duas amostras e calculada a porcentagem de recuperação das mesmas para verificar a exatidão do método. As recuperações variaram entre 93.7 a 101.8%.

Os resultados da intercalibração de teores de arsênio em sangue estão mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultado de teores de arsênio (µg/L) em amostras de sangue de população de Paracatu-MG, na intercalibração interlaboratorial do Instituto Evandro Chagas-PA (IEC) com o laboratório BrookRands-EUA (LQ= 0,60 µg/L).

Amostra	IEC	BrookRands
A1-032	7,17	<LQ

A2-072	5,94	<LQ
A4-036	9,98	<LQ
A1-017	9,63	<LQ
A1-078	4,54	<LQ
A1-088	2,84	<LQ
A2-017	10,12	<LQ
A3-104	7,06	<LQ
A4-003	7,44	<LQ
A5-153	8,02	<LQ
A5-213	10,38	<LQ
A6-023	8,38	<LQ
A6-132	4,42	<LQ
A2-136	10,72	<LQ
A4-196	5,54	<LQ
A5-245	9,86	<LQ
P2-004	2,07	<LQ
P1-022	5,80	<LQ
P1-039	5,02	<LQ
P1-101	9,38	<LQ
P1-106	9,22	<LQ
P2-070	6,06	<LQ
P2-083	7,14	<LQ
P3-055	6,41	<LQ
P4-141	10,12	<LQ
P5-117	9,63	<LQ
P5-140	10,42	<LQ
P6-143	6,87	<LQ
P3-140	5,38	<LQ
P5-038	5,06	0,92

A acuracidade e a precisão das análises de arsênio em sangue realizadas no laboratório BrookRands são garantidas pelo uso amostras de referência certificadas para arsênio: 1522025, NIST 1640a, de 8,075 µg/L, com 96% de recuperação. A faixa aceita para a recuperação é de 75 a 125%. E várias amostras em duplicata com spike na matriz, de 500 µg/L, com recuperação de mínima de 98% e máxima de 104% (n=6). A faixa aceita é de 70 a 130%.

Comparando-se os dados obtidos pelos dois laboratórios, os teores de arsênio em sangue, medidos pelo IEC são superiores em uma ordem de grandeza os medidos pelo laboratório BrookRands. Os laboratórios da SAMAM/IEC irão otimizar as metodologias no laboratório para a análise de arsênio nas amostras de sangue coletadas em Paracatu.

Os resultados da intercalibração de teores de arsênio em cabelo estão mostrados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultado de teores de arsênio (mg/kg) em amostras de cabelo de população de Paracatu-MG, na intercalibração interlaboratorial do Instituto Evandro Chagas-PA (IEC) com o laboratório BrookRands-EUA.

Amostra	IEC	BrookRands
A1-019	0,18	0,041
A2-132	0,17	0,063
A4-003	0,17	0,028
A5-194	0,11	0,027
A6-116	0,10	0,028
P1-058	0,42	0,038
P1-104	0,11	0,041
P3-120	0,15	0,034
P5-088	0,14	0,039
P6-182	0,22	0,025

A acuracidade e a precisão das análises de arsênio em cabelo realizadas no laboratório BrookRands são garantidas pelo uso de branco fortificado (spike; 3,0 mg/kg) com 92% de recuperação, com o uso de amostras de referência certificadas para arsênio: 1527063, NIST 1568b, de 0,2850 mg/Kg, com 92% de recuperação e 1204016, NIST 2976, de 13,30 mg/kg com recuperação de 102%. A faixa aceita para a recuperação é de 75 a 125%. E ainda, o spike na matriz, de 4,918 mg/kg, com recuperação de 97%. A faixa aceita é de 70 a 130%.

Comparando-se os dados obtidos pelos dois laboratórios, os teores de arsênio em cabelo, medidos pelo IEC são superiores em uma ordem de grandeza os medidos pelo laboratório BrookRands. Entretanto, não se pode afirmar que a mesma tendência será observada em toda a amostragem. Devido ao alto custo das análises no exterior e a ausência de instituição local para as dosagens de arsênio em cabelo, a solução encontrada é a re-análise de algumas amostras pelos laboratórios da SAMAM/IEC, para definição dos reais teores e para a avaliação final da exposição crônica humana utilizando os teores de arsênio em cabelo. A princípio os métodos utilizados resultaram em teores que indicam baixa exposição crônica.

Os resultados da intercalibração de teores de arsênio em urina estão mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Resultado de teores de arsênio em amostras de urina de população de Paracatu-MG, na intercalibração interlaboratorial do Instituto Evandro Chagas-PA (IEC), com o Toxikón (SP) e o Instituto Adolfo Lutz-SP (IAL; LQ=3,0µg/L); Nd= não determinado.

Amostra	IEC	TOXIKON	IAL
P3-086	1,87	<LQ	3,34

A6-023	1,64	<LQ	4,02
P6-087	2,21	<LQ	24,205
P1-089	3,33	<LQ	15,19
P4-017	0,91	<LQ	3,67
P3-008	0,79	4,3	2,51
A6-143	2,38	4,4	2,98
P2-036	0,57	4,8	8,63
P4-028	1,65	5,3	5,68
A3-144	5,60	5,5	8,84
P2-026	0,14	5,9	2,89
A2-018	1,42	6,1	7,78
A4-188	3,68	9,9	10,9
A6-105	3,40	10,1	10,71
P3-112	0,98	10,6	11,91
A5-032	0,27	10,8	17,54
A2-175	1,44	11,4	12,47
P2-104	0,54	11,4	12,8
A3-191	4,89	11,6	7,62
A3-172	5,62	12,4	13,17
P5-132	0,82	12,8	12,98
A1-142	2,22	14,2	18,32
A2-068	3,30	14,8	14,31
P1-223	3,08	15,5	13,5
A1-072	2,17	15,9	14,95
A1-106	2,02	17,8	17,39
P6-026	2,00	29,4	18,06
A1-055	4,44	34,6	31,14
P5-010	0,71	Nd	4,28
A6-135	4,21	Nd	14,25

Comparando-se os dados obtidos pelos laboratórios IEC, Toxikón e IAL e utilizando-se como teste de hipótese tanto o teste-T para amostras pareadas quanto o Teste F para amostras independentes, os resultados mostram que os dados gerados pelo Toxikón e IAL são iguais entre si (GL=26; t=0,1; n.s), mas diferentes dos dados gerados pelo IEC (IEC x IAL: GL=28; t=0,0000004; p<0,05; IEC x Toxikón: GL=26; t=0,000003; p<0,05). A equipe técnica decidiu, então, consultar o IAL quanto à viabilidade de analisar todas as amostras coletadas em Paracatu, que aceitou realizar as análises.

Assim, após a análise dos resultados obtidos pela intercalibração de teores de arsênio em sangue, cabelo e urina, foi decidido que todas as amostras de urina, prioritariamente, seriam re-analisadas para teores de arsênio nos laboratórios do IAL, uma vez que os resultados de intercalibração no laboratório BrookRands confirmaram os baixos teores de arsênio em cabelo, como já demonstrado pelo IEC, e indicou teores de arsênio em sangue abaixo do limite de

quantificação do método utilizado pelo laboratório BrookRands (0,063ug/L). Desta forma, todos os esforços foram canalizados para as análises de arsênio em urina.

A equipe técnica decidiu que o esforço prioritário deveria ser realizado para a determinação de arsênio em urina, em detrimento das análises de arsênio em sangue e em cabelo, por ser a urina mais estável e confiável e tradicionalmente utilizada para o fim de monitoramento de exposições ambientais ao arsênio.

Após entendimentos com as equipes técnicas do IEC e do IAL-SP, ficou acordado que todas as amostras de urina seriam alíquotadas e uma alíquota seguiu para o IAL, para a reanálise no Laboratório de Inorgânicos do Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo, tendo permanecido uma alíquota de amostra de urina no IEC. O IAL solicitou um prazo de cerca de 5 meses e apoio para a aquisição de material de consumo, o que foi assumido pelo CETEM.

AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AMBIENTAL AO ARSÊNIO DE POPULAÇÃO HUMANA DE PARACATU

Finalizadas as análises, em dezembro de 2015, os resultados dos teores de arsênio em urina da população amostrada em Paracatu-MG são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5. Teores de arsênio em urina ($\mu\text{g/L}$) de moradores adultos (>40 anos) atendidos pelos PSF de Amoreiras e de Paracatuzinho, e valores de referência para arsênio total.

Níveis de Arsênio Urinário As $\mu\text{g/L}$					Valores de Referência		
	Paracatu				São Paulo (capital)*		EUA
	Amoreiras	Paracatuzinho	P	Total		Total (6 a 69 anos)	CDC-NHANES
	N= 404	N= 345		N=749 (>40anos)	N=249 (41 a 69 anos)	N= 1.198 (6 a 69 anos)	N= 2.504
Média (DP)	17,45 (15,2)	14,15 (11,4)	<0.0001	15,92 (13,56)	14,78 (11,67)	15,57 (10,02)	-
Mediana	13,57	11,36		13,21	13,98	13,96	6,09
Min-Max	<LQ-178,2	<LQ-108,7		<LQ-178,19	0,5-83,2	0,5-115,68	-
P25	7,70	6,33		7,77	-	-	
P75	23,50	20,29		23,10	-	-	13,0
P90	32,93	27,76		30,04	-	27,0	32,0
P95	39,84	30,04		36,48	-	32,45	52,4
Media geométrica	14,20	12,43	-	13,04	-		6,85 (5,85-8,02)**

*Valor de Referência oriundo de resultados de estudo realizado em São Paulo, SP em 2011 (dados ainda não publicados); ** CDC (National Health and Nutrition Examination Survey, anos 2011-2012); LQ=limite de quantificação: 3 $\mu\text{g/L}$

Os teores de arsênio total em urina da população da cidade de São Paulo são bastante próximos aos observados em Paracatu. A comparação entre os resultados das duas populações não mostra diferença estatisticamente significativa ($p=0,56$) para a mesma faixa etária nem se comparados à população total de SP ($p=0,70$) (Tabela 5). Desta forma, assemelha-se às características da população amostrada em Paracatu e os teores de arsênio são equivalentes. No entanto, quando comparamos os resultados da população atendida pelo PSF de Amoreiras com os dados de São Paulo, há diferença estatisticamente significativa ($p<0,001$) para a mesma faixa etária bem como para a população total de SP ($p<0,00005$) (Tabela 5). Estes resultados indicam que a contaminação nos bairros atendidos pelo PSF de Amoreiras é maior do que no bairro de Paracatu e na cidade de São Paulo.

Os teores médios (media geométrica) de arsênio total em urina na população norte-americana nos anos de 2011 e 2012 foi de $6,85 \mu\text{g/L}$ ($n=2.504$) (Caldwell et al., 2009); e, segundo o National Health and Nutrition Examination Survey- NHANES, CDC, 2012, nos anos de 2003-2004 foi de $7,70 \mu\text{g/L}$ ($n=2.557$), nos anos de 2005-2006 foi de $8,65 \mu\text{g/L}$ ($n=2.576$) e nos anos de 2007-2008, o teor médio de arsênio em urina foi de $7,49 \mu\text{g/L}$ ($n=2605$). Os teores médios observados em urina de moradores de Paracatu são superiores aos teores médios de arsênio total em urina na população norte-americana.

A National Academy of Science (NAS, 2013) indica que teores de arsênio em urina variam, mas que pode ser considerado como background mundial a faixa entre $1-5 \mu\text{g/L}$ (para a soma de inorgânico, MMA e DMA; ou seja, excluindo-se teores de arsênio de formas químicas orgânicas não relacionadas a efeitos tóxicos e existentes principalmente em peixes marinhos) em populações onde a exposição é considerada basal por diversas vias de exposição.

Em pessoas não expostas ocupacionalmente, a soma das concentrações de arsênio inorgânico, MMA e DMA usualmente será menor do que $10 \mu\text{g/g}$ de creatinina, mas pode variar entre $5-20 \mu\text{g/L}$ (WHO, 2001).

As concentrações de arsênio inorgânico e metabólitos metilados na urina encontradas na população em geral estão em torno de $10 \mu\text{g/l}$ em países europeus e para a população norte-americana e acima de $50 \mu\text{g/l}$ em população japonesa (Caldwell et al., 2009; Foa et al., 1984, 1987; Aizawa & Takata, 1990; Aitio, Hakala & Pyy, 1997). Ainda, um valor de referência de $15 \mu\text{g/l}$ foi reportado para crianças na Alemanha (Schulz et al., 2009). Valores de referência são derivados estatisticamente e se referem à margem superior de exposição para um dado poluente em uma dada população a

um determinado momento. Eles podem ser usados como um critério para classificar os teores medidos em indivíduos ou grupos populacionais como sendo “elevados” ou “não elevados” (German Environmental Survey on Children 2003-2006).

A ASTDR considera que indivíduos não expostos mostram teores de arsênio total em urina abaixo de 100 µg/L. Minóia et al., 1990, trabalhando com 540 pessoas sadias identificou teor médio de arsênio total em urina de $16,7 \pm 1,9$ µg/L (N=540) com faixa de variação entre 1-64,5 µg/L e sugerem que 64,5 µg/L seja considerado um limite superior para anomalias metabólicas, sendo os valores de referencia para não efeitos tóxicos a faixa de 2,3 a 31,1 µg/L enquanto que a faixa de >31,1 a 64,5 µg/L corresponderia a incerteza quanto aos efeitos. Goulle et al., 2005 trabalhando com população não exposta, obtiveram teores médios de arsênio total em urina de 19 µg/L (2,3 - 161 µg/L).

As pessoas que declararam consumir águas de poços são moradores de Paracatuzinho (n=50) e os teores de arsênio em urina variam entre <LQ a 61,65µg/l; com média de 13,94µg/l e média geom. de 10,24µg/l, não diferindo da média da população total de Paracatuzinho (n=345), servida com água de abastecimento doméstico da rede urbana. Isto sugere que diferenças de teores de arsênio nas águas dos poços (abertos ou artesianos) destas residências urbanas e do sistema de abastecimento urbano não sejam significativas.

Os resultados mostram que, da população amostrada:

- 1) dois (2) moradores de Amoreiras e um (1) morador de Paracatuzinho apresentam teores acima de 100 µg/L e devem ser reanalisados;
- 2) oito (8) moradores de Amoreiras apresentam teores acima de 50 µg/L a até 75,83 µg/L; e dois (2) moradores de Paracatuzinho apresentam teores acima de 50 µg/L a até 65,01 µg/L;
- 3) 38% da população total mostram teores de arsênio em urina abaixo de 10µg/L;
- 4) 94% da população total mostram teores de arsênio em urina abaixo de 35µg/L;
- 5) 98,6% da população amostrada mostram teores de arsênio em urina abaixo de 50µg/L,
e
- 6) 1,4% da população amostrada mostram teores de arsênio em urina acima de 50µg/L.

Considerando-se os resultados ambientais obtidos anteriormente, pode-se afirmar que:

- 1) as águas de consumo humano distribuídas pela área urbana do município (bem como de poços de abastecimento doméstico em áreas rurais amostradas e descritas no Relatório Final) não contribuem com a exposição ao arsênio observada na população;
- 2) que os teores de arsênio em solos e no material particulado total na atmosfera são importantes fontes de exposição humana;
- 3) que os maiores teores de arsênio observados no material particulado na atmosfera próximos à área da mineração de ouro devem estar contribuindo significativamente para a maior exposição observada na população que habita próximo à área de lavra e beneficiamento mineral;
- 4) que os teores observados na população de Paracatu estão acima do valor referencial para a população da cidade de São Paulo
- 5) que este fato se deve aos teores observados na população que habita próximo à mineração de ouro
- 6) que os teores médios observados na população de Paracatu estão abaixo dos valores para os quais estão associados aparecimento de câncer de pulmão (100µg/l, segundo Smith et al., 2000)

Atualmente a equipe técnica está reavaliando todos os quesitos preenchidos nas fichas epidemiológicas, com base nos novos resultados e deverá apresentar Relatório Final até Julho de 2016.

CONCLUSÕES

Os teores de As em urina da população amostrada evidenciam ampla variação na população, com média semelhante à obtida para a população urbana de São Paulo e indicam baixa a média exposição corrente da população humana ao As. Os resultados mostram que a exposição ambiental humana é mais alta em bairros próximos à mineração de ouro do que em bairro afastado da mineração de ouro, em concordância com os dados ambientais obtidos de arsênio em material particulado na atmosfera.

É importante aprofundar os estudos para se obter mais informações sobre a contribuição de cada fonte de exposição, mas a diferença entre as médias de arsênio em urina dos grupos em função do local da moradia indica claramente a maior exposição de pessoas moradoras próximo à área da

mineração de ouro. Deve-se investigar outras fontes possíveis, como a alimentação, conforme já mencionado nas recomendações constantes no Relatório Final anterior.

Os casos das mais altas exposições devem ser confirmados para posterior avaliação clínica.

Primeiramente se deverá confirmar os dados obtidos através da coleta de urina, segundo abaixo:

1-Recoleta e análise de amostras de urina em três (3) moradores que mostraram teores de arsênio acima de 100 µg/l a 178 µg/l, para confirmação da exposição;

2-Recoleta e análise de amostras de urina em 10 moradores de bairros atendidos pelo PSF de Amoreiras e três (3) moradores de Paracatuzinho que mostraram teores de arsênio de 50 µg/l a 75 µg/l.

RECOMENDAÇÕES

Todas as recomendações constantes no Relatório Final anterior continuam válidas, sendo prioritário: 1) o estabelecimento de um Programa de Vigilância da exposição ao arsênio na população de Paracatu com envolvimento do SUS ao nível municipal, estadual e federal; 2) estudo específico de exposição em sub-populações de maior risco, crianças e mulheres grávidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aitio, Hakala & Pyy, 1997;

Aizawa & Takata, 1990

ATSDR- Agency for Toxic Substances and Disease Registry-. Toxicological Profile of Arsenic. 500p. 2007

ATSDR. Toxic Guide for Arsenic CAS 7440-38-2. www.stsdr.cdc.gov/toxpro2.html

Caldwell et al., 2009

Foa et al., 1984. The speciation of the chemical forms of arsenic in the biological monitoring of exposure to inorganic arsenic. *Sci Total Environ.*,34 (3): 241-259

Gouille J, Mahieu L, Castermant J, Neveu N, Bonneau L, Laine G, et al. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair reference values. *Forensic Science International* 2005;153:39-44.

Minoia C, Sabbioni, E., Apostoli P; Pietra R, Pozzoli, L., Gallorini, M, Nicolau G., Alessio L., Capodaglio, L (1990) 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. *Science of Total Environment* 95:89-105

National Health and Nutrition Examination Survey- NHANES, CDC, 2012

National Academy of Science (NAS, 2013) Critical Aspects of EPA's IRIS Assessment of Inorganic Arsenic: Interim Report.

Schulz et al., 2009 Revised and new reference values for environmental pollutants in urine or blood of children in Germany derived from the German Environmental Survey on Children 2003-2006 (GerES IV); Int. J. Hyg and Env Health; 212 (6):637-647

Smith, A.H.; Ercumen, A., Yuan, Y., Steinmaus, CM.(2009) Increased lung cancer risks are similar whether arsenic is ingested or inhaled. Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology (19):343-348

WHO, 2001 Environmental Health Criteria 224; Arsenic and Arsenic Compounds, 114p.