

## Exposição ocupacional a formaldeído: avaliação da exposição e efeitos genotóxicos

Carina Ladeira<sup>1-2\*</sup>, Susana Viegas<sup>1-2</sup>, Elisabete Carolino<sup>1</sup>, Mário Gomes<sup>1</sup>, João Prista<sup>2-3</sup>, Manuel Carmo Gomes<sup>4</sup>, Miguel Brito<sup>1</sup>

1. Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa

2. Centro de Investigação e Estudos em Saúde Pública (CIESP), Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade Nova de Lisboa

3. Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade Nova de Lisboa

4. Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa

\* Autor correspondente: carina.ladeira@estesl.ipl.pt

**RESUMO:** O formaldeído (FA) foi classificado, em 2004, pela *International Agency for Cancer Research* como agente cancerígeno. Este agente químico ocupa a 25ª posição em toda a produção química dos Estados Unidos da América, com mais de 5 milhões de toneladas produzidas por ano. Devido à sua importância económica e uso diversificado, muitos indivíduos estão expostos profissionalmente a FA. Com o estudo desenvolvido pretendeu-se avaliar a exposição a FA em dois contextos ocupacionais distintos – na produção de FA e resinas e em laboratórios de anatomia patológica (AP) e relacionar com eventuais efeitos para a saúde, comparando a frequência de micronúcleos (MN) em linfócitos do sangue periférico e em células esfoliadas da mucosa bucal dos trabalhadores expostos a FA com indivíduos não expostos (controlos). Como amostra foram estudados 80 trabalhadores ocupacionalmente expostos a FA: 30 trabalhadores da fábrica de produção de FA e resinas e 50 trabalhadores de 10 laboratórios de AP. Foi constituído um grupo controlo de 85 indivíduos com atividades profissionais que não envolviam a exposição a formaldeído ou qualquer outro agente químico com propriedades genotóxicas. Aplicaram-se duas metodologias distintas de avaliação ambiental do FA com o objetivo de conhecer a exposição profissional. Compararam-se os resultados obtidos com os valores limite para a exposição média ponderada (TLV-TWA=0,75 ppm) e para a concentração máxima (VLE-CM=0,3 ppm). A totalidade dos laboratórios apresentou resultados superiores ao valor de referência existente para a concentração máxima. Nenhum dos resultados obtidos para a exposição média ponderada foi superior ao valor de referência. O exame macroscópico obteve os valores das concentrações máximas mais elevadas em 90% dos laboratórios. Os valores de MN foram mais elevados nos indivíduos expostos a FA comparativamente com os controlos. No caso dos MN nos linfócitos, a média foi de 3,96 nos expostos e de 0,81 nos não expostos. Os MN nas células esfoliadas da boca apresentaram uma média de 0,96 nos expostos e de 0,16 nos controlos. Os resultados obtidos nesta acção de biomonitorização podem revelar-se particularmente úteis para as organizações responsáveis em definir os níveis aceitáveis para a exposição humana a FA.

*Palavras-chave:* genotoxicidade, micronúcleos, exposição ocupacional, formaldeído

## Occupational exposure to formaldehyde: exposure and genotoxic effects assessment

**ABSTRACT:** Since 2004, formaldehyde (FA) has been classified by the International Agency for Cancer Research as a carcinogen. The FA ranks 25<sup>th</sup> in the overall United States chemical production, with more than 5 million tons produced each year. Due to its economic importance and varied use, many individuals are exposed to FA at their occupational settings. This study aimed to assess the exposure to FA in two occupational settings – FA production factory and pathology anatomy (PA) laboratories – and relate it to possible health effects by comparing frequency of micronuclei (MN) in peripheral blood

lymphocytes and exfoliated cells from the oral mucosa of workers exposed to FA with individuals not exposed to this agent (controls). This study was performed in 80 workers occupationally exposed to FA: 30 workers of the FA factory and 50 workers in 10 PA laboratories. The control group comprised 85 subjects without exposure. We have applied two different methodologies for environmental monitoring of FA. The results were compared with the reference to the exposure weighted average (TLV-TWA = 0.75 ppm) and ceiling concentration (VLE-MC = 0.3 ppm). All laboratories had results higher than the reference value to CM (1.41 ppm). None of the results obtained for the TWA exposure (0.16 ppm) were higher than the reference value. Macroscopic examination obtained the highest values of CM in 90% of laboratories. MN values were higher in individuals exposed to FA as compared to controls. As for MN in lymphocytes, the average was 3.96 in exposed compared with 0.81 in the unexposed. The MN in exfoliated cells of the buccal mucosa had an average of 0.96 in exposed, compared with 0.16 in controls. The results of this biomonitoring can be particularly useful to organizations responsible for defining acceptable levels for human exposure to FA.

*Keywords: genotoxicity, micronucleus, occupational exposure, formaldehyde*

## Introdução

Estudos epidemiológicos que utilizam a biologia molecular – epidemiologia molecular possuem um potencial significativo na identificação de patologias oncológicas associadas com a exposição ambiental relacionada com estilos de vida, ocupação ou poluição<sup>1</sup>. Os biomarcadores de genotoxicidade são utilizados para avaliar os efeitos derivados de exposição, ambiental ou ocupacional, sendo classificados como preditivos do risco de doença<sup>2</sup>.

O ensaio dos micronúcleos (MN) é um dos biomarcadores mais sensíveis na deteção do dano no DNA e tem sido utilizado na investigação de efeitos genotóxicos numa variedade de agentes químicos<sup>3</sup>. A avaliação de MN em linfócitos do sangue periférico é a técnica mais comumente utilizada. No entanto, a utilização de células esfoliadas da mucosa bucal também é frequente<sup>4</sup>.

Nos estudos epidemiológicos em humanos, a análise de MN é uma boa ferramenta na investigação dos efeitos de agentes clastogéneos e aneuploidogéneos decorrentes da exposição ocupacional e ambiental<sup>3</sup> e está descrita como uma abordagem promissora na avaliação de risco em saúde<sup>4</sup>.

A avaliação da exposição inclui cinco etapas fundamentais: recolha dos dados, identificação do perigo, formação de grupos de exposição, seleção dos referenciais de exposição adequados e, ainda, seleção de métodos de avaliação da exposição<sup>5-8</sup>.

Recentemente o estudo da exposição às concentrações máximas tem vindo a ser considerado de particular interesse, uma vez que ocorre uma exposição elevada a nível dos tecidos e órgãos alvo, alterando potencialmente o metabolismo, sobrecarregando os mecanismos de proteção e reparação e amplificando as respostas tecidulares<sup>9-10</sup>. Devido a estes aspetos, níveis elevados de exposição num curto período de tempo podem estar implicados na etiologia de doenças crónicas ocupacionais que tradicionalmente estão associadas a exposições cumulativas por períodos de longa duração<sup>10-11</sup>.

De acordo com o *Report on Carcinogens*, o formaldeído (FA) ocupa a 25ª posição em toda a produção química dos Estados Unidos da América com mais de 5 milhões de toneladas produzidas por ano<sup>12</sup>. Devido à sua importância económica e uso diversificado, muitos indivíduos estão expostos ao FA a nível ambiental e/ou ocupacional<sup>13</sup>.

O FA é utilizado na produção de resinas com ureia, fenol e melamina, mobília e outros produtos de madeira e possui uma aplicação importante como desinfetante e preservante, razão pela qual pode ocorrer exposição ocupacional relevante nos laboratórios de Anatomia Patológica (AP) e em morgues<sup>14-16</sup>.

Recentemente, a *International Agency for Research on Cancer* (IARC) reafirmou a classificação do FA no grupo 1, baseada na suficiente associação à incidência de cancro nasofaríngeo em humanos. A IARC concluiu que existe também suficiente evidência de associação do FA com o desenvolvimento de leucemia, nomeadamente leucemia mielóide<sup>14,17-18</sup>.

Os efeitos para a saúde da exposição a FA parecem estar maioritariamente relacionados com a intensidade de períodos de exposição a concentrações elevadas do que com exposições longas a concentrações consideradas aceitáveis. Estes factos suportam a ideia de que a estratégia baseada na determinação das concentrações máximas possivelmente será a melhor para avaliar a exposição e obter dados para a avaliação do risco<sup>14,18</sup>.

O objetivo principal desta investigação foi avaliar a exposição a FA em dois contextos ocupacionais – fábrica de produção de FA e resinas e laboratórios de AP e relacionar com eventuais efeitos para a saúde.

## Materiais e métodos

O estudo foi realizado em Portugal, considerou uma amostra de 80 trabalhadores ocupacionalmente expostos a FA: 30 trabalhadores da fábrica de produção de FA e resinas e 50 trabalhadores de 10 laboratórios de AP. Foi constituído um grupo controlo de 85 indivíduos com atividades profissionais

que não envolviam a exposição a formaldeído ou qualquer outro agente químico com propriedades genotóxicas.

Todos os participantes do estudo preencheram um termo de consentimento informado e um questionário acerca das condições de saúde, história médica, toma de medicamentos e/ou suplementos, estilos de vida, bem como informação acerca de práticas laborais, como a utilização de equipamento de proteção individual.

### 1. Avaliação da exposição

A avaliação ambiental foi realizada no período de Setembro de 2007 a Março de 2008. Em ambos os contextos ocupacionais foram identificados diferentes grupos de exposição. Nos laboratórios de AP foram definidos três: patologistas, técnicos de AP e auxiliares de ação médica. Na fábrica foram também identificados três grupos distintos: produção de resinas, impregnação e controlo de qualidade. Estas definições foram baseadas essencialmente na similaridade das atividades desenvolvidas, sendo esta informação obtida pela observação direta das atividades.

A quantificação da exposição a FA teve por base a aplicação de dois métodos de avaliação ambiental distintos: o Método 1 implicou o recurso a um equipamento de medição das concentrações de formaldeído por leitura direta; e o Método 2 que consistiu na aplicação do Método NIOSH 2541<sup>19</sup>.

## 2. Métodos

### Método 1

Este método implicou a utilização de um equipamento de leitura direta que efetua a medição das concentrações de FA por *Photo Ionization Detection* (PID), registando essa concentração no ar, ao segundo, sendo designado por *First Check*, da *ION Science* ([www.ionscience.com](http://www.ionscience.com)). Foi utilizada uma lâmpada de 11,7 eV, indicada para estudar ambientes contaminados com formaldeído<sup>20</sup>.

A necessidade de selecionar um equipamento de medição que realizasse o registo das concentrações de FA em cada segundo deveu-se ao facto de se pretenderem identificar as rápidas alterações na concentração do FA e associá-las com as atividades desenvolvidas no momento da medição, as quais foram alvo de filmagem simultânea.

O equipamento foi colocado ao nível do aparelho respiratório dos profissionais, durante a execução das atividades estudadas, visto ser esta a via de penetração preferencial do agente químico no organismo<sup>14</sup>.

Antes do início das medições analisou-se a situação de trabalho com o objetivo de decompor a atividade em acontecimentos distintos e sucessivos, permitindo a observação de detalhes, a identificação de quando e onde medir as concentrações de FA e, ainda, a definição de grupos de exposição.

Os valores mais elevados de concentração obtidos em cada atividade estudada por este método foram comparados com o valor limite de exposição para a concentração máxima (VLE-CM=0,3 ppm), estabelecido na Norma Portuguesa NP 1796:2007<sup>21</sup>.

### Método 2

O Método 2 consiste na aplicação do método NIOSH 2541<sup>19</sup>.

Este método implica recorrer a amostragem ativa através da utilização de amostradores individuais (bombas de amostragem de baixo caudal) e de material de retenção colocado próximo do aparelho respiratório dos trabalhadores.

No caso do FA e por se tratar de um agente químico muito reativo, o material de retenção tem que ter na sua composição dinitrofenilhidrazina para que esta reaja com o FA e torne a sua adsorção possível. Posteriormente, o material de retenção é processado e analisado por cromatografia gasosa<sup>19,22</sup>.

O caudal das bombas de amostragem foi verificado antes e após cada utilização. Foram assegurados caudais de recolha inferiores a 0,10 litros/minuto e foi recolhido, por cada bomba de amostragem, um volume total de ar inferior a 36 litros<sup>19</sup>.

As amostras foram posteriormente sujeitas a um processamento analítico específico, por cromatografia gasosa, conforme descrito no método NIOSH 2541.

Os resultados obtidos foram comparados com o valor limite disponível para a concentração média ponderada (TLV – TWA= 0,75 ppm), estabelecido pela *Occupational Safety and Health Administration* (OSHA), por não existir um referencial português.

### 3. Biomonitorização humana

De forma a avaliar os efeitos da exposição ocupacional foi realizado o estudo de biomarcadores de efeito. Os biomarcadores de efeito aplicados foram, especificamente, biomarcadores genotóxicos, através do estudo de micronúcleos (MN) em duas matrizes biológicas distintas: linfócitos de sangue periférico e células esfoliadas da mucosa bucal.

Para a quantificação de MN em linfócitos do sangue periférico foi utilizado o protocolo validado do ensaio de MN por bloqueio da citocinese, desenvolvido por Fenech<sup>23</sup>, que utiliza citocalasina-B para bloquear a citocinese para que os linfócitos possuam uma aparência binucleada.

Os linfócitos foram isolados por gradiente utilizando o Ficoll-Paque e colocados, posteriormente, em meio de cultura RPMI 1640 com L-glutamina, fenol vermelho, soro fetal de bovino inativo a 10%, 50 µg/ml estreptomomicina + 50U/ml de penicilina e 10 µg/ml de fitohemaglutinina. Foram realizadas culturas em duplicado para cada amostra e incubadas numa estufa a 37° C, humificada com 5% de CO<sub>2</sub> por 44h, sendo posteriormente adicionadas 6 µg/ml citocalasina-B, de forma a inibir a citocinese. Após 28h de incubação, as células foram projetadas, através de citocentrifugação, em lâminas de vidro. As lâminas foram secas ao ar, coradas com a técnica de May-Grünwald Giemsa e montadas com entellan®. As frequências de células binucleadas com MN foram determinadas em 1.000 linfócitos no conjunto das duas lâminas por sujeito da amostra.

Para o teste de MN para as células esfoliadas da mucosa bucal obteve-se a amostra através da raspagem do interior

das duas bochechas com escova *endobrush* e a realização posterior de esfregaço diretamente em duas lâminas. As amostras foram imediatamente fixadas com Mercofix®, um fixador com capacidades de preservação à base de metanol. As lâminas foram coradas com a técnica de Feulgen sem contraste<sup>24</sup>, específica para DNA. As lâminas foram secas ao ar e montadas com entellan®. Foram avaliadas no total das duas lâminas 2.000 células que possuísem o núcleo intacto e que não existisse sobreposição entre citoplasmas e núcleos. O critério de avaliação de anormalidades nucleares em linfócitos e de MN em células esfoliadas da mucosa bucal encontra-se descrito, respectivamente, em Fenech, et al.<sup>25</sup> e Tolbert, et al.<sup>26</sup>.

## Resultados

### 1. Avaliação da exposição

Os valores da exposição a FA foram determinados utilizando os métodos anteriormente descritos: PID para obtenção dos valores das concentrações máximas e o NIOSH 2541 para as concentrações médias ponderadas ( $TWA_{8h}$ ) (cf. Tabelas 1 e 2).

Todos os valores obtidos se situam abaixo do valor limite para as concentrações médias ponderadas (TLV-TWA), estabelecido pela OSHA (0,75 ppm). Em alguns laboratórios obtiveram-se valores muito baixos, não tendo sido possível determiná-los por serem inferiores ao limite de detecção do método aplicado<sup>19</sup>.

Em oposição, para as concentrações máximas, todos os resultados obtidos para cada grupo de exposição dos 2 contextos ocupacionais excederam o valor limite (0,3 ppm). Nos laboratórios foram obtidos valores entre 0,18 ppm e 5,02 ppm, com um valor médio de 2,52 ppm. Na fábrica, os valores registados situaram-se entre 0,0 ppm e 1,02 ppm. Igualmente, as 3 atividades estudadas na fábrica obtiveram resultados superiores ao valor limite.

Na produção de resinas, o valor de concentração mais elevado foi obtido durante a colheita de amostras no reator das resinas. Neste caso e na operação da máquina de impregnação não existem disponíveis dispositivos de

exaustão localizada. Apenas na tarefa do grupo de exposição "controlo de qualidade" existia uma pequena *hotte* que não é usualmente utilizada aquando da análise da qualidade das resinas.

No caso dos laboratórios, todos eles apresentaram, pelo menos, uma tarefa com resultados superiores ao valor limite para as concentrações máximas (0,3 ppm) (cf. Figura 1). Considerando as 83 tarefas estudadas nos laboratórios (cf. Tabela 1), 93% dos resultados foram superiores ao valor limite.

O maior valor de exposição foi observado durante a tarefa "exame macroscópico" de material biológico fixado em FA. Esta tarefa é desenvolvida numa bancada de macroscopia com exaustão local e, em todos os laboratórios estudados, se verificou o seu normal funcionamento.

A tarefa "registo de dados" apresentou igualmente valores elevados de concentração de FA, sendo importante referir que esta etapa ocorre durante o exame macroscópico (cf. Tabela 3).

Através da avaliação de 69 exames macroscópicos, tarefa mais frequentemente desenvolvida nestes laboratórios, constatou-se que cerca de 93% dos valores de concentração de FA foram superiores, mais uma vez, ao valor limite.

Neste contexto ocupacional, o valor de concentração máxima mais elevado foi identificado no grupo de exposição "patologistas" e o valor médio mais elevado foi obtido no grupo de exposição "técnicos de AP" (cf. Tabela 4).

É importante considerar que não foi observada a utilização de equipamento de proteção individual (máscara de proteção respiratória) nos dois contextos ocupacionais considerados.

### 2. Biomonitorização humana

A Tabela 5 evidencia que a média de MN nos trabalhadores expostos ocupacionalmente a FA é maior comparativamente ao grupo controlo, quer em linfócitos de sangue periférico ( $p < 0,001$ ) quer em células esfoliadas da mucosa bucal ( $p < 0,001$ ).

Quando analisado cada contexto ocupacional em separado, verificam-se diferenças estatisticamente significativas

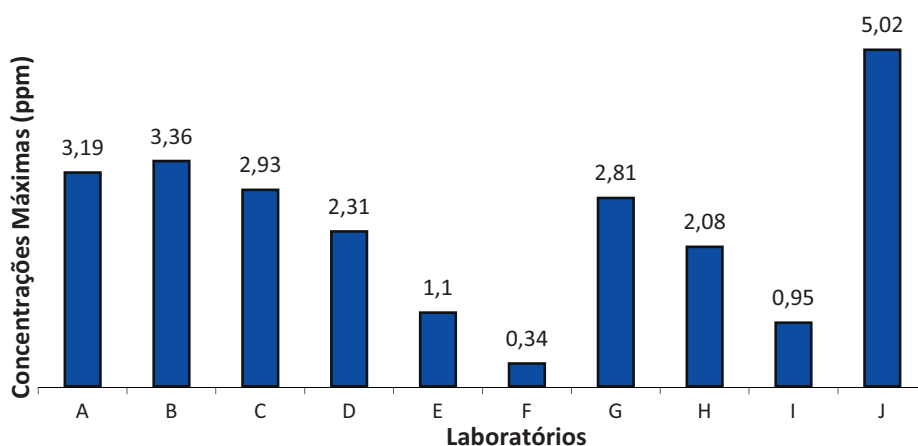


Figura 1: Valor de concentração máxima obtida nos laboratórios de anatomia patológica.

**Tabela 1:** Resultados da exposição a FA nos laboratórios de anatomia patológica estudados (MP – Média Ponderada, CM – Concentração Máxima)

Laboratórios	Grupos de exposição	FA (MP) n=29 (ppm)	FA (CM) n=83 (ppm)	Intervalo dos valores de CM (ppm)	Média dos valores de CM (ppm)
A	Auxiliar de Ação Médica	0,27	2,51	1,05 – 2,51	1,78
	Patologistas	<LOD	3,19	0,34 – 3,19	1,04
	Técnicos de AP	0,16	NM	-----	
B	Auxiliar de Ação Médica	0,15	0,62	0,62	-----
	Patologistas	0,24	2,71	1,49 – 3,36	2,23
	Técnicos de AP	0,16	3,36	1,91 – 3,36	2,31
C	Auxiliar de Ação Médica	0,12	0,53	0,53	-----
	Patologistas	0,47	2,93	1,53 – 2,93	2,18
	Técnicos de AP	0,51	2,28	2,22 – 2,28	2,25
D	Auxiliar de Ação Médica	< LOD	NM	-----	
	Patologistas	0,07	2,31	2,09 – 2,31	2,21
	Técnicos de AP	0,11	0,85	0,85	-----
E	Auxiliar de Ação Médica	< LOD	NM	-----	-----
	Patologistas	0,06	1,10	0,95 – 1,10	1,03
	Técnicos de AP	0,07	0,85	0,85	-----
F	Auxiliar de Ação Médica	0,09	NM	-----	-----
	Patologistas	0,23	0,34	0,22 – 0,34	0,28
	Técnicos de AP	0,12	0,28	0,28	-----
G	Auxiliar de Ação Médica	0,16	0,71	0,64 – 1,71	0,67
	Patologistas	0,05	2,81	0,18 – 2,81	0,56
	Técnicos de AP	0,04	1,26	1,26	-----
H	Auxiliar de Ação Médica	0,25	0,68	0,68	----
	Patologistas	0,11	2,08	1,21 – 2,08	1,65
	Técnicos de AP	0,25	0,68	0,68	----
I	Auxiliar de Ação Médica	0,05	0,95	0,95	----
	Patologistas	< LOD	0,47	0,21 – 0,47	0,34
	Técnicos de AP	0,06	NM	----	----
J	Auxiliar de Ação Médica	NM	NM	----	----
	Patologistas	0,13	5,02	1,15 – 5,02	3,24
	Técnicos de AP	0,08	4,32	4,32	----

\* Valores mais elevados para cada grupo de exposição  
 < LOD – Abaixo do limite de detecção  
 NM – Não Mensurável

**Tabela 2:** Resultados da exposição a FA na fábrica (MP – Média Ponderada, CM – Concentração Máxima)

Grupos de exposição	FA (MP) n=3 (ppm)	FA (CM) n=3 (ppm)	Intervalo dos valores de CM (ppm)	Média dos valores de CM (ppm)
Produção de resinas	NM	Recolha de amostra do reator 1,02	0,01 – 1,02	0,15
Impregnação	< LOD	Operação na máquina de impregnação 1,04	0,00 – 1,04	0,21
Controlo de qualidade	< LOD	Análise de uma amostra de resina 0,52	0,01 – 0,52	0,08

< LOD – Abaixo do limite de detecção  
 NM – Não Mensurável

**Tabela 3:** Exposição a FA nas atividades desenvolvidas nos laboratórios (CM – Concentração Máxima)

Tarefas	Número	Valores de CM (ppm)	Trabalhadores expostos
Exame macroscópico	69	5,02	Patologista
Descarte do material biológico e de FA usado	5	0,95	Técnicos de AP e Auxiliares de Ação Médica
Mudança de reagentes	2	2,51	Auxiliares de Ação Médica
Registo de dados	3	4,32	Técnicos de AP
Lavagem de material biológico	2	2,28	Técnicos de AP
Biópsias	2	1,91	Técnicos de AP

**Tabela 4:** Resultados de CM para cada grupo de exposição (CM – Concentração Máxima)

Grupos de exposição	Atividades estudadas	Intervalo (ppm)	Média (ppm)	Desvio-padrão (ppm)
Auxiliar de Ação Médica	9	0,28 – 2,51	0,86	0,58
Patologista	65	0,21 – 5,02	1,42	1,07
Técnicos de AP	14	0,68 – 4,32	2,04	0,95

\* Algumas atividades envolvem exposição simultânea dos dois grupos

**Tabela 5:** Média de MN no grupo exposto – fábrica e laboratórios de anatomia patológica e no grupo controle

	Controlos	Expostos		
		Fábrica	Laboratório de Anatomia Patológica	Total
MN linfócitos Média ± Desvio-padrão	1,17±1,95	1,76±2,07	3,70±3,86	2,97±3,42
MN células epiteliais da boca Média ± Desvio-padrão	0,13±0,48	1,27±1,55	0,64±1,74	0,88±1,69

entre as médias de MN em linfócitos ( $p < 0,001$ ) e células esfoliadas da mucosa bucal ( $p < 0,005$ ) entre o grupo de expostos pertencentes ao laboratório e o grupo de controle. No que concerne ao grupo da fábrica, foram detetadas diferenças significativas nas frequências de MN apenas nas células esfoliadas da mucosa bucal ( $p < 0,001$ ).

Finalmente, a comparação das frequências de MN entre os dois grupos de exposição (fábrica e laboratórios) permitiu verificar que a frequência de MN em linfócitos foi significativamente maior nos laboratórios ( $p < 0,005$ ); no entanto, no que diz respeito às células esfoliadas da mucosa bucal não se registaram diferenças significativas ( $p=0,108$ ).

## Discussão

A avaliação da exposição nos dois contextos ocupacionais estudados permitiu observar exposição a concentrações elevadas de FA durante curtos períodos de tempo, confirmando estudos previamente publicados<sup>15,27-28</sup>. A importância deste resultado reside no reforço da evidência de que os efeitos para a saúde decorrentes da exposição a FA parecerem estar relacionados essencialmente com a exposição a concentrações elevadas durante curtos períodos de tempo<sup>14,29</sup>. Exposições com estas características são

de especial interesse, uma vez que podem produzir doses de exposição elevadas nos órgãos e tecidos-alvo, alterando potencialmente o seu metabolismo, sobrecarregando mecanismos de reparação e proteção e amplificando as respostas tecidulares<sup>9-10</sup>. Pyatt, et al.<sup>29</sup> sugerem mesmo que a maioria dos estudos epidemiológicos anteriores estariam seriamente limitados por falta de dados acerca da exposição a concentrações máximas. Nesses estudos, com efeito, os efeitos para a saúde estavam associados exclusivamente a dados da exposição média ponderada ( $TWA_{8h}$ )<sup>29</sup>. Até 2004, apenas dois estudos associaram os efeitos para a saúde com resultados da exposição das concentrações máximas, obtendo valores de risco relativo superiores em comparação com os estudos anteriores<sup>16,30-31</sup>.

Recentemente, um estudo desenvolvido em embalsamadores reportou que a taxa de mortalidade por leucemia aumentava significativamente, não apenas com os anos de atividade, mas também com a exposição a concentrações elevadas durante curtos períodos de tempo<sup>18,32</sup>.

Os resultados nos laboratórios demonstraram que o “exame macroscópico” é a tarefa que envolve maior exposição a FA. Este facto deve-se, provavelmente, à elevada precisão e boa visualização necessária para a consecução

deste exame, levando a que os patologistas necessitem de grande proximidade ao material biológico fixado com FA promovendo, assim, uma maior exposição<sup>15,28</sup>. Apesar de ser o grupo de exposição “patologista” quem normalmente realiza esta tarefa, o grupo “técnicos de AP” obteve simultaneamente a exposição mais elevada às TWA<sub>8h</sub> e a maior média dos valores de concentração máxima. Este resultado pode ser justificado pelo facto de este grupo estar envolvido num maior número de atividades que implicam a manipulação de FA durante o turno de trabalho.

No caso da fábrica, a tarefa “recolher amostra do reator” resultou numa exposição elevada, devido provavelmente à proximidade ao reator e à sua abertura. É importante referir que este tipo de informação – determinantes da exposição, fontes de emissão e trabalhadores expostos – apenas foi possível obter através da filmagem realizada em simultâneo com a medição das concentrações (método 1, cf. Figura 2), a qual possibilita o relacionamento direto da exposição com a atividade do trabalhador<sup>33-35</sup>. Adicionalmente, as medições em tempo real possibilitam a avaliação das medidas de controlo da exposição e a sua eficácia<sup>36</sup>.

Em concordância com outros estudos<sup>37-39</sup>, foi possível concluir que o estudo da exposição a concentrações médias ponderadas fornece escassa informação e de menor utilidade na identificação das atividades que devem ser alvo prioritário de medidas de eliminação e/ou controlo da exposição.

Exposições de longa duração a FA, como as que caracterizam habitualmente os contextos ocupacionais, são suspeitas de estarem associadas a efeitos genotóxicos, passíveis de mensuração por biomarcadores<sup>14,40-41</sup>. Neste estudo, os resultados demonstraram que os trabalhadores dos laboratórios de AP e da fábrica estão expostos a valores de FA que excedem os valores de referência e foi igualmente observada uma associação estatisticamente significativa entre a exposição a FA e os biomarcadores de genotoxicidade utilizados.

O dano cromossómico nos linfócitos pode ser justificado pelo facto de o FA ultrapassar o local de contacto direto,

como a cavidade bucal, originando alterações nucleares nos linfócitos<sup>16,28,42-43</sup>. Os resultados apresentados nesta investigação corroboram estudos anteriores<sup>42</sup> que reportam que os linfócitos podem ser comprometidos por exposições de longa duração, indicando que os efeitos citogenéticos provocados pelo FA se devem ao alcance de tecidos para além do local inicial de contacto<sup>43</sup>.

As exposições de longa duração a elevadas concentrações de FA possuem um elevado potencial de dano generalizado do DNA. Estudos experimentais em animais demonstram efeitos genotóxicos locais após exposição a FA, originando ligações cruzadas DNA-proteína, aberrações cromossómicas estruturais e células aberrantes<sup>4</sup>.

Neste estudo verificou-se que a frequência de MN em linfócitos de sangue periférico foi significativamente maior no grupo dos laboratórios em comparação com o grupo da fábrica, possivelmente devido ao maior número de anos de atividade e, conseqüentemente, de exposição, no primeiro grupo.

Em humanos, a exposição a FA está associada ao aumento da frequência de MN nas células do epitélio bucal<sup>45-47</sup>, como corroborado nos resultados apresentados nesta investigação.

Suruda, et al.<sup>44</sup> reportam que, apesar de a presença de alterações nas células epiteliais bucais, nasais e sangue não indicar um mecanismo direto conducente a carcinogénese, indica pelo menos ocorrência de alterações no DNA. Parece bastante razoável concluir que o FA é um fator de risco para os trabalhadores expostos nos dois contextos ocupacionais estudados<sup>14</sup>.

### Considerações finais

Os resultados obtidos neste estudo confirmam a evidência de associação entre a exposição ocupacional a FA em trabalhadores nos laboratórios de anatomia patológica e a presença de alterações nucleares. No que concerne ao grupo da fábrica, diferenças significativas nas frequências de MN foram detetadas apenas nas células esfoliadas da mucosa bucal, o que se poderá dever, entre outros fatores,

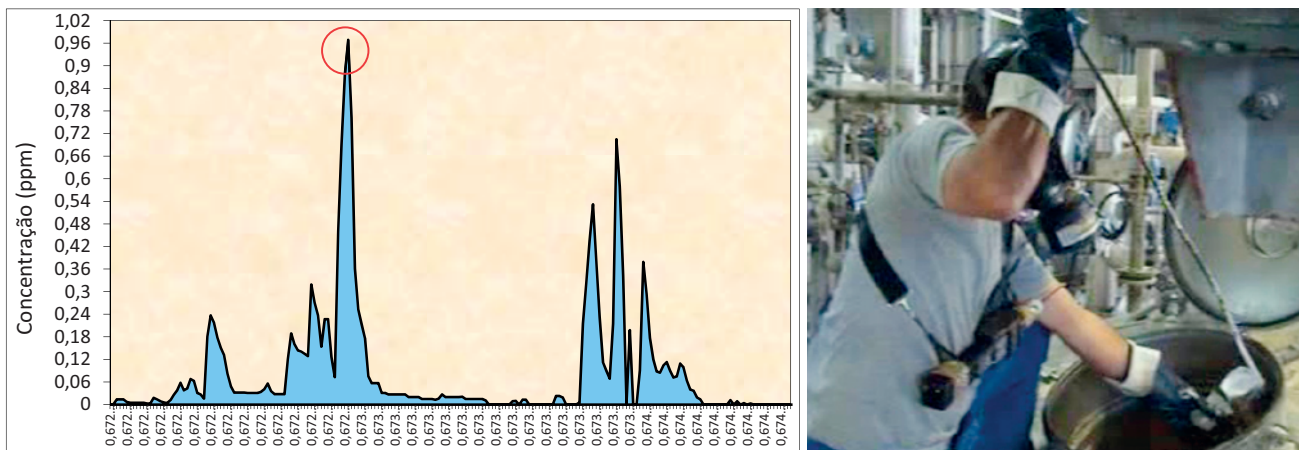


Figura 2: Informação disponibilizada através de PID e recolha de imagem em simultâneo.

**Tabela 6:** Média de MN nos grupos de exposição dos laboratórios de anatomia patológica

	Laboratórios de anatomia patológica		
	Patologista	Técnico de AP	Auxiliar de Ação Médica
MN linfócitos Média ± Desvio-padrão	5,00±1,24	3,76±0,647	4,13±1,55
MN células epiteliais da boca Média ± Desvio-padrão	0,58±0,434	1,18±0,406	0,88±0,611

**Tabela 7:** Média de MN nos grupos de exposição da fábrica

	Fábrica		
	Produção de resinas	Impregnação	Controlo de qualidade
MN linfócitos Média ± Desvio-padrão	1,85±2,48	1,16±1,04	4,5±0,7
MN células epiteliais da boca Média ± Desvio-padrão	0,66±0,94	1,75±1,79	3,5±0,5

ao facto de terem ainda pouco tempo de exposição a FA por se tratar de uma unidade de produção recente.

Nos laboratórios de AP, a redução da exposição a FA pode ser conseguida com a utilização adequada dos dispositivos de exaustão localizada e colocação dos recipientes que contêm o material biológico em áreas com ventilação adequada. Na fábrica, as medidas de prevenção devem considerar a automatização de alguns processos, como a recolha de amostras do reator e, adicionalmente, a promoção do uso do dispositivo de ventilação localizada existente no laboratório de controlo de qualidade.

Os métodos de avaliação da exposição aqui aplicados permitem concluir que um método que faculte dados acerca das concentrações máximas de formaldeído presentes no ambiente de trabalho será mais adequado por disponibilizar informações mais detalhadas e pertinentes para a ação preventiva.

O ensaio dos MN por bloqueio da citocinese é uma técnica simples, prática, pouco dispendiosa e relativamente não invasiva que pode ser utilizada para a vigilância da saúde de trabalhadores em contextos ocupacionais que envolvam risco carcinogénico, nomeadamente a exposição a agentes genotóxicos, como o FA.

### Referências Bibliográficas

- Portier CJ, Bell DA. Genetic susceptibility: significance in risk assessment. *Toxicol Lett.* 1998;102-103:185-9.
- Manno M, Viau C, Cocker J, Colosio C, Lowry L, Mutti A, et al. Biomonitoring for occupational health risk assessment (BOHRA). *Toxicol Lett.* 2010;192(1):3-16.
- Ishikawa H, Tian Y, Yamauchi T. Influence of gender, age and lifestyle factor on micronuclei frequency in healthy Japanese populations. *J Occup Health.* 2003;45(3):179-81.
- Battershill JM, Burnett K, Bull S. Factors affecting the incidence of genotoxicity biomarkers in peripheral blood lymphocytes: impact on design of biomonitoring studies. *Mutagenesis.* 2008;23(6):423-37.
- Herber RF, Duffus JH, Christensen JM, Olsen E, Mark MV. Risk assessment for occupational exposure to chemicals: a review of current methodology. *Pure Appl Chem.* 2001;73(6):993-1031.
- U. S. Environmental Protection Agency. Guidelines for exposure assessment. Washington, DC: US EPA; 1992. ISBN 989-8076-02-1.
- Stewart P, Stenzel M. Exposure assessment in the occupational setting. *Appl Occup Environ Hyg.* 2000;15(5):435-44.
- Ritter L, Solomon K, Sibley P, Hall K, Keen P, Mattu G, et al. Sources, pathways, and relative risks of contaminants in surface water and groundwater: a perspective prepared for the Walkerton inquiry. *J Toxicol Environ Health A.* 2002;65(1):1-142.
- Smith T. Studying peak exposure: toxicology and exposure statistics. In: Marklund S, editor. *Exposure assessment in epidemiology and practice.* Stockholm: National Institute for Working Life; 2001. p. 207-9.
- Preller L, Burstyn I, De Pater N, Kromhout H. Characteristics of peaks of inhalation exposure to organic solvents. *Ann Occup Hyg.* 2004;48(7):643-52.
- Checkoway H, Rice CH. Time-weighted averages, peaks, and other indices of exposure in occupational epidemiology. *Am J Ind Med.* 1992; 21(1):25-33.
- National Toxicology Program. Formaldehyde (Gas) – CAS no. 50-00-0: substance profile, report on carcinogens [Internet]. 11<sup>th</sup> ed. Washington, DC: National Institutes of Health; 2005. Available from: <http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/eleventh/profiles/s089form.pdf>
- Nazaroff WW. *Indoor air chemistry: cleaning agents, ozone and toxic air contaminants.* Berkeley, CA: California Air Resources Board, California Environmental Protection Agency; 2006.
- International Agency for Research on Cancer. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol. Lyon: IARC; 2006. ISBN 92-832-1288-6.

15. Goyer N, Beaudry C, Bégin D, Bouchard M, Buissonnet S, Carrier G, et al. Impacts d'un abaissement de la valeur d'exposition admissible au formaldéhyde: industries de fabrication de formaldéhyde et de résines à base de formaldéhyde. Montréal: Institut de Recherche Robert-Sauvé en Santé et en Sécurité du Travail; 2004.
16. Zhang L, Steinmaus C, Eastmond DA, Xin XK, Smith MT. Formaldehyde exposure and leukaemia: a new meta-analysis and potential mechanisms. *Mutat Res.* 2009;681(2-3):150-68.
17. Baan R, Grosse Y, Straif K, Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, et al. A review of human carcinogens – Part F: chemical agents and related occupations. *Lancet Oncol.* 2009;10(12):1143-4.
18. Hauptmann M, Stewart PA, Lubin JH, Freeman LE, Hornung RW, Herrick RF, et al. Mortality from lymphohematopoietic malignancies and brain cancer among embalmers exposed to formaldehyde. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101(24):1696-708.
19. NIOSH. Applications manual for the revised NIOSH lifting equation. Cincinnati, OH: National Institute for Occupational Safety and Health; 1994.
20. Langhorst ML. Photoionization detector sensitivity of organic compounds. *J Chromatogr Sci.* 1981;19(2): 98-103.
21. Instituto Português da Qualidade. NP 1796:2007 – Segurança e saúde do trabalho: valores limite de exposição profissional a agentes químicos existentes no ar dos locais de trabalho. Caparica: IPQ; 2007.
22. Brown RH. The sampling of gases and vapours: principles and methods. In Gardiner K, Harrington JM, editors. *Occupational hygiene.* 3<sup>rd</sup> ed. Massachusetts: Blackwell Publishing; 2005. p. 208-21.
23. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc.* 2007;2:1084-104.
24. Nersesyan A, Kundi M, Atefie K, Schulte-Hermann R, Knasmüller S. Effect of staining procedures on the results of micronucleus assays with exfoliated oral mucosa cells. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;15(10):1835-40.
25. Fenech M, Holland N, Chang W, Zeiger E, Bonassi S. The HUMAN MicroNucleus Project: An international collaborative study on the use of micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutat Res.* 1999;428(1-2):271-83.
26. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear abnormalities in buccal smears: a field test in snuff users. *Am J Epidemiol.* 1991;134(8):840-50.
27. Shaham J, Bomstein Y, Gurchik R, Rashkovsky M, Kaufman Z. DNA-protein crosslinks and p53 protein expression in relation to occupational exposure to formaldehyde. *Occup Environ Med.* 2003;60(6):403-9.
28. Orsière T, Sari-Minodier I, Iarmarcovai G, Botta A. Genotoxic risk assessment of pathology and anatomy laboratory workers exposed to formaldehyde by use of personal air sampling and analysis of DNA damage in peripheral lymphocytes. *Mutat Res.* 2006;605(1-2):30-41.
29. Pyatt D, Natelson E, Golden R. Is inhalation exposure to formaldehyde a biological plausible cause of lymphohematopoietic malignancies? *Regul Toxicol Pharmacol.* 2008;51(1):119-33.
30. Hauptmann M, Lubin JH, Stewart PA, Hayes RB, Blair A. Mortality from solid cancers among workers in formaldehyde industries. *Am J Epidemiol.* 2004;159(12):1117-30.
31. Pinkerton LE, Hein MJ, Stayner LT. Mortality among a cohort of garment workers exposed to formaldehyde: an update. *Occup Environ Med.* 2004;61(3):193-200.
32. Dreyfuss JH. Occupational formaldehyde exposure linked to increased risk of myeloid leukemia and death. *CA Cancer J Clin.* 2010;60(3):135-6.
33. Ryan TJ, Burroughs GE, Taylor K, Kovein, RJ. Video exposure assessments demonstrate excessive laboratory formaldehyde exposures. *Appl Occup Environ Hyg.* 2003;18(6):450-7.
34. Rosén G, Andersson IM, Walsh PT, Clark RD, Säämänen A, Heinonen K, et al. A review of video exposure monitoring as an occupational hygiene tool. *Ann Occup Hyg.* 2005;49(3):201-17.
35. Mcglothlin JD. Occupational exposure assessment and control using video exposure monitoring in the pharmaceutical industry. In International Scientific Conference (IOHA 2005), 6, 19-23 September 2005, Pilanesberg National Park North West Province, South Africa. Pilanesberg: IOHA – International Occupational Hygiene Association; SAIOSH – Southern African Institute for Occupational Hygiene; MVS – Mine Ventilation Society of South Africa; 2005.
36. Yokel RA, MacPhail RC. Engineered nanomaterials: exposures, hazards, and risk prevention. *J Occup Med Toxicol.* 2011;6:7.
37. Susi P, Schneider S. Database needs for a task-based exposure assessment model for construction. *Appl Occup Environ Hyg.* 1995;10(4):394-9.
38. Kromhout H. Design of measurement strategies for workplace exposures. *Occup Environ Med.* 2002;59(5):349-54.
39. Meijster T, Tielemans E, Schinkel J, Heederik D. Evaluation of peak exposures in the Dutch flour processing industry: implications for intervention strategies. *Ann Occup Hyg.* 2008;52(7):587-96.
40. Viegas S, Prista J. Cancro nasofaríngeo e exposição a formaldeído: avaliação da história profissional em 63 casos registados. *Soc Port Med Trabalho.* 2007;6(1):13-22.
41. Conaway CC, Whysner J, Verna LK, Williams GM. Formaldehyde mechanistic data and risk assessment: endogenous protection from DNA adduct formation. *Pharmacol Ther.* 1996;71(1-2):29-55.
42. Ye X, Yan W, Xie H, Zhao M, Ying C. Cytogenetic analysis of nasal mucosa cells and lymphocytes from high-level long-term formaldehyde exposed workers and low-level short-term exposed waiters. *Mutat Res.* 2005;588(1):22-7.
43. He JL, Jin LF, Jin HY. Detection of cytogenetic effects in peripheral lymphocytes of students exposed to formaldehyde with cytokinesis-blocked micronucleus assay. *Biomed Environ Sci.* 1998;11(1):87-92.
44. Suruda A, Schulte P, Boeniger M, Hayes RB, Livingston GK, Steenland K, et al. Cytogenetic effects of formaldehyde

- exposure in students of mortuary science. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1993;2(5):453-60.
45. Speit G, Schmid O, Fröhler-Keller M, Lang I, Triebig G. Assessment of local genotoxic effects of formaldehyde in humans measured by the micronucleus test with exfoliated buccal mucosa cells. *Mutat Res.* 2007;627(2):129-35.
46. Speit G, Schmid O. Local genotoxic effects of formaldehyde in humans measured by the micronucleus test with exfoliated epithelial cells. *Mutat Res.* 2006;613(1):1-9.
47. Burgaz S, Erdem O, Çakmak G, Erdem N, Karakaya A, Karakaya AE. Cytogenetic analysis of buccal cells from shoe-workers and pathology and anatomy laboratory workers exposed to n-hexane, toluene, methyl ethyl ketone and formaldehyde. *Biomarkers.* 2002;7(2):151-61.

Artigo recebido em 18.10.2011 e aprovado em 31.01.2012.