



Claudia Maribel Vega Ruiz

**Interações mercúrio-selênio: uma abordagem integrada
de Avaliação de Exposição ao Mercúrio em populações
ribeirinhas no município de Porto Velho,
Rondônia.**

Tese de Doutorado

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da PUC-Rio como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: José Marcus de Oliveira Godoy
Co-orientadora: Sandra de Souza Hacon

Rio de Janeiro
Novembro de 2014



Claudia Maribel Vega Ruiz

**Interações mercúrio-selênio: uma abordagem
Integrada de Avaliação de Exposição ao
Mercúrio em populações ribeirinhas no
município de Porto Velho, Rondônia**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof. José Marcus de Oliveira Godoy

Orientador

Departamento de Química - PUC-Rio

Profa. Sandra de Souza Hacon

Co-Orientador

FIOCRUZ

Prof. Olaf Malm

UFRJ

Prof. Paulo Rubens Guimarães Barrocas

FIOCRUZ

Prof. Marlon de Freitas Fonseca

FIOCRUZ

Prof. Sergio Felipe Jerez Vergueira

UFRJ

Profa. Adriana Gioda

Departamento de Química - PUC-Rio

Dra. Tércia Guedes Seixas

FIOCRUZ

Prof. José Eugenio Leal

Coordenador Setorial do Centro Técnico Científico – PUC-Rio

Rio de Janeiro, 17 de novembro de 2014

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem a autorização da universidade, da autora e do orientador.

Claudia Maribel Vega Ruiz

Gradou-se em Medicina Veterinária na USAC (Universidade San Carlos de Guatemala) em 2004. Formou-se no Mestrado em Saúde Pública e Meio Ambiente na ENSP (Escola Nacional de Saúde Pública) em 2008.

Ficha Catalográfica

Ruiz, Claudia Maribel Vega

Interações mercúrio-selênio: uma abordagem integrada de avaliação de exposição ao mercúrio em populações ribeirinhas no município de Porto Velho, Rondônia / Claudia Maribel Vega Ruiz ; orientador: José Marcos Godoy ; co-orientadora: Sandra Hacon. – 2015.

127 f. : il. (color.) ; 30 cm

Tese (doutorado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2015.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. Mercúrio. 3. Selênio. 4. Saúde infantil. 5. Usina hidrelétrica. 6. Avaliação de exposição. 7. População ribeirinha. 8. Amazônia. I. Godoy, José Marcos. II. Hacon, Sandra. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. IV. Título.

CDD: 540

Knowing is not enough; we must apply

Willing is not enough; we must do.

-Goethe

Agradecimentos

Agradeço a Deus e a todas as pessoas que fizeram possível eu estar aqui presente, concluindo meu doutorado.

Meus pais e minha família salvadorenha por seu apoio incondicional e sempre acreditar em mim.

Ao Prof. Reinaldo Calixto, que abriu as portas e aceitou me orientar, uma veterinária na área da química.

À Profa. Sandra Hacon, que sempre me apoiou em todos os momentos, e incentivo na pesquisa e, além do mais, um exemplo de pesquisadora que me ensinou que o conhecimento tem que ser aplicado para melhorar uma realidade.

Ao Prof. José Marcus Godoy que me aceitou como aluna em um momento difícil e me apoiou no desenvolvimento de minha pesquisa.

Ao Rodrigo Araújo Gonçalves que sentou horas comigo para descobrir outros caminhos para contornar os obstáculos encontrados durante a pesquisa, e me ensinou a prática do método analítico.

À equipe do “LAATOM” e da FIOCRUZ pelo apoio, amizade e paciência durante todo esse tempo.

À família Brandão, minha família brasileira, pelo apoio incondicional e por ter me adotado e feito me sentir como parte da família.

A todos os meus amigos brasileiros e salvadorenhos e de outras partes do mundo que estiveram comigo, física, virtualmente e em pensamento, me apoiando e animando nos momentos difíceis, e que sem sua companhia teria sido difícil superar.

Um agradecimento especial a Teresa Durão, que se ofereceu para uma missão difícil, corrigir o Português da minha tese!

Para Douglas Oliveira por ajudar nesses últimos detalhes e Fatima Almeida pela paciência e ajuda com esses tramites burocráticos.

À CAPES pelo apoio financeiro, e à PUC-Rio pela bolsa de Isenção.

Resumo

Ruiz, Claudia Maribel Vega; Godoy, Jose Marcus de Oliveira. **Interações mercurio-selênio: uma abordagem integrada de Avaliação de Exposição ao Mercúrio em populações ribeirinhas no município de Porto Velho, Rondônia.** Rio de Janeiro, 2014. 127p. Tese de Doutorado – Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

O mercúrio na Amazônia brasileira tem sido estudado devido à ocorrência de garimpo de ouro, que é uma atividade que aumenta a carga do mercúrio neste ecossistema. A forma mais tóxica deste elemento é o metil mercúrio, que é um potente neurotóxico com propriedade de atravessar a barreira placentária e afetar o desenvolvimento do feto com consequências irreversíveis para o recém-nascido. As populações ribeirinhas da Região Amazônica têm como principal fonte de proteína a ingestão de peixe, que dependendo do seu nível trófico podem constituir uma importante fonte de metil-mercúrio para estas populações. Embora atividades como o garimpo tenham diminuído nos últimos anos, os projetos de desenvolvimento, na região Amazônica, podem aumentar os níveis de Hg incorporados na cadeia trófica em forma de metil mercúrio. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a exposição de Hg (matriz sangue e cabelo), na etapa de pré-enchimento do reservatório de uma hidrelétrica no rio Madeira, com foco principal na saúde infantil, em duas comunidades ribeirinhas, localizadas nas áreas de influência direta e indireta da usina hidrelétrica. A avaliação da exposição ao mercúrio foi analisada junto a outras variáveis importantes, como as concentrações de Se no sangue, dieta, parâmetros bioquímicos, antropométricos e pressão arterial, com o intuito de gerar uma informação *baseline* para comparações futuras dos padrões de exposição após do estabelecimento da usina. Os resultados apontaram que não existe uma diferença significativa entre as condições de saúde gerais entre ambas as comunidades estudadas, que os parâmetros avaliados (PA, IMC, hemograma geral, etc) estão dentro dos valores normais para crianças saudáveis. Porém, na exposição ao Hg e Se, os resultados apresentaram diferenças significativas observando exposição mais alta de ambos os elementos na RESEX Cuniã em comparação com Belmonte e, evidenciou-se

também, um padrão sazonal na exposição a estes elementos, sendo as concentrações do Hg mais altas na seca ao contrário do observado no Se cuja maior exposição se observou na época de cheia. Observaram-se indícios que a ingestão do Se poderia representar um fator de proteção na exposição ao Hg. Este estudo gerou informações para os programas de vigilância em saúde infantil do Ministério da Saúde, para a avaliação do impacto na saúde em áreas de projetos hidrelétricas.

Palavras-chave

Mercúrio; selênio; saúde infantil; usina hidrelétrica; avaliação de exposição; população ribeirinha; Amazônia.

Abstract

Ruiz, Claudia Maribel Vega; Godoy, Jose Marcus de Oliveira (Advisor). **Mercury-selenium Interaction: An integrated approach of Mercury exposure in riparian populations at Porto Velho municipality, Rondônia state.** Rio de Janeiro, 2014. 127p. Doctoral Theses – Departamento de Química, Pontificia Universidade Catolica do Rio de Janeiro.

In the Brazilian Amazon, mercury has been studied due to Artisanal small scale gold mining (ASGM) activities in this area, which increases mercury inputs in this ecosystem. The most toxic form of this element is methyl mercury, which is a potent neurotoxic capable of going through the placental barrier, therefore affecting the fetus development causing irreversible damage in the new born. Riparian populations have a fish-based diet, and depending on the fish trophic levels ingested, this could represent a significant source of methylmercury for these populations. Even though ASGM has been reduced in the last few years, the new projects for economic development could increase the incorporation of Hg-levels into trophic chain as methylmercury. This study assess mercury exposure (blood and hair), during the flooding stage of the hydroelectric power plant at the Madeira river, with focus in children's health of two riparian communities located downstream of the reservoir in areas influenced by the hydroelectric plant in both a direct and an indirect way. In the Hg exposure assessment are included other important factors such as blood Se-levels, diet, hemogram, blood pressure and anthropometric measures. In order to create a baseline information for future monitoring and exposure patterns surveillance plan, to assess health impact in the riparian communities located in this area, after commissioning of the hydroelectric power plant. The results point out, that the values of the health parameters (blood pressure, BMI, hemogram) assessed, were within the normal values for healthy children, and there wasn't significance difference between the communities in the general health conditions. However, about Hg and Se exposure, both elements levels showed significant difference between the two communities. Hg and Se concentrations were higher at RESEX Cuniã.. It was also observed a seasonal pattern in the exposure of these elements. Hg levels were higher during dry season, different from Se levels, that were higher during the wet seasons. It was

also observed possible evidence that intake of Se could represent a protector factor on Hg exposure. The information reported in this study, will contribute to the children's health surveillance programs of the Ministry of Health, for assessment on health impact, in areas where hydroelectric power plant are established.

Keywords

Mercury; selenium; children's health; hydroelectric power plant, exposure assessment; riverside populations; Amazon.

Sumário

1 .Introdução	17
2 . Referencial teórico	20
2.1. Mercúrio	20
2.1.1. Efeitos do mercúrio na saúde	22
2.1.2. Estudos de exposição de mercúrio em crianças	24
2.2. Selênio	26
2.2.1. Mercúrio e Selênio na Amazônia Brasileira	30
2.2.2. Empreendimentos na Amazônia e impactos no ecossistema	32
2.2.3. Contaminação por mercúrio e caso do rio Madeira	33
2.3. Avaliação de exposição	34
2.3.1. Biomarcador de Exposição do Mercurio	34
2.3.2. Métodos analíticos na avaliação de exposição	36
2.3.2.1. Técnica de vapor frio para análises de mercúrio	36
2.3.2.2. Técnica de espectrometria de massas através do plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) para análises multielementares	37
2.3.3. Célula de reação	39
3 Objetivos	42
3.1. Objetivo geral	42
3.2. Objetivos específicos	42
4 . Materiais e método	43
4.1. Área de estudo	43
4.2. Metodologia	44
4.2.1. Inquerito de saúde infantil	45
4.2.2. Avaliação físico-neurológica	45
4.2.3. Coleta de amostras	46
4.2.4. Determinação de mercúrio e selênio	47
4.2.4.1. Determinação das concentrações de Hg e Se no sangue pela	

técnica de ICP-MS	47
4.2.4.2. Determinação de Hg em cabelo pela técnica de Absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS)	49
4.2.4.3. Determinação de Hg e Se em cabelo pela técnica de Plasma indutivamente acoplado e espectrometria de massa (ICP-MS)	49
5 . Resultados e Discussão	52
5.1. Resultados Analíticos: aplicação das técnicas analíticas para determinação de Hg e Se em diferentes Materiais de Referência Certificado	52
5.1.1. Determinação de Se e Hg no sangue pelo método de ICP-MS	52
5.1.2. Determinação de mercúrio em cabelo por CV-AAS	61
5.1.3. Determinação de Hg e Se no cabelo por ICP-MS	62
5.2. Exposição ao mercúrio nas comunidades de Belmont e RESEX Cuniã	66
5.2.1. Avaliação da Exposição ao Hg	66
5.2.1.1. <i>Concentrações de Hg em cabelo e o consumo de peixe</i>	68
5.2.1.2. <i>Tempo de Exposição.</i>	71
5.3. Avaliação da condição da saúde e concentração mercúrio e selênio no sangue em crianças e adolescentes na comunidade de Belemonte e Resex Cuniã	77
5.3.1. Resultados do Inquérito Domiciliar	77
5.3.2. Avaliação físico-neurológica	80
5.3.3. Parâmetros Antropométricos e Pressão Arterial	80
5.3.4. Resultados de Hemograma	83
5.3.5. Níveis de Mercúrio no Sangue	86
5.3.6. Concentração de selênio no sangue	89
6 Conclusões	101
7 Recomendações	104
8 Referências	106

9 Anexos	121
9.1. Valores de referência de parâmetros hematológicos em crianças	121
9.2. Inquérito Domiciliar	123

Lista de tabelas

Tabela 1 – Condições do Equipamento NexIon da Perkin Elmer para leituras de Hg em sangue.	48
Tabela 2 – Condições do ICP-MS Agilent 7500 CX para leitura de Se e Hg em cabelo.	50
Tabela 3 – Determinação de Hg ($\mu\text{g L}^{-1}$) em material de referência <i>Lynphocheck whole blood Level 2</i> .	53
Tabela 4 – Coeficientes angulares das curvas de adição de analito de 6 amostras em 3 diluições (100x; 50x; 25x).	57
Tabela 5 – Determinação de Selênio no MRC <i>SeronormTM Trace Elements Whole Blood L-2</i> .	59
Tabela 6 – Determinação das concentrações de Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$) no material de referencia certificado de cabelo <i>CRM-13 Human hair</i> , pela técnica de CV-AAS.	61
Tabela 7 – Determinação das concentrações de Selênio ($\mu\text{g g}^{-1}$) no material de referencia certificados <i>CRM 13 Human Hair</i> .	63
Tabela 8 – Determinação das concentrações de Se e Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$) no material de referência certificado <i>CRM 13 Human Hair</i> , pela técnica de ICP-MS modo standard com a adição de 1% Butanol e 1mg L^{-1} de Au.	64
Tabela 9 – Coeficientes angulares das curvas de calibração em solução aquosa e com adição de 1% de butanol.	64
Tabela 10 – Concentrações de Hg-Total em cabelo ($\mu\text{g g}^{-1}$) na RESEX Cuniã e na comunidade de Belmont.	67
Tabela 11 – Frequência do Consumo de Peixe na RESEX Cuniã e Comunidade de Belmont.	69
Tabela 12 – Percentagens do consumo por tipo de peixe (hábito alimentar) na RESEX Cuniã e comunidade Belmont.	71
Tabela 13 – Concentração de Hg em cabelo de crianças da Amazônia Brasileira reportados na literatura.	75
Tabela 14 – Distribuição de crianças e adolescentes por sexo, faixa etária e escolaridade na RESEX Cuniã e Comunidade Belmont.	77

Tabela 15 – Frequência percentual das principais proteínas consumidas pela população infantil da RESEX Cuniã e Comunidade de Belmont.	80
Tabela 16 – Distribuição percentual das categorias Z-score de IMC na RESEX Cuniã de Comunidade de Belmont nas diferentes estações do ano amostradas.	81
Tabela 17 – Parâmetros hematológicos das crianças estudadas da RESEX Cuniã e comunidade de Belmont nas diferentes estações estudadas.	85
Tabela 18 Concentrações de Selênio reportados pela literatura na Amazônia Brasileira (sangue, plasma e eritrócitos).	95
Tabela 19 – Concentrações de Selênio no sangue reportado pela literatura em crianças em outras partes do mundo além da Amazônia	97
Tabela 20 – Correlações significativas encontradas entre as concentrações de Hg em cabelo e sangue com Selênio, parâmetros sanguíneos, PAS e PAD.	98

Lista de figuras

Figura 1 – Ciclo biogeoquímico do mercúrio (Leopold <i>et al.</i> , 2009).	20
Figura 2 – Bioacumulação e biomagnificação do metilmercúrio ao longo da cadeia trófica (Leopold <i>et al.</i> , 2009).	22
Figura 3 – Efeitos de Se dependentes da concentração relativa de Hg (Khan e Wang, 2009).	28
Figura 4 – Área de Estudo: Comunidade de Belmont e RESEX Cuniã, localizadas à jusante de planta hidroelétrica e da cidade de Porto Velho.	44
Figura 5 – Exame neurológico sendo realizado em escolares pelo médico responsável por esta avaliação.	46
Figura 6 – Coleta de cabelo.	46
Figura 7 – Teste de otimização de vazão de gás metano (CH ₄) para o uso da célula de colisão/reação na determinação do ⁸⁰ Se.	55
Figura 8 – Sinal de contagens por segundo (cps) de 2 µg L ⁻¹ de ⁸⁰ Se em uma faixa crescente de concentração de Br (50-60mg L ⁻¹).	56
Figura 9 – Curva de adição de analito de Selênio (⁸⁰ Se) em sangue, aplicando diferentes diluições à amostra.	58
Figura 10 – Resultados das concentrações de selênio (µg L ⁻¹) no sangue usando os Isótopos ⁸⁰ Se (modo DRC) e ⁸² Se (Modo Standard).	60
Figura 11 Concentrações de Hg (µg g ⁻¹) em cabelo de adultos e crianças na RESEX Cuniã e comunidade de Belmont.	68
Figura 12 - Associação das concentrações de Hg (µg g ⁻¹) com frequência do consumo de peixe na RESEX Cuniã e comunidade de Belmont.	70
Figura 13 - Pressão Arterial Sistólica (PAS) registrada nas crianças estudadas na RESEX Cuniã e comunidade de Belmont em diferentes estações do ano.	82
Figura 14 - Pressão Arterial Diastólica (PAD) registrada nas crianças estudadas na RESEX Cuniã e comunidade de Belmont em diferentes estações do ano.	83
Figura 15 – Concentração de Hg no sangue de crianças estudadas na RESEX Cuniã e comunidade de Belmont nas diferentes estações do ano.	86

Figura 16 – Concentração de Se no sangue das crianças estudadas na
RESEX Cuniã e comunidade de Belmont em diferentes estações do ano

91

1.Introdução

Nas discussões sobre sustentabilidade do processo de desenvolvimento da Amazônia, revelam-se como tema chave as análises das mudanças ambientais causadas pelas pressões das atividades antrópicas e seus potenciais impactos socioambientais, com ênfase na saúde e na qualidade de vida.

Projetos de infraestrutura, dentre eles, a construção de hidrelétricas, geração e transmissão de energia, dependendo do seu porte e tipo de atividade, podem acarretar transformações profundas no território em que se instalam nas dimensões econômicas, ambientais, simbólicas e sociais (Rigotto, 2009).

O impacto dos projetos de hidrelétricas na estrutura socioambiental local cria condições para o aparecimento e/ou potencialização de fatores de risco, que variam em escalas temporal e espacial e da intensidade nas diferentes fases de construção, implantação e operação do empreendimento.

A criação de áreas de alagamento favorece a reciclagem da carga do mercúrio, acumulada por anos no solo, previamente à criação do reservatório. Consequentemente, um dos impactos conhecidos da criação de reservatórios é o aumento dos níveis de mercúrio em peixe das novas áreas alagadas. Existem estudos que reportam, também, um incremento nas áreas à jusante de hidrelétricas, podendo atingir concentrações que representem um risco para a saúde das populações que dependem do consumo do peixe para sua subsistência (Verdon *et al.*, 1991; Boudou *et al.*, 2005; Hylander *et al.*, 2006).

O Brasil é país signatário da Convenção de Minamata, assinada em outubro de 2013 na cidade de Minamata, Japão. O objetivo desta convenção é a proteção do meio ambiente e da saúde humana, contra as emissões de mercúrio de origem antropogênico. Por isto, é necessário que os órgãos de vigilância de saúde ambiental implantem programas de monitoramento da exposição ao mercúrio com foco nas populações mais vulneráveis, e, ao mesmo tempo, é também necessário o desenvolvimento e otimização de técnicas analíticas rápidas, baratas e eficientes que produzam resultados robustos, já que a produção de dados analíticos

confiáveis é uma etapa importante na avaliação da exposição a substâncias tóxicas.

Na Região Amazônica, onde a presença do garimpo de ouro, a deflorestação e a queima de biomassa são parte das atividades antrópicas presentes que aumentam a liberação do mercúrio ao ecossistema, este metal representa um risco potencial para a saúde humana das populações residentes nesta área. Logo, a implementação de plantas hidrelétricas na bacia hidrográfica na Amazônia Brasileira é mais um fator, que poderá aumentar os níveis de Hg biodisponíveis neste ecossistema. Consequentemente, a avaliação de exposição, após a implementação deste tipo de empreendimentos em áreas a montante e a jusante das plantas hidrelétricas, torna-se uma questão de Saúde Pública.

No entanto, a disponibilidade e a toxicidade do Hg para humanos dependem dos fatores ambientais do sistema aquático, da extensão da contaminação, do comportamento físico-químico e biológico do elemento, das vias de exposição e das características dos receptores. Consequentemente, um estudo que tenha como foco a saúde humana não deve ser restrito à toxicidade do mercúrio, mas deve analisar outros parâmetros que complementem o entendimento da contaminação humana, assim como investigue as características sociodemográficas e o perfil epidemiológico das comunidades expostas (Who, 2008).

No presente trabalho, estudamos a exposição ao mercúrio em duas comunidades do Rio Madeira a jusante da planta Hidrelétrica de Santo Antônio Energia (efeito indireto), na etapa prévia à construção da mesma, com o objetivo de estabelecer um *baseline* para estudar o futuro impacto deste empreendimento na saúde humana. No Brasil, existem estudos que avaliam esses impactos nos peixes (Hylander *et al.*, 2006), porém não existem estudos de avaliação do impacto decorrente da exposição a mercúrio, nas populações humanas, após implementado o reservatório. O presente trabalho é pioneiro com foco na avaliação do impacto na saúde, pelo fato de começar o monitoramento da exposição, antes de ter sido construído o reservatório. Foram também incluídas neste estudo as condições gerais de saúde, nutrição, economia, além de aspectos sociais, para uma avaliação integrada. É abordado também o tema de otimização e padronização de métodos analíticos simples, baratos, rápidos e que proporcionem resultados robustos, necessários para que os órgãos de vigilância em Saúde

possam realizar esse tipo de análises como parte da rotina de avaliação de impactos ambientais.

2. Referencial teórico

2.1. Mercúrio

O mercúrio (Hg) é um elemento de ocorrência natural, originado de material geológico, que pode ser liberado amplamente no meio ambiente em diferentes formas químicas. A forma elementar do mercúrio (Hg^0) é volátil e entra na atmosfera onde pode permanecer por longos períodos de tempo. Após a liberação do Hg^0 , esse pode ser protonado passando a Hg^{+2} , e precipitar, sendo depositado no solo e na água. A metilação desta espécie química de mercúrio é realizada através de microrganismos resultando em metilmercúrio (MeHg) (figura 1).

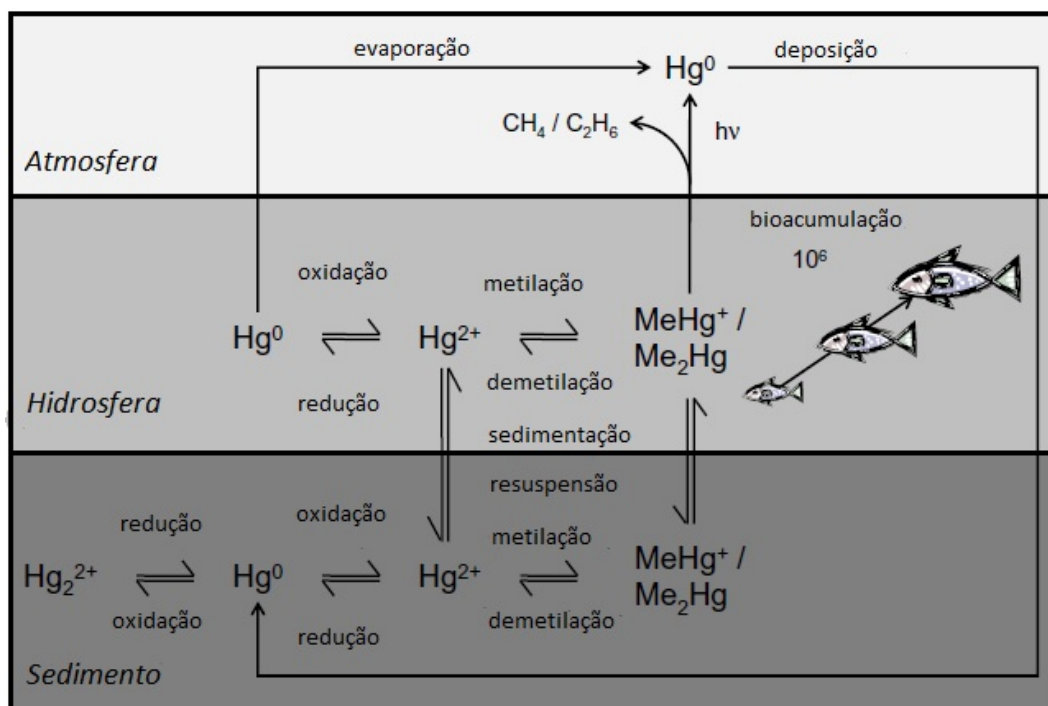


Figura 1 – Ciclo biogeoquímico do mercúrio (Leopold *et al.*, 2009).

Sendo o mercúrio um elemento de ocorrência natural, o ciclo deste elemento pode ser alterado por atividades antrópicas, que liberam maior quantidade do metal ao ambiente o que, conseqüentemente, aumenta as suas concentrações na biosfera. As ações realizadas pelo homem que contribuem para este processo

incluem as atividades de garimpo, agricultura, desmatamento e queima de biomassa (Veiga *et al.*, 1994; Malm, 1998; Roulet *et al.*, 1999; Wasserman *et al.*, 2001; Lacerda e Malm, 2008).

A atividade garimpeira em pequena escala, conhecida internacionalmente como *Artisanal and small-scale gold mining* (ASGM), usa o mercúrio como método de extração de ouro através da formação de amálgama de ambos os metais, que posteriormente é queimada para a obtenção do ouro. Consequentemente, o vapor de mercúrio é liberado no ambiente. A ASGM é atividade antrópica responsável por 37% da contaminação do mercúrio em nível mundial (Gibb e O'leary, 2014). Além disso, o desmatamento e a queima de biomassa, também contribuem para o aumento das quantidades do Hg natural, liberado através dos processos de erosão e lixiviação de solos, elevando, assim, as concentrações deste metal na atmosfera e nos sistemas aquáticos, e, consequentemente, aumentando sua biodisponibilidade no ecossistema (Roulet *et al.*, 1998; Roulet *et al.*, 1999)

Os alquilomercuriais são compostos de especial interesse em saúde, pela sua fácil penetração através das membranas celulares, eficiência na bioacumulação e eliminação demorada dos tecidos. Entre esse grupo de compostos, um dos mais tóxicos é o metilmercúrio, razão pela qual esta forma é de grande interesse nos estudos de risco ambiental e saúde humana (Who, 1990; Boischio e Barbosa, 1993; Harada, 1995; Lebel *et al.*, 1998; Auger *et al.*, 2005; Crespo-López *et al.*, 2005; Clarkson e Magos, 2006; Mergler *et al.*, 2007). O metilmercúrio é bioacumulado e biomagnificado através da cadeia trófica aquática (figura 2), ou seja, atinge concentrações mais elevadas nos organismos de topo de cadeia, entre os quais se encontra o ser humano.

Diversos autores reportam que a ingestão de peixes é uma das principais fontes de exposição ao metilmercúrio para o ser humano (Pfeiffer *et al.*, 1989; Malm *et al.*, 1995; Salonen *et al.*, 1995; Lebel *et al.*, 1998; Murata *et al.*, 1999; Boischio e Henshel, 2000; Passos e Mergler, 2008). A média de metilmercúrio sobre o total de mercúrio contido em tecidos de peixes está ao redor de 90% (Malm *et al.*, 1995), embora, dependendo da região estudada e da posição trófica do peixe, essa porcentagem possa variar. Independentemente dessa variabilidade, a ingestão de peixe pode levar a problemas sérios nos organismos que consomem

tais itens regularmente em suas dietas, devido ao fato do metilmercúrio ser a forma mais tóxica deste elemento como discutido anteriormente.

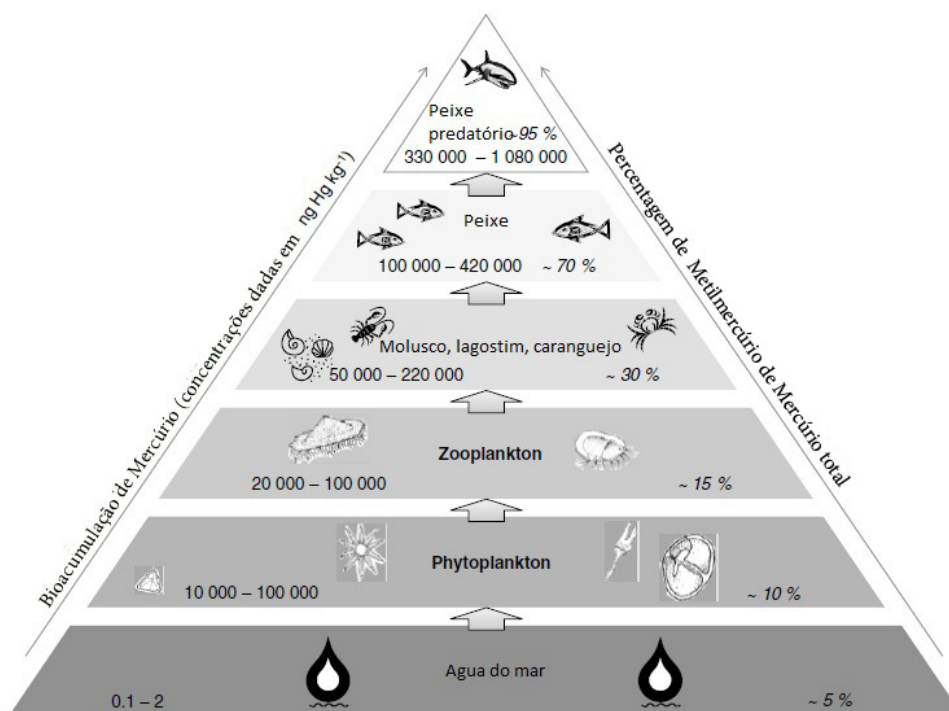


Figura 2 – Bioacumulação e biomagnificação do metilmercúrio ao longo da cadeia trófica (Leopold *et al.*, 2009).

2.1.1. Efeitos do mercúrio na saúde

Os primeiros conhecimentos obtidos a respeito de sinais de intoxicação de mercúrio advêm de estudos posteriores às catástrofes ocorridas no Japão e no Iraque, onde foram observados concentração de mercúrio em cabelo na faixa de centenas de microgramas por grama, em curtos períodos de exposição, variando de 2-3 meses no Iraque a alguns anos em Minamata (Bakir *et al.*, 1973; Inskip e Piotrowski, 1985; Who, 1990; Harada, 1995). A contaminação no Japão ocasionou o envenenamento de milhares de pessoas e o surgimento da chamada “doença de Minamata”, em que o cérebro e o sistema nervoso central são órgãos-alvo principais da intoxicação por metilmercúrio. Dentre os sintomas característicos desta exposição aguda observados, estão alterações sensoriais distais, ataxia, disartria, redução do campo visual, alterações auditivas e tremores (Who, 1990; Harada, 1995; Clarkson e Magos, 2006). A causa da tragédia foi o

consumo de peixes e mariscos contaminados com elevadas concentrações de MeHg oriundo de efluentes industriais.

No Iraque, o envenenamento da população foi devido ao consumo de pão feito com sementes de trigo tratado com fungicida organomercurial (MeHg) provocando mais de 6500 internações hospitalares e mais de 450 mortes (Bakir *et al.*, 1973).

Em 1976 a Organização Mundial da Saúde (OMS), analisou ambos os casos e relatou que nestes estudos os primeiros sinais clínicos de intoxicação surgem nos indivíduos com 50-125 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Hg no cabelo. A partir desse resultado, foi adotado um limite tolerável de ingestão por semana de 0,3 mg de Hg total por pessoa. Posteriormente, em 1990, a OMS, após reavaliar os estudos dos casos de Minamata e Iraque, e avaliar novos estudos de populações expostas a metilmercúrio, através da ingestão de peixe, onde foram reportados danos neurológicos concretos em populações aborígenes canadenses com níveis mais baixos de Hg que os reportados no Japão e no Iraque, porém com tempos de exposição mais longos, concluiu que níveis de 50 $\mu\text{g/g}$ em adultos e 10-20 $\mu\text{g/g}$ no cabelo materno aumentavam em 5% o risco de efeitos neurológicos em adultos e crianças (Who, 1990).

Uma crescente discussão tem surgido nos últimos anos sobre os limites seguros de exposição ao mercúrio. A ingestão crônica de níveis relativamente baixos de mercúrio pode estar associada a um comportamento anormal subclínico, especialmente com relação à coordenação psicomotora, e efeitos cognitivos (Inskip e Piotrowski, 1985; Salonen *et al.*, 1995; Lebel *et al.*, 1998; Salonen *et al.*, 2000; Dorea, 2003; Auger *et al.*, 2005; Clarkson e Magos, 2006; Mergler *et al.*, 2007; Barbieri e Gardon, 2009; Holmes *et al.*, 2009; Berzas Nevado *et al.*, 2010). Megler e colaboradores publicaram em 2007 uma revisão sobre efeitos na saúde da exposição ao mercúrio e, além dos efeitos que já mencionamos anteriormente, também citam uma possível associação com efeitos cardiovasculares, como infarto do miocárdio agudo, doença isquêmica do coração, efeitos sobre pressão sanguínea e hipertensão, embora se reconheça que a associação é fraca, e atualmente esses efeitos ainda não sejam completamente entendidos, porque têm sido reportados resultados contraditórios nos diversos estudos sobre esse tema em adultos (Salonen *et al.*, 1995; Salonen *et al.*, 2000; Stern, 2005; Vupputuri *et al.*,

2005; Fillion *et al.*, 2006; Virtanen *et al.*, 2007; Mozaffarian, 2009) e é um efeito não tem sido estudado em criança.

2.1.2. Estudos de exposição de mercúrio em crianças

Atualmente, instituições como National Research Council (NRC) e Environmental Protection Agency (EPA) baseiam os níveis de referência de Hg permitidos (cabelo: $1\mu\text{g g}^{-1}$), principalmente em 3 estudos de coorte da exposição crônica ao mercúrio. Esses estudos foram realizados na Nova Zelândia na década dos 70 (n=237) (Crump *et al.*, 1998) e mais tarde nos 80 foram realizados mais dois estudos de coorte, um nas Ilhas Faroe (n=900) (Grandjean *et al.*, 1998; Grandjean *et al.*, 2001), e o outro nas Ilhas Seychelles (n= 779) (Myers *et al.*, 2003; Myers *et al.*, 2009). Esses estudos são conhecidos como “estado da arte” em estudos epidemiológicos de exposição ao Hg, principalmente os realizados nas Ilhas Faroe e Seychelles, que apresentaram um melhor desenho experimental. São estudos de coorte que avaliam a exposição ao mercúrio desde a etapa pré-natal, usando como biomarcadores do Hg, sangue do cordão umbilical (Faroe) e cabelo materno (Nova Zelândia, Faroe e Seychelles). Logo, nas Faroe e Seychelles essas crianças foram acompanhadas através do tempo pelo monitoramento dos níveis de Hg em cabelo e aplicação de testes de avaliação cognitivas e função neuromotora, em diferentes faixas etárias.

Os resultados observados apresentam contradições e têm sido objeto de discussões científicas (Alan *et al.*, 2004; Spurgeon, 2006). Nas Ilhas Faroe e Nova Zelândia foram observadas uma associação negativa entre os níveis de Hg e a diminuição na pontuação de avaliação de alguns dos testes aplicados para avaliação de função cognitiva e motora. Porém, nas ilhas Seychelles, não se observou associação significativa na maioria de testes, e, nas avaliações onde foi observada alguma associação, essa foi positiva e indicou uma possível tendência protetora associada à exposição ao Hg com referência à função cognitiva observada nas avaliações realizadas a os 66 meses. Essa contradição nos resultados dos grupos estudados coloca em evidência a necessidade de realizar mais estudos similares em outras populações com exposição crônica ao mercúrio, para entender melhor seus efeitos na saúde.

Alguns autores ressaltam que, entre os fatores que poderiam explicar essas tendências opostas, nos resultados dos estudos de Coorte, estão as diferentes fontes de exposição em ambas às populações. Nas ilhas Faroe, se identifica como fonte de exposição ao Hg o consumo de carne e gordura de Baleia-piloto (*Globicephala sp.*) que tradicionalmente faz parte da alimentação nessa população, e, nas Ilhas Seychelles, a fonte de exposição vem da dieta baseada na ingestão de peixes marinhos (Clarkson e Strain, 2003; Myers *et al.*, 2009).

Uma população que utiliza o peixe como principal fonte de proteína na sua alimentação é normalmente considerada saudável, devido às propriedades benéficas deste alimento, pela presença de elementos como ácidos graxos poliinsaturados, colina e selênio, entre outros, e que contribuem para o bom funcionamento do corpo (Clarkson e Strain, 2003; Dorea, 2003). Existem estudos onde é sugerido que os níveis de Hg em cabelo podem ser um indicador da frequência de consumo de peixe (Dórea *et al.*, 2005). Segundo Clarkson & Stain 2003, esse fato, poderia explicar o possível efeito benéfico apontado no estudo nas Ilhas Seychelles, onde o peixe marinho faz parte importante na dieta nessa população.

Embora os resultados dos estudos sejam contraditórios, se reconhece que o metilmercúrio é uma substância de alto risco para crianças, por ser capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e transplacentária (Who, 1990). Consequentemente, a exposição pode começar na etapa da gestação, através da alimentação da mãe, e atingir o sistema nervoso central da criança, que está em desenvolvimento nesse momento, podendo assim, causar danos irreversíveis no feto, embora a mãe não apresente sintomas de intoxicação (Counter e Buchanan, 2004; Davidson *et al.*, 2004; Crespo-López *et al.*, 2005; Mergler *et al.*, 2007). Os possíveis fatores de proteção presentes nas dietas das populações expostas ao Hg através de consumo do peixe devem ser levados em consideração na hora da avaliação de risco das mesmas (Clarkson e Strain, 2003; Ralston *et al.*, 2008; Ralston, 2009; Zhang *et al.*, 2014).

Existem estudos que reportam o papel de possíveis fatores capazes de atenuar a intoxicação por Hg. Passos e colaboradores (2003) propõem que a ingestão de frutas poderia ser um fator de proteção e, em 2007, o mesmo autor estuda epidemiologicamente essa proposta, embora o mecanismo exato não tenha sido comprovado (Passos *et al.*, 2003; Passos *et al.*, 2007). Outros pesquisadores

reportam também o papel do Se como um elemento capaz de mitigar os efeitos tóxicos de Hg nos organismos, (Ganter *et al.*, 1972; El-Demerdash, 2001; Berry e Ralston, 2008; Ralston *et al.*, 2008; Ralston, 2009; Dang e Wang, 2011). Embora esses efeitos tenham sido comprovados em animais, os estudos em humanos são ainda escassos (Seppänen *et al.*, 2000; Choi *et al.*, 2008; Lemire *et al.*, 2010; Lemire *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2012).

2.2. Selênio

O Selênio (Se) é um elemento químico que atua como micronutriente essencial com funções biológicas e bioquímicas muito importantes no organismo. Representa uma parte constituinte das proteínas, com importância biológica, essenciais para o funcionamento eficaz dos mecanismos antioxidantes nas células e nos fluidos extracelulares. No plasma, este elemento é encontrado na Glutathione peroxidase (GPx), na selenoproteína-P e em albuminas (aproximadamente 60, 30 e 10%, respectivamente), que têm um papel importante na defesa antioxidante e provavelmente uma função importante na desintoxicação de metais, como sugerido na literatura (Brown e Arthur, 2001; Chen *et al.*, 2006).

Diversos autores sugerem que o Se é um antagonista que diminui os efeitos tóxicos de vários metais no organismo, entre os quais está o Hg (Ganter *et al.*, 1972; Chang e Suber, 1982; Chen *et al.*, 2006; Ralston *et al.*, 2008; Ralston, 2009). Esse efeito protetor já foi reportado em experimentos realizados em ratos e aves, em que foram administradas dietas controladas contendo MeHg e Selênio. Foi observado, que, nos animais expostos a MeHg suplementados com Selênio, a toxicidade do mercúrio era menor ou nula. Os grupos que não foram suplementados com Se, ao contrário, apresentaram sinais de intoxicação, com sintomas neurológicos que, em alguns casos, culminaram em óbito, após algumas semanas de exposição (Ganter *et al.*, 1972; Chang e Suber, 1982; Ralston *et al.*, 2008).

Existem vários mecanismos propostos para explicar o efeito protetor do Se. Chang & Suber (1982) mostram que a administração do Selênio ajuda a conservar a atividade antioxidante da enzima (GPx), que é suprimida durante intoxicação por mercúrio e é essencial para a conservação da integridade celular. Também, é proposta por outros autores a formação de complexos MeHg-Se altamente

estáveis. Embora o MeHg tenha afinidade com o S, que é mais abundante no organismo (compostos tioles), o coeficiente de formação com o Se é mais elevado e, portanto, a afinidade do Hg com Se é maior que com S (Sugiura *et al.*, 1978; Khan e Wang, 2009). Por isso, alguns autores propõem que uma deficiência do Se poderia ocorrer no organismo em indivíduos expostos a MeHg em decorrência dessa afinidade, podendo ser compensada pela suplementação do selênio (Chang e Suber, 1982; Khan e Wang, 2009).

É, também, mencionada a possível intervenção do Se no processo de desmetilização do metil-Hg, processo que tem sido comprovado em mamíferos marinhos, embora o mecanismo ainda não tenha sido elucidado. Propõe-se a formação de bimetil Hg selenito que, devido à sua instabilidade, se decompõe em Hg-Se inorgânico. Este último composto já foi descrito por alguns autores em fígado de mamíferos e aves marinhas (Arai *et al.*, 2004; Khan e Wang, 2009).

Embora os mecanismos não tenham sido comprovados totalmente em humanos, é proposta em alguns estudos a diminuição da toxicidade do Metil-Hg na presença do Se (Ralston *et al.*, 2008) ou o aumento na taxa de excreção de Hg após da suplementação de Se (Li *et al.*, 2012). Porém, deve ser levado em consideração que, apesar de o Selênio ser um elemento essencial para animais e humanos, um excesso na concentração do mesmo no organismo pode causar sintomas de intoxicação. Alguns pesquisadores (Khan e Wang, 2009; Lemire *et al.*, 2010), entretanto, consideram que estes efeitos dependem da concentração relativa do Hg (Figura 3).

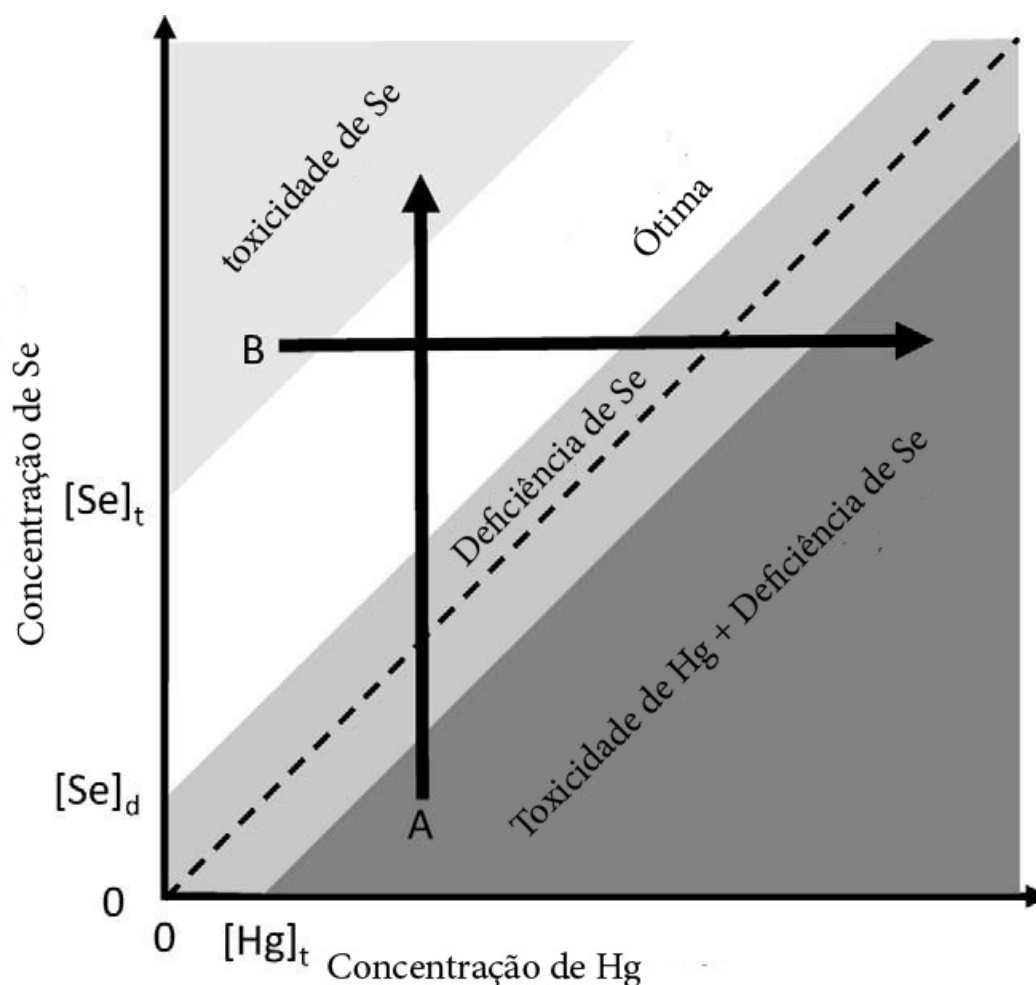


Figura 3 – Efeitos de Se dependentes da concentração relativa de Hg (Khan e Wang, 2009).

Ainda existem discussões sobre esse possível efeito antagônico do Se à intoxicação do Hg em relação aos humanos. Alguns estudos mostram uma possível redução da carga do Hg, observada ao suplementar 100 µg diários de Se orgânico, na forma de levedura, a um grupo exposto ao Hg. Após a suplementação, os níveis de Hg em cabelo púbico diminuíram em comparação com o grupo de controle, onde não foi suplementado o Se (Seppänen *et al.*, 2000). Embora nesse estudo não seja especificado se a exposição a Hg também diminuiu, após a suplementação do Se, nem qual foi o mecanismo que produziu a redução dos níveis de Hg no cabelo púbico, o autor levanta a hipótese, já discutida anteriormente, de o Se ser um fator de proteção à contaminação por Mercúrio, pois na sua presença a carga de Hg no organismo diminui.

Adicionalmente, há outro estudo, realizado na China, na cidade de Wansha, área conhecida pelo intenso garimpo e queima de biomassa, onde os residentes são expostos a elevados níveis de Hg atmosférico, além da exposição através da dieta. Nesse caso, foi também suplementado Se orgânico (100 µg diários) a um grupo de indivíduos durante 90 dias, observando-se um aumento da excreção de Hg na urina acompanhado de uma diminuição nos níveis de marcadores de stress oxidativo na mesma matriz, a partir dos primeiros 30 dias de suplemento (Li *et al.*, 2012).

Ambos os estudos mencionados anteriormente, apontam para uma possível diminuição da toxicidade de Hg em humanos através da administração do Se. Li e colaboradores (2012) propõem que tal fato poderia ser devido a que o Se pode ser capaz de aumentar a taxa de eliminação do Hg, e, sendo assim, diminuiria a concentração e efeitos tóxicos do mesmo no organismo. No entanto, concluem que existe pouca informação para se entender essa interação, e ressaltam a necessidade de realizar estudos mais profundos sobre o papel do Se como fator de proteção aos efeitos do Hg em humanos.

Embora Choi e colaboradores (2008), baseados em seus estudos de coortes nas ilhas Faroe, não tenham observado evidências significativas do efeito protetor do Se, Lemier e colaboradores (2011) apresentaram o primeiro estudo que mostra possíveis efeitos benéficos de níveis elevados de Se sobre o desempenho da função motora, em uma população ribeirinha na Bacia do rio Tapajós, na Amazônia Brasileira, onde elevados níveis de Hg provenientes da alta ingestão diária de peixes são reportados nos habitantes dessa região. A mesma autora, em 2010, apresentou também resultados que sugerem que a presença de Se no plasma diminui a incidência de cataratas em indivíduos com elevados níveis de mercúrio no sangue, o que sugere novamente um possível efeito protetor do Se na exposição crônica ao Hg (Choi *et al.*, 2008; Lemire *et al.*, 2010; Lemire *et al.*, 2011).

Recentemente foi publicado um estudo que ressalta a importância de considerar o Se nas análises de Risco à exposição de Hg em humanos (Zhang *et al.*, 2014). O autor apresenta os resultados de quatro cenários de avaliação de risco: o primeiro considerando só a exposição ao Hg e seus efeitos tóxicos; o segundo a exposição ao Se e os efeitos decorrentes da deficiência ou excesso do mesmo; o terceiro a exposição a ambos os elementos considerando os efeitos de

cada um como independentes; e, finalmente, no último cenário, é avaliada a exposição ao Hg considerando a interação do mesmo com Se. O resultado foi, um risco estimado menor, comparado com o cenário onde só era considerado o Hg. Sugere-se que o último cenário considera as condições reais, e ressalta-se que considerar só o Hg pode sobrestimar o risco. Zhang e colaboradores concluem que é importante a realização de mais estudos para entender as interações entre ambos os elementos e poder assim criar modelos de análises de avaliação de risco que considerem dita interação, para uma melhor estimativa do mesmo e poder gerar informação que reflita melhor a situação do Hg nas populações estudadas, e, dessa forma, poder ter uma melhor ferramenta na tomada de decisões sobre gerenciamento de Risco.

2.2.1. Mercúrio e Selênio na Amazônia Brasileira

Na região Amazônica estão presentes alguns dos processos antrópicos que contribuem para o aumento dos níveis de Hg liberados no ecossistema, como é o caso do garimpo, da deflorestação, da queima de biomassa, etc. Ainda que, nas últimas décadas, a atividade garimpeira esteja diminuindo, devido às mudanças no perfil econômico da região, a presença do mercúrio na Amazônia Brasileira é uma preocupação desde a década de oitenta, visto o risco que este metal representa para a Saúde Pública e para o ecossistema.

As populações ribeirinhas da região Amazônica sofrem de uma exposição crônica ao metilmercúrio, pois baseiam sua dieta no consumo de peixe como a principal fonte de proteína. Existem diversos trabalhos que reportam os níveis de Hg no cabelo de populações ribeirinhas nesta região (Boischio e Barbosa, 1993; Barbosa *et al.*, 1997; Boischio e Cernichiari, 1998; De Oliveira *et al.*, 2000; Dolbec *et al.*, 2001; Bastos *et al.*, 2006; Barbieri e Gardon, 2009; Berzas Nevado *et al.*, 2010), porém, apenas alguns estudos indicaram efeitos neurológicos concretos nas populações estudadas, as quais apresentaram níveis mais baixos de Hg em cabelo do que os descritos nos casos de Minamata e Iraque (Lebel *et al.*, 1998; Dolbec *et al.*, 2000; Mergler *et al.*, 2007).

Na Região Amazônica grande parte da população apresenta concentrações de Hg em cabelo acima do recomendado pela OMS ($<10\mu\text{g g}^{-1}$) e EPA ($<1\mu\text{g g}^{-1}$),

e, atualmente, esses níveis estão classificados como os mais altos descritos mundialmente (Passos e Mergler, 2008).

Adicionalmente, na Amazônia, alguns alimentos também contêm elevados níveis de Se, como é o caso da castanha-do-pará, que é produzida nesta região para consumo local e externo (Lemire *et al.*, 2010). Na castanha, o Se está na forma de selenocisteína e selenometionina, que são aminoácidos rapidamente absorvidos pelo organismo, consequentemente com uma alta biodisponibilidade (Chunhieng *et al.*, 2004; Pinheiro *et al.*, 2009). Embora é importante considerar a variação das concentrações do Se na castanha-do-pará que cresce na Amazônia Brasileira. Chang *et al.* (1995) encontrou concentrações de Se mais elevadas na castanha-do-pará da Amazônia Central em comparação com a castanha oriunda da região Oeste, e observou-se esse mesmo padrão de distribuição nos níveis de Se reportados em peixes, onde os dados de Lima e colaboradores (2005) na reserva de Piraí, no Pará, são mais elevados quando comparados com os registrados por Dórea (1998) no Rio Madeira. Estes estudos evidenciam os diferentes níveis naturais presentes nas sub-regiões amazônicas com respeito à biodisponibilidade do Se (Chang *et al.*, 1995; Dorea, 2003; Lima *et al.*, 2005), colocando em evidência a existência de cenários diferenciados das concentrações do Se, com respeito à exposição ao Hg, que devem ser estudados detalhadamente para a melhor compreensão dessa interação.

Os estudos de Lemire e colaboradores, na Amazônia, abordando o papel do Se com relação ao Hg, foram realizados na Região do Rio Tapajós, na Amazônia Central (Lemire *et al.*, 2006; Lemire *et al.*, 2008; Lemire *et al.*, 2010; Lemire *et al.*, 2011). Porém os estudos sobre este tema, na região do Oeste Amazônico, são muito escassos. Até o momento, existe apenas um estudo que avalia a correlação dos níveis de Se e Hg em cabelo de índios Wari (Pacaás novos) na cidade de Guará-Mirim no estado de Rondônia; não estuda, porém, esta associação com qualquer efeito na saúde (Soares De Campos *et al.*, 2002). Logo, até a atualidade, só encontramos um estudo referente a crianças com respeito aos níveis de Se em sangue (plasma e eritrócitos) na Amazônia Brasileira, de duas populações no Rio Madeira, e onde se observa que as crianças com dieta nativa têm níveis maiores deste elemento que as crianças localizadas mais perto de áreas urbanas, com uma influência de alimentos industrializados na dieta (Rocha *et al.*, 2014).

A maior parte dos estudos realizados sobre saúde humana e exposição ao Hg na Amazônia Brasileira foi feita em adultos; Passos e colaboradores relatam, em 2008, que 63% dos estudos dessa região eram focados em adultos e só 24% em crianças e 12% estudavam ambas as faixas etárias. A maior parte dos trabalhos realizados em crianças na Amazônia são estudos transversais ou seccionais, onde não é feito o acompanhamento dos indivíduos ao longo do tempo, como nas Ilhas Faroe e Seychelles, mencionados anteriormente.

A causa desta falta de acompanhamento é, provavelmente, devida ao fato de que as condições de campo nessa área são muito difíceis, visto que as populações que apresentam maior frequência de consumo de peixe e, conseqüentemente maiores concentrações de Hg, estão localizadas em áreas isoladas e de difícil acesso (Cordier *et al.*, 2002; Barbieri e Gardon, 2009; Hacon *et al.*, 2014). A maioria dos estudos não apresenta uma associação clara e confirmada entre os níveis de Hg e os efeitos cognitivos ou neuromotores, e os poucos que reportam uma possível tendência de associação negativa com os níveis de Hg e efeitos de saúde sinalizam que os resultados não são conclusivos devido à possível influência das variáveis de confundimento presentes nessa região, como são o nível cultural, prevalência de doenças endêmicas, estado nutricional, etc., que são dificilmente controláveis, (Grandjean *et al.*, 1999; Cordier *et al.*, 2002). Logo, se faz necessário realizar mais estudos para o melhor entendimento dos efeitos do Hg em crianças na Amazônia, que apresentam níveis acima dos considerados seguros.

A Amazônia representa uma permanente fonte de debates e estudos científicos de repercussão internacional, visto o seu papel no cenário internacional, como patrimônio sociocultural, econômico e ambiental. Um ecossistema complexo, com capacidade de suporte frágil, que, apesar dos avanços no conhecimento de seu funcionamento, das inter-relações dos ecossistemas, do seu papel regulador do clima regional e da complexidade de sua dinâmica ambiental, permanece ainda pouco conhecido (Bastos, 2010).

2.2.2. Empreendimentos na Amazônia e impactos no ecossistema

Os empreendimentos no rio Madeira fazem parte do Programa de Aceleração do Crescimento (PAC), que prioriza a ampliação do sistema de

geração de energia da Amazônia através da implementação de grandes projetos. Seu principal objetivo é produzir 6.450 MW de energia, o equivalente a 8% de toda a energia gerada pelo país. A previsão é de que as Usinas Hidrelétricas (UHE) Santo Antônio e Jirau, que compõem o complexo, gerem 3.150 e 3.300 megawatts respectivamente. Segundo informações governamentais, o Brasil necessita de um aumento de 40.000 MW na geração de energia até o ano de 2015, sem o qual estará sob risco de escassez de fornecimento de energia elétrica (www.epe.gov.br).

Como já foi mencionado anteriormente, é sabido que esse tipo de atividade antrópica influencia a dinâmica do mercúrio no ecossistema. Existem estudos que avaliam o aumento dos níveis de metilmercúrio em espécies de peixes presentes nos reservatórios após o funcionamento das hidroelétricas. Essa dinâmica da metilação do mercúrio foi amplamente estudada em reservatórios no hemisfério Norte (Verdon *et al.*, 1991; Rosenberg *et al.*, 1997; Mailman *et al.*, 2006). Adicionalmente, foram feitas nas últimas duas décadas avaliações para estudar esse incremento de biodisponibilidade do Hg também em reservatórios em ambientes tropicais, onde as temperaturas mais elevadas favorecem essa dinâmica. Hylander e colaboradores 2005 reportaram que, no Lago Manso, no estado de Mato Grosso, esse aumento da concentração de metilmercúrio é observado nos peixes, principalmente carnívoros piscívoros, três anos depois da formação do reservatório. Neste estudo, também, é mencionada a importância do monitoramento à jusante da hidroelétrica, já que, também, foi registrado um incremento dos níveis de Hg total nos peixes dessa área após o enchimento, confirmando o já reportado por Schetagne e colaboradores (2000) no Canadá, em *La Grande* complexo hidroelétrico (Schetagne *et al.*, 2000; Hylander *et al.*, 2006).

2.2.3. Contaminação por mercúrio e caso do rio Madeira

Lacerda e colaboradores (1989) estimaram que a sub-bacia do rio Madeira teria recebido uma carga de mercúrio de cerca de 40 t, a qual teria sido depositada no leito do rio (De Lacerda *et al.*, 1989). Outras estimativas apontam que a carga de Hg no rio Madeira no período entre 1979 e 1995 ultrapassou as 90t. Várias foram as tentativas de estimativas mais realistas, porém, as incertezas estarão sempre presentes nos cálculos da quantidade de Hg lançada nos rios da Amazônia

(Malm *et al.*, 1990). Os estudos realizados na bacia do rio Madeira apontam que uma parte desse mercúrio se disponibilizou e transformou-se quimicamente na sua forma mais tóxica, MeHg, bioacumulando-se e biomagnificando-se ao longo da cadeia trófica (Malm *et al.*, 1997; Wasserman *et al.*, 2003; Bastos *et al.*, 2006). Outra parcela deste mercúrio pode ter sido transportada, adsorvida aos sólidos em suspensão, por sua vez sedimentada em outras áreas de remanso do rio, também sujeitas aos processos de biodisponibilização, já que o mercúrio adsorvido no particulado é passível de formar complexos solúveis, principalmente quando na presença de compostos húmicos. O Hg metálico é fonte potencial de remobilização, por atividades que revolvam solos recentes (Bastos *et al.*, 2006). No estudo realizado por Bastos e colaboradores em 2006, onde foram estudados diferentes compartimentos ambientais, sedimento, material particulado e solo, foi observada uma diminuição nos níveis de Hg de 1995 a 2001, o que pode ser explicado pelo declínio na extração de ouro após 1995. As concentrações nas matrizes peixe e cabelo humano, porém, não apresentaram uma variação durante essa mesma época.

Independentemente da ordem de grandeza das emissões de Hg no rio Madeira, estas estimativas, somadas às emissões naturais, representam um potencial risco para as comunidades ribeirinhas que têm como principal fonte proteica o peixe. Por isto, o monitoramento e avaliação da exposição ao Hg nessas comunidades após a implementação de um empreendimento que possa afetar a dinâmica desse elemento é importante. Como é o caso da construção das Hidrelétricas do rio Madeira (Bastos, 2010).

2.3. Avaliação de exposição

2.3.1. Biomarcador de Exposição do Mercurio

A avaliação de exposição é a quantificação, levando-se em consideração a via e a substância envolvida. Esta estimativa pode ser feita através da medição do poluente em tecido biológico (biomarcador) ou através de modelos matemáticos capazes de fazer estimativa (Who, 2008) .

O biomonitoramento é uma ferramenta usada para a avaliação de exposição, e consiste na determinação dos níveis do elemento de interesse em matrizes biológicas. A escolha da matriz depende do tipo de exposição a ser avaliada. Os

biomarcadores usados para avaliação de exposição de mercúrio em humanos são sangue, sangue do cordão umbilical, cabelo, urina, leite materno e unhas (Who, 2008).

A urina é o marcador eleito para avaliar a exposição a mercúrio inorgânico, que é eliminado por esta via. Os marcadores leite e unhas são usados no caso de mercúrio orgânico, mas têm sido pouco utilizados, uma vez que os níveis atingidos no leite materno são relativamente baixos, e, as unhas, no papel de biomarcadores, ainda estão pouco estudadas.

Os marcadores de exposição ao mercúrio orgânicos mais frequentemente reportados na literatura são sangue e cabelo. O sangue é um marcador através do qual é avaliada uma exposição recente. Após a ingestão de peixe, o metilmercúrio é absorvido no trato gastrointestinal e incorporado ao sangue; por isso, a concentração total de mercúrio (THg) no sangue é usada como medida de exposição de MeHg em indivíduos consumidores de peixe. No sangue, mais de 90% do MeHg está ligado à os eritrócitos (hemácias) (Berglund *et al.*, 2005). O sangue do cordão umbilical é usado como marcador de exposição na fase pré-natal, pois apresenta melhor correlação com a exposição do feto que o cabelo materno.

O cabelo é marcador de exposição de preferência para metilmercúrio, devido ao fato de ser um método não invasivo de coleta. Sabe-se que aproximadamente 80% do mercúrio total eliminado no cabelo é MeHg e é também uma matriz útil para análises de série temporal. A média de crescimento do cabelo reportado é de aproximadamente 1 cm por mês. Assim sendo, por meio dos segmentos de cabelo, podem-se avaliar diferentes períodos de tempo e estudar a sazonalidade da exposição (Who, 2008). A análise do cabelo total (não por segmentos) também é útil, pois é uma informação da exposição média integrada ao longo do tempo. No caso de populações cuja variabilidade na alimentação é mínima, os níveis de Hg no cabelo total podem representar um “*steady state*” de exposição crônica.

É importante lembrar que a estrutura do cabelo é dependente de raça e idade, o que pode afetar a incorporação de mercúrio. Desta forma, é necessário tomar em conta esses fatores, na hora da aplicação dos níveis de referência ou susceptibilidade adotados por agências de proteção ambiental e promotoras da

saúde, que podem ser baseados em populações com características étnicas específicas (Who, 2008).

2.3.2. Métodos analíticos na avaliação de exposição

Outro aspecto importante na avaliação da exposição é a escolha de um método analítico para estudos de biomonitoramento, já que devem ser métodos rápidos, robustos e, preferencialmente, de baixo custo. A análise de amostras biológicas apresenta um desafio, já que geralmente são matrizes muito complexas, susceptíveis aos interferentes no momento das análises.

Durante muito tempo os métodos analíticos mais usados para amostras ambientais foram as técnicas de absorção atômica, que são métodos mono elementares, capazes de atingir limites baixos de detecção e, quando acoplados a métodos de introdução de amostra, como a geração de hidreto, os interferentes de matriz são eliminados. Porém, a atual tendência para análises ambientais é a escolha de técnicas multielementares, devido ao fato de que é necessário entender a interação dos poluentes com outros elementos que podem aumentar ou mitigar seus efeitos. Logo, é mandatório o estudo e adaptação destas técnicas multielementares como Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES) ou Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) para as análises dos diferentes tipos de matrizes biológicas usadas durante o biomonitoramento na avaliação de exposição.

2.3.2.1. Técnica de vapor frio para análises de mercúrio

Esta técnica é específica para a determinação de mercúrio. O mercúrio é o único elemento metálico cujo vapor existe na forma atômica, na temperatura ambiente, graças à sua alta volatilidade. É uma técnica baseada na geração de vapor de mercúrio por redução dos íons mercúrio através de um agente redutor forte, como pode ser o cloreto estanoso ou o boro hidreto de sódio, e o arraste do vapor obtido para uma célula de absorção, onde será efetuada a leitura.

Uma das principais vantagens do método são as poucas interferências observadas, dependendo estas do redutor utilizado. Porém, como já mencionado, apesar de ser a técnica mais usada para determinação de Hg, a duração de uma

análise é longa, quando comparada com outros métodos (Campos, 1980). menciona que uma das principais vantagens da técnica está na acurácia e especificidade, embora reconheça o gasto de tempo para análise.

2.3.2.2. Técnica de espectrometria de massas através do plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) para análises multielementares

A técnica de ICP-MS tem como principal vantagem a possibilidade de análise multielementar sequencial rápida, aliada à alta sensibilidade. Nessa técnica, os íons são gerados no plasma de argônio que é excitado através de correntes de radiofrequência à pressão atmosférica e, posteriormente, através da diferença de pressão são extraídos pela interface (pressão 10^{-3} Torr), e direcionados para o analisador de massas (10^{-6} Torr), que possui a finalidade de separá-los em função da razão massa/carga do elemento de interesse. Um dos analisadores massa carga mais comuns do mercado é o quadripolo, que por meio de diferenças na polarização forma campos elétricos e atua como filtrador de massas, conseguindo guiar os íons de interesse para análise em frações temporais muito pequenas, facilitando assim a análise sequencial de diferentes razões massa/carga, em períodos curtos de tempo (milissegundos) e, conseqüentemente, possibilitando a análise multielementar sequencial (Jarvis *et al.*, 1991).

Pelo fato de ICP-MS ser uma técnica analítica baseada na determinação de elementos traço através da medição de suas razões massa/carga, pode apresentar a incidência de interferências espectrais, relacionadas à presença de outras espécies, poliatômicas ou não, que possuam a mesma razão massa/carga do analito a ser determinado. A probabilidade de interferência espectral aumenta com a complexidade de amostra, além de existirem alguns elementos que apresentam dificuldade de determinação por esta técnica pela interferência que o próprio gás do plasma (argônio) pode causar na hora da leitura.

As Interferências em ICP-MS podem ser dividida em 2 tipos: *Espectrais* e *não-espectrais* ou efeitos de matriz

As interferências não-espectrais podem ser divididas em duas categorias:

a) Efeitos físicos: que podem ser causados por sólidos dissolvidos ou não dissolvidos, que causam diferenças entre a amostra e as soluções de calibração,

como pode ser a tensão superficial e a viscosidade, que ocasionam alterações nas taxas de transporte e nebulização da solução.

b) Efeitos químicos: que têm a ver com supressão ou aumento de sinal de ionização.

Para se corrigir ou contornar esse tipo de interferências, são usadas uma série de estratégias que minimizam esses efeitos. Entre as mais frequentes estão:

I. Simulação de matriz (Matrix matching): Consiste na preparação de soluções padrão para a curva de calibração com composição similar à amostra;

II. Padronização Interna: Consiste na adição de um elemento que não esteja presente na amostra, em todas as soluções, brancos, nos padrões da curva de calibração e amostras, em quantidades idênticas, de forma a obter-se um sinal normalizado do analito com o sinal do padrão interno.

III. Adição de Analito: Consiste na realização da curva de calibração na mesma amostra, por meio de adição de concentrações crescentes e conhecidas do elemento de interesse, para gerar um aumento significativo no sinal com as mesmas modificações que sofrera o analito dentro da amostra;

IV. Aumento na diluição de amostras que possuam alto teor de sólidos para minimizar os efeitos do mesmo na solução da amostra, o que é possível devido a faixa linear de trabalho do ICP-MS ser ampla, indo de μg a $\eta\text{g g}^{-1}$.

Interferências Espectrais:

Em espectrometria de massa, a interferência espectral ocorre quando a resolução do equipamento não é suficiente para separar espécies com razões massa/carga próximas (Björn *et al.*, 1998). As interferências espectrais são classificadas de acordo com a espécie interferente:

a) Interferência isobárica direta se apresenta quando dois elementos têm praticamente a mesma razão massa/carga, existindo assim uma sobreposição das mesmas, já que a diferença é tão pequena (0,005 m/z) que o equipamento não consegue distinguir um do outro;

b) Interferências de Íons Poliatômicos (MX^+): gerados pela recombinação de íons no plasma, que podem ser originados por componentes do solvente, da amostra, ou do próprio gás que compõe o plasma;

c) Íons de óxidos refratários (MO^+), que podem ser formados pela decomposição incompleta dos componentes da matriz ou por recombinação de íons no plasma com oxigênio presente no solvente, na atmosfera ou na amostra;

d) Íons de dupla carga (M^{+2}): A maioria de íons produzidos no plasma possui uma carga, mas a dupla carga também pode acontecer eventualmente, fazendo com que a razão massa/carga seja reduzida à metade; consequentemente, ocorrerá uma diminuição no sinal real do analito. Pode-se também produzir uma dupla ionização de outros elementos presentes na solução da amostra, tendo massa correspondente ao dobro da massa do analito; neste caso, o sinal do analito estará aumentado.

As interferências ocasionadas por óxidos e íons de dupla carga são, normalmente, controladas pela otimização das condições operacionais do plasma, como a potência da radiofrequência e a vazão do gás de nebulização, que definem a temperatura e a posição de amostragem no plasma. Por outro lado, as outras interferências espectrais são contornadas usando diferentes estratégias, como aplicação de equações de correção, que geralmente fazem parte do software de equipamento, por se tratar de interferências bem conhecidas e estudadas, a escolha de um isótopo alternativo, formas alternativas de introdução da amostra, quando é possível a separação do analito da matriz, para a eliminação das espécies interferentes, como é o caso da geração de hidretos, que também pode ser acoplada a esta técnica.

Entretanto, enquanto a maioria de elementos são ionizados no plasma de argônio com uma eficiência acima de 90%, os elementos dos grupos IV A e VI A são ionizados com 30-40% de eficiência. É por isso que interferências espectrais sobre os isótopos mais abundantes ou únicos destes elementos podem representar dificuldades na análise, tornando-se ainda mais significativas, devido a massa dos mesmos se encontrar na faixa crítica do espectro ($m/z \leq 80$). As interferências que vêm do gás do plasma podem ser corrigidas pelo uso de células de colisão a reação para minimizar a formação do interferente (Jarvis *et al.*, 1991; Giné-Rosias, 1999).

2.3.3. Célula de reação

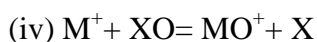
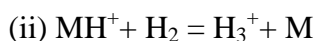
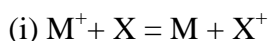
A célula de reação é uma tecnologia usada na técnica de ICP-MS, para reduzir interferências espectrais, permitindo o uso de isótopos mais abundantes, como, por exemplo, o ^{80}Se , na determinação de Selênio, que cumpre com as

características antes mencionadas de apresentar uma eficiência de ionização relativamente baixa, pois sua m/z é 80, que corresponde ao dímero $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$.

A célula de colisão/reação é composta por um multipolo (quadripolo, hexapolo, octapolo) localizado antes do analisador (quadripolo) e geralmente operado na mesma Radio Frequência (RF). Um gás de colisão/reação_ que pode ser: H_2 , He, NH_3 , CH_4 , O_2 ou uma mistura deles_ é inserido na célula e reage por mecanismos de colisão/reação com os íons poliatômicos provenientes da amostra para eliminar essa interferência e posteriormente passar ao analisador para a separação e identificação normal.

As reações podem ocorrer tanto com a espécie interferente como com o analito. No primeiro mecanismo, a determinação é direta, já que o analito de interesse fica livre do interferente e a quantificação é realizada na razão m/z do mesmo. Na segunda condição, a quantificação é feita de forma indireta, porque se determina sua concentração através da razão m/z de uma espécie específica, oriunda de sua reação com o gás reagente da célula. Porém, essa alternativa de determinação indireta possui alguns inconvenientes, como a possível formação de mais de uma espécie do analito com o gás de reação. É por isso que o gás de reação/colisão é selecionado para reagir especificamente ou mais rapidamente com a espécie interferente (Tanner e Baranov, 1999; Hattendorf e Günther, 2003).

Muitos mecanismos de reação podem ocorrer na célula, tais como: (i) transferência de carga, (ii) transferência de próton, (iii) transferência de hidrogênio e (iv) transferência atômica.



O objetivo do uso da célula de colisão é encontrar uma vazão de gás que consiga a eliminação de íons poliatômicos, sem diminuir muito a sensibilidade. Os gases de reação são escolhidos preferentemente segundo a especificidade e velocidade de reação com o interferente do analito de interesse. No caso da determinação do Se, os preferidos são CH_4 , H_2 ou mistura de H_2 e He (Hattendorf e Günther, 2003).

O uso da célula de colisão/reação (DRC) é uma alternativa ao uso de ICP-MS de alta resolução (HR-ICP-MS), que é um equipamento com preço elevado no mercado.

3 Objetivos

3.1. Objetivo geral

Analisar a exposição ao Mercúrio em duas comunidades da bacia do Rio Madeira, com foco na saúde infantil, na fase de construção do complexo de Usinas Hidroelétricas.

3.2. Objetivos específicos

Padronizar e otimizar técnicas Analíticas para a determinação de Hg e Se em sangue e cabelo.

Determinar as concentrações de Hg em cabelo da população da RESEX Cuniã e comunidade de Belmont.

Determinar e comparar as concentrações de Se e Hg no sangue de crianças das duas populações nas estações cheia e seca.

Analisar as condições gerais de saúde e a dieta da população infantil das comunidades de Belmont e Resex Cuniã, através da aplicação de um questionário domiciliar

Avaliar os principais parâmetros antropométricos e hematológicos da população infantil de comunidades de Belmont e Resex Cuniã.

4. Materiais e método

4.1. Área de estudo

Ambas as comunidades estudadas encontram-se localizadas no Estado de Rondônia, no município de Porto Velho, à jusante do Reservatório da construção da Hidroelétrica de Santo Antônio Energia (SAE) (Figura 4)

A comunidade de Belmont localiza-se na margem direita do Rio Madeira, com uma área de 25 km², aproximadamente a 10 km de Porto Velho e 15 km do Reservatório. O acesso se faz por uma estrada de terra que divide a comunidade ao meio. Do lado direito, existe formação de lagunas e, do lado esquerdo, passa o Rio Madeira (figura 4). Durante a época de chuva (novembro a abril), o nível da água sobe, podendo alagar a estrada, dificultando o acesso à comunidade nesta época.

Os membros da comunidade praticam principalmente atividades de pesca, sendo o peixe a principal fonte de proteínas. Porém, a proximidade com a área urbana permite que estes tenham acesso a alimentos industrializados provenientes da cidade de Porto Velho. A comunidade está constituída por 328 habitantes, divididos em 83 famílias.

A Reserva Extrativista (RESEX) é um sistema lagunar formado por mais de sessenta lagos, ligados por um igarapé de nome Cuniã, que deságua no Rio Madeira na jusante da cidade de Porto Velho, a uma distância aproximada de 130 km. Com 55.850 ha de área (figura 4). O acesso à comunidade é feito por barcos pequenos (rabeta), durante a época de cheia. Porém, durante a época seca, os níveis da água diminuem, impossibilitando o acesso por barco. Nessa época, o acesso é feito através de motocicletas.

Nessas regiões, encontramos lagos e pântanos distribuídos em toda a área, local propício à existência de inúmeras populações de peixes e outros animais que também habitam a área. Os peixes são a principal fonte de proteína na alimentação das populações residentes na RESEX, que também complementam eventualmente com outras espécies de topo de cadeia (jacaré e biguá). Na RESEX

do Lago do Cuniã, apesar de ser uma Unidade de Conservação formada por antigos seringais, a população não exerce mais o extrativismo da borracha, concentrando suas atividades na pesca, fabricação de farinha, extrativismo da castanha e do açaí. As comunidades da RESEX Cuniã são atualmente divididas em cinco núcleos: (1) Núcleo Araçá; (2) Núcleo Silva Lopes e Araújo; (3) Núcleo Neves; e (4) Núcleo Pupunhas e (5) Bela Palmeira, totalizando 109 famílias com aproximadamente 400 pessoas (ICMBio, 2011).

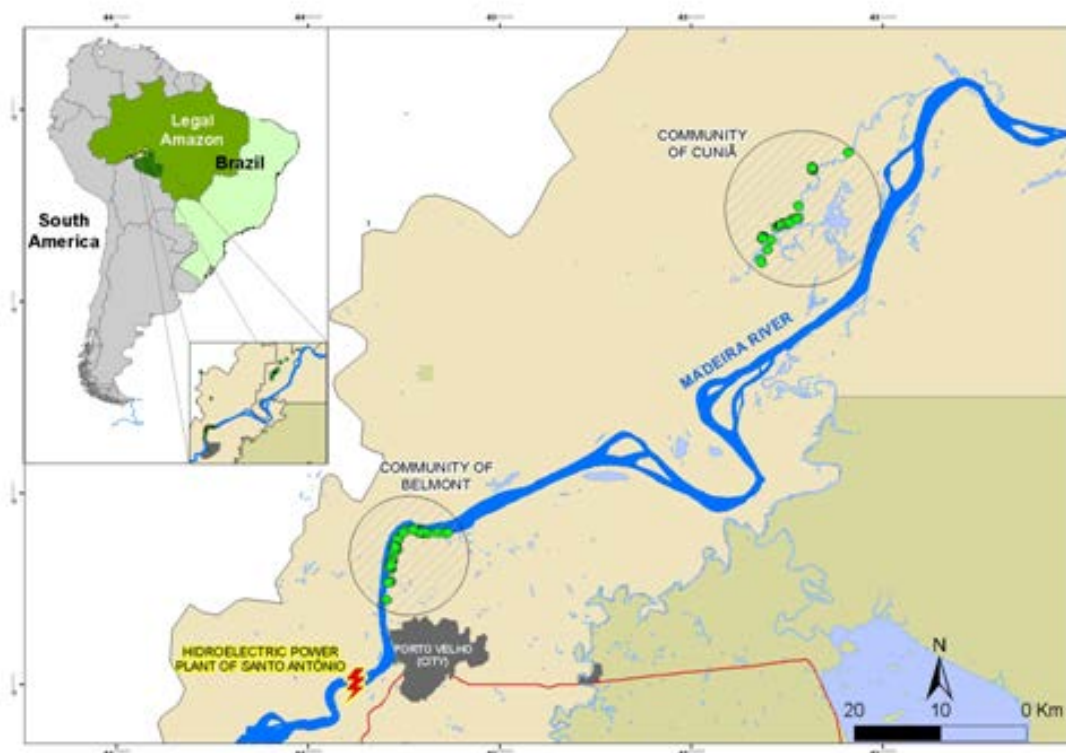


Figura 4 – Área de Estudo: Comunidade de Belmont e RESEX Cuniã, localizadas à jusante de planta hidroelétrica e da cidade de Porto Velho.

4.2. Metodologia

No período de outubro de 2010 a junho de 2011, foi realizado um estudo transversal das duas comunidades através do método de abordagem participativa. Foi feito um inquérito epidemiológico para o levantamento de dados sobre qualidade de vida, inquérito alimentar, condições de moradia, além de avaliação neurológica.

Definiu-se como critério de inclusão no estudo das comunidades de Belmont e na Resex de Cuniã:

+Residir nas comunidades selecionadas na área de influência indireta do empreendimento por no mínimo 12 meses;

+Para as crianças e adolescentes, estar na faixa etária de 3 a 16 anos (crianças em idade pré-escolar e escolar - http://www.apug.de/archiv/pdf/brochure_children_suscept.pdf) e, no caso das meninas, não estar ou ter ficado grávida;

+Autorização dos pais e concordância em participar do estudo e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

4.2.1. Inquerito de saúde infantil

A ferramenta usada foi uma adaptação do *Inquérito domiciliar sobre comportamentos de Risco e morbidade referida de doenças e agravos não transmissíveis: Brasil, 15 capitais e Distrito Federal, 2001-2003* do Instituto Nacional do Câncer (INCA) (<http://bvssp.iciet.fiocruz.br/lildbi/docsonline/get.php?id=410>). Este módulo do questionário teve como objetivo caracterizar a situação de saúde e dieta das crianças e adolescentes através da aplicação de questionários aos pais e/ou responsáveis.

Em inquéritos futuros, estas informações podem ser utilizadas como comparação na mudança de hábitos e nas condições ambientais dos residentes na área de influência da Planta Hidrelétrica.

4.2.2. Avaliação físico-neurológica

O foco principal foi avaliar as funções motoras cerebelares (alterações de coordenação e equilíbrio) e pesquisar déficits sensitivos periféricos com potencial repercussão sobre a habilidade manual em escolares (figura 5). Também foram realizados testes da marcha espontânea e de equilíbrio estático.



Figura 5 – Exame neurológico sendo realizado em escolares pelo médico responsável por esta avaliação.

4.2.3. Coleta de amostras

Cabelo



Figura 6 – Coleta de cabelo.

Foram coletadas amostras de cabelo em 2010. O cabelo foi retirado da parte posterior da cabeça (figura 6), na região occipital, próximo à raiz com tesoura de aço inox e posteriormente colocado em sacolas plásticas identificadas.

Sangue

Foram realizadas 3 coletas de sangue, uma na estação cheia-transição, em maio de 2011, período de pós-chuva (dezembro- abril), mas com elevados níveis de água na região, e duas na estação seca, em setembro de 2011 e julho de 2012

durante esse período o nível da água é marcadamente mais baixo. Para a análise de Hg e Se, o sangue foi coletado em tubos de 6 mL da marca *VACUETTE*[®] do tipo *NH Trace Elements Sodium Heparin*, especiais para a determinação de elementos traço. Para realizar a coleta de sangue para os exames hematológicos como a contagem de células (hemograma), os tubos utilizados foram de 3 mL com EDTA da marca BD VACUTAINER[®].

4.2.4.Determinação de mercúrio e selênio

Foram utilizados reagentes de grau analítico e água ultrapura, que foi obtida por um sistema de purificação da Gehaka Master System All (São Paulo, Brasil). Ácido Nítrico VETEC (Rio de Janeiro, Brasil) subdestilado foi obtido mediante emprego de um processo de destilação pelo sub boiling system, (Reutlingen, Alemanha) PTFE[®] MAASSEN-GmbH.

As curvas de calibração usadas em todos os métodos desenvolvidos neste trabalho foram obtidas mediante diluição adequada de uma solução estoque de Hg e Se 1000 mg L⁻¹ MERCK (Darmstadt, Alemanha),

Argônio (99,9996%) foi usado como gás de plasma e metano (99,995%), foi empregado como gás de reação. Nitrogênio (99,99%) foi utilizado para a técnica de geração de vapor frio. Todos os gases foram fornecidos pela Linde Gás (Rio de Janeiro, Brasil).

4.2.4.1.Determinação das concentrações de Hg e Se no sangue pela técnica de ICP-MS

Foi realizada a digestão de sangue total com uma relação de 0,1ml de amostra: 0,2 ml de HNO₃, deixando overnight à temperatura ambiente. No dia seguinte, a solução foi submetida a aquecimento a 80°C em chapa por um período de 3 horas. Após resfriamento, a solução foi avolumada a 5,0 ml com água ultrapura.

As determinações de Hg e Se foram realizadas pela técnica de ICP-MS operando no modo padrão, ou seja, sem o emprego da célula de reação, empregando os isótopos ²⁰²Hg e ⁸²Se, e, para fins de correção de interferências não espectrais, ¹⁰³Rh foi usado como padrão interno adicionado *on line* ao sistema, por uma peça em T colocada antes da bomba peristáltica.

As medições foram realizadas no equipamento NexIon da Perkin Elmer e as condições instrumentais utilizadas estão especificadas na Tabela 1.

Para controle de qualidade, foi feita diariamente leitura de branco e curva de calibração externa. A curva de calibração externa com padrões em solução aquosa para Hg (0,1 a 20 $\mu\text{g L}^{-1}$) e Se (0,1 a 40 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Tabela 1 – Condições do Equipamento NexIon da Perkin Elmer para leituras de Hg em sangue.

Parâmetro	Valor
Potência RF (W)	1500
Ar Plasma (L min^{-1})	17
Ar Auxiliar (L min^{-1})	1,0
Ar Nebulização (L min^{-1})	1,0
Vazão Amostra (mL min^{-1})	1,0
Cones	Pt
Varredura por Leitura	5
Leituras por Replicatas	1
Replicatas	5
Dwell Time	50 ms
Operação do Detector	Dual mode
Tipo de Nebulizador	Ciclônico

Para a validação de metodologia, o mercúrio foi determinado a partir da leitura do material de referência (MR) *BIO-RAD Lyphochek Whole Blood Metals Control, Level 2*, como neste não reporta valor de selênio, para a determinação do mesmo foram utilizados os materiais de referência certificados (MRC) *SeronormTM Trace Elements Serum L-1* e *SeronormTM Trace Elements whole Blood L-2*.

Uso de célula de reação para a determinação de Se em sangue

Após a avaliação dos resultados obtidos pelo método acima mencionado, foi identificada a necessidade do uso da Célula de Reação Dinâmica (DRC, *Dynamic reaction cell*) para a determinação do Se. Para aplicação desta metodologia, a determinação foi realizada usando o isótopo mais abundante de selênio, ^{80}Se , e

utilizando CH₄ como gás de reação. As condições instrumentais do equipamento são similares às mencionadas na Tabela 1, mas com a adição da vazão do CH₄ de 0,8 L min⁻¹.

Além do uso de DRC, para a determinação de Se, foi também aplicada a técnica de adição de analito (Ratzlaff, 1979; Saxberg e Kowalski, 1979). Esta se baseia na leitura da solução da amostra sem analito, com posterior leitura da solução da mesma amostra adicionada a uma concentração conhecida de Selênio (*spike*). Neste caso foi escolhido a adição de 2 µg L⁻¹ a solução de leitura. Este procedimento foi adotado para a leitura de cada amostra, pois no momento da análise não existia no laboratório material de referência certificado. A exatidão do método ICP-MS-DRC só conseguiu ser obtida posteriormente a análise das amostras, com a chegada do material de referência certificado. O material usado foi *SeronormTM Trace Elements Whole Blood L-2* (MRC).

4.2.4.2. Determinação de Hg em cabelo pela técnica de Absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS)

Foi pesado aproximadamente 0,25 g de cabelo, previamente lavado, e após, adicionado 10 mL de solução ácida (H₂SO₄:HNO₃ 1:1 e V₂O₅ 0,1%). A solução resultante foi submetida a aquecimento de 80°C até a completa dissolução da mesma. Posteriormente foi adicionada uma solução de 5% (m/v) KMnO₄ até a permanência da coloração violácea (Campos, 1980).

As determinações foram realizadas pela técnica de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS), no equipamento modelo Perkin-Elmer 3300, segundo o método proposto por Campos (1980). Para verificar a qualidade analítica do método, foram realizadas diariamente leituras de branco e curvas de calibração externa. A exatidão da metodologia foi avaliada mediante análise do Material de referência certificado (MRC), *CRM 13 Human Hair, NIES, Japan*.

4.2.4.3. Determinação de Hg e Se em cabelo pela técnica de Plasma indutivamente acoplado e espectrometria de massa (ICP-MS)

Durante esse trabalho foi observado que as concentrações de Se em cabelo são também um dado importante para o estudo da exposição ao Hg, e embora a técnica de AAS-CV descrita anteriormente tenha apresentado bons resultados, é

uma técnica monoelementar, e não é aplicada para a determinação de Se. Consequentemente, reconheceu-se a necessidade de otimizar uma técnica multielementar para a análise simultânea de ambos os elementos (Se e Hg). Por isso foi otimizada a determinação de Se e Hg pela técnica de ICP-MS usando MRC (*CRM-13 Human hair, Nies Japan*). Porém, essa metodologia não foi aplicada às amostras, devido a falta de quantidade suficiente de amostra após a determinação de Hg por CV-AAS.

Para a determinação de Hg e Se pela técnica de ICP-MS, foi pesado aproximadamente 0,1 g das amostras de cabelo, previamente lavado, em balança analítica com precisão de 0,1 mg, seguindo-se a adição de 1mL de HNO₃ em tubo Eppendorf de 50 mL. As amostras permaneceram *overnight* à temperatura ambiente e, posteriormente foram colocadas na placa aquecedora a 80 °C por 1 hora (Carneiro *et al.*, 2002). Após esse procedimento, foi adicionado 0,4 ml de H₂O₂ e mantido por aproximadamente mais 30 minutos na placa de aquecimento à mesma temperatura. As amostras digeridas foram resfriadas à temperatura ambiente e avolumadas a 10 ml com uma solução de 1% de butanol adicionado também um padrão aquoso de ouro (Au) para uma concentração final de 1mg L⁻¹.

A determinação de Se e Hg foi realizada no equipamento ICP-MS Agilent 7500-CX, utilizando as condições experimentais apresentadas na Tabela 2

Tabela 2 – Condições do ICP-MS Agilent 7500 CX para leitura de Se e Hg em cabelo.

Parâmetro	Valor
Potência RF (W)	1500
Ar Plasma (L min ⁻¹)	17
Ar Auxiliar (L min ⁻¹)	1
Ar Nebulização (L min ⁻¹)	0,86
Vazão Amostra (mL min ⁻¹)	1
Cones	Pt
Varredura por Leitura	5
Leituras por Replicatas	1
Replicatas	5
Tempo de Lavagem (seg)	30
Operação do detector	Pulse
Tipo de Nebulizador	Concêntrico

A quantificação dos elementos de interesse foi realizada mediante emprego de curva de calibração externa, preparada diariamente numa faixa de 1 a 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ com uma solução de 1% de butanol, sendo a faixa linear de trabalho obtida para todas as curvas considerada adequada para fins analíticos, apresentando um coeficiente de determinação maior a 0,99 para os isótopos ^{82}Se e ^{202}Hg . Para fins de controle de qualidade da metodologia empregada, foram realizados uma avaliação e um controle sistemático da leitura dos brancos durante as análises.

A exatidão e precisão da metodologia foram verificadas através da análise do MRC (*CRM 13 Human Hair, NIES, Japan*).

5. Resultados e Discussão

Para apresentação e discussão dos resultados, os mesmos foram divididos em resultados analíticos e resultados de exposição ao Hg. O primeiro compreende os resultados obtidos pelas metodologias aplicadas na análise de material de referência e materiais de referência certificados, com o intuito de mensurar a exatidão dos métodos utilizados ao longo do presente estudo.

As outras duas sessões deste capítulo mostram os resultados da análise dos biomarcadores de exposição coletados nas comunidades; sendo a primeira sessão os resultados das concentrações de cabelos em ambas as comunidades, onde foram incluídos adultos, adolescentes e crianças que concordaram na participação do projeto; e na última sessão serão mostrados e discutidos especificamente os resultados referentes às populações infantil e adolescentes de ambas as comunidades, onde foram também estudadas as condições gerais de saúde.

5.1. Resultados Analíticos: aplicação das técnicas analíticas para determinação de Hg e Se em diferentes Materiais de Referência Certificado

5.1.1. Determinação de Se e Hg no sangue pelo método de ICP-MS

Na curva de calibração de Hg em padrão aquoso (0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 5; 10; 20 $\mu\text{g L}^{-1}$), foi observada, após a leitura do último ponto, um efeito de memória, que se caracterizou por um sinal elevado nos brancos analisados após a curva. Esse efeito de memória já foi reportado na literatura por Palmer et al. (2003). Por isso, foi adicionada solução de 1 mg L^{-1} de Au, para limpeza após cada leitura, e também na curva de calibração e, na solução de amostra, foi adicionado o padrão de ouro com uma concentração de 1 mg L^{-1} , como citado pelo autor antes mencionado. Após a adição do padrão de Au, não foi mais observado o efeito de memória.

A determinação do mercúrio no material de referência (MR) de *Lynphocheck whole blood Level 2*, estão apresentados na Tabela 3. O Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) instrumental foram, respectivamente 0,1 e 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$.

**Tabela 3 – Determinação de Hg ($\mu\text{g L}^{-1}$) em material de referência
Lynphocheck whole blood Level 2.**

Valor reportado	Valor obtido (n=7)
23,3 (15,3-31,2)*	19,8 \pm 2,1**

*faixa aceitável reportada no material de referencia *Lynphocheck whole blood Level 2*

** Desvio padrão

Na determinação do selênio no método Standard, através da leitura do isótopo ^{82}Se no material de referência *SeronormTM Trace elements Serum*. Foram encontrados resultados com um erro relativo elevado (54%), ao comparar o resultado obtido com o resultado certificado.

Uma curva de calibração externa com padrões aquosos de Se foi construída com 5 pontos na faixa de concentração de 2 até 40 $\mu\text{g L}^{-1}$. O limite de detecção instrumental desta metodologia é de 0,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ e o limite de quantificação foi de 2,2 $\mu\text{g L}^{-1}$. Aplicando à amostra a diluição de 50x, o limite de quantificação do método é de 110 $\mu\text{g L}^{-1}$ na amostra original.

A diluição inicial da amostra foi de 1:50 como mencionado na literatura (Batista *et al.*, 2009), o sinal analítico obtido na solução de amostra mostrou-se abaixo do limite de quantificação, por isto decidiu-se diminuir o fator de diluição da amostra para 1:25. Após ser diminuído o fator de diluição da amostra de 50 para 25 vezes (0.1 mL de amostra: 2.5mL de volume final), foi avaliada a recuperação do Se com essa diluição, usando o material de referência *Seronorm Serum*, com valor certificado de 59,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, embora não sendo sangue total, pois a matriz soro era a matriz disponível no laboratório mais semelhante ao sangue nesse momento. O valor obtido resultante desta metodologia foi de 93 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (57% de erro), colocando em evidência a existência de possíveis interferentes, que passam a ser mais evidentes quando a mesma se encontra menos diluída.

Neste caso, existem reportados íons poliatômicos que são interferentes espectrais na m/z 82, tais como $^{12}\text{C}^{35}\text{Cl}_2^+$, $^{34}\text{S}^{16}\text{O}^+$, $^{40}\text{Ar}_2\text{e}^+ \text{H}_2^+$ (May e Wiedmeyer,

1998). Os primeiros dois são íons poliatômicos com elementos bastante abundantes em matrizes biológicas e os segundos são elementos presentes no plasma e na atmosfera, porém passíveis de ocorrer. Adicionalmente, existe a influência já reportada do efeito que a concentração do carbono tem sobre a ionização do Se (Larsen e Stürup, 1994), e isto pode ter ocorrido ao diminuir o fator de diluição, já que a concentração de carbono é mais elevada na solução de leitura e estimula a ionização do Se, produzindo um sinal mais elevado do mesmo.

É importante ressaltar que adicionalmente a o fato do Se ser um elemento com baixa ionização (32%) em plasma de argônio, a abundância natural de ^{82}Se (9,19%) é relativamente baixa, resultando em um baixo sinal no método standard, dificultando assim a leitura de soluções que apresentam baixas concentrações.

Pelo exposto anteriormente, decidiu-se testar a técnica de célula de reação dinâmica (DRC) com gás CH_4 , para evitar a interferência causada pela formação do dímero de Argônio, e poder realizar a leitura através do isótopo ^{80}Se que é o mais abundante do Selênio, melhorando assim a sensibilidade do método. Devido à falta de material de referência certificado no momento da análise da amostra, foi aplicada também a técnica de adição de analito, que já foi mencionada como uma metodologia aplicada para a correção dos interferentes de matriz (Jarvis *et al.*, 1991).

Otimização da vazão do gás de reação na técnica DRC-ICP-MS para análise do isótopo ^{80}Se .

Para o uso do DRC, é necessária a otimização da vazão do gás de reação a ser utilizado. Com esse propósito, neste estudo, foi realizada a leitura de ^{80}Se com diferentes vazões de CH_4 , em um branco e uma solução de amostra com concentração de Selênio de $50 \mu\text{g L}^{-1}$. A escolha da vazão de metano para os estudo subsequentes foi baseada na relação de compromisso entre o sinal da solução de selênio e o branco. Foi escolhida a vazão de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ (Figura 7) uma vez que em vazões superiores foi observada redução do sinal analítico (cps).

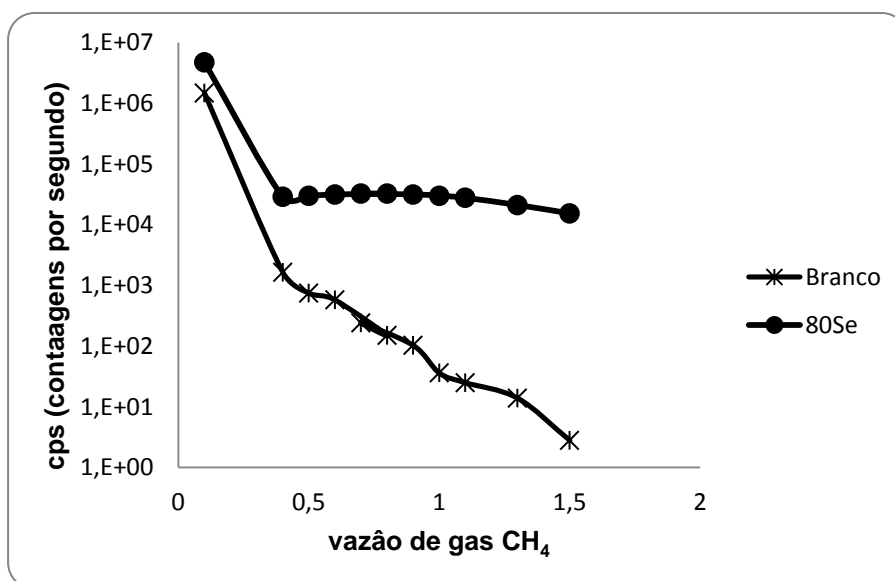
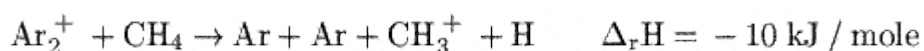


Figura 7 – Teste de otimização de vazão de gás metano (CH₄) para o uso da célula de colisão/reação na determinação do ⁸⁰Se.

Controle de Interferente de ¹H⁷⁹Br⁺ sobre o isótopo ⁸⁰Se

O uso de célula de reação dinâmica para análise em ICP-MS consiste na adição de um gás de reação no DRC antes do quadrupolo analítico que, como já foi discutido anteriormente, é o encarregado de diminuir a incidência de interferentes poliatômicos. No entanto, a introdução de um novo gás pode também contribuir para a formação de interferentes secundários. Hatendorf e Gunther (2003) mencionam, em seu estudo, que o gás CH₄ apresenta resultados satisfatórios para a análise de Se, através do uso do isótopo de ⁸⁰Se. Porém, menciona que, entre as possíveis reações dentro da célula, inclui-se uma dissociação oxidativa do CH₄, como indicado na reação abaixo, sendo a mesma muito plausível de acontecer, por ser uma reação exotérmica (Hattendorf e Günther, 2003).



Por isso, para a análise de Se, foi considerada, também, a possível formação do interferente secundário, que é o HBr⁺ com m/z 80. Para estudar a possível interferência, foi realizado um teste que consistia na leitura de uma solução contendo 2 µg L⁻¹ de Se com concentrações crescentes de Br de 50 µg L⁻¹ até

$600 \mu\text{g L}^{-1}$, o que corresponderia a valores de 2.5 até 30 mg L^{-1} na amostra original (Figura 8). Foi escolhida essa faixa de concentração crescente de Br, com base em dados da literatura sobre as concentrações de bromo presentes em sangue humano, que podem estar em uma faixa que vai de $2,5\text{-}11,7 \text{ mg L}^{-1}$ (Olszowy *et al.*, 1998).

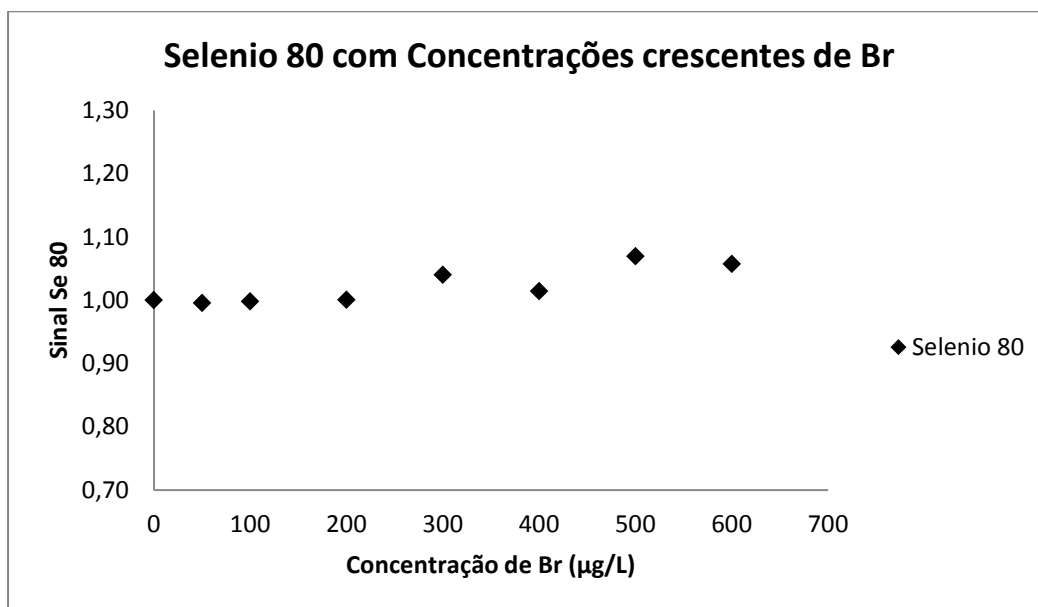


Figura 8 – Sinal de contagens por segundo (cps) de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de ^{80}Se em uma faixa crescente de concentração de Br ($50\text{-}60 \text{ mg L}^{-1}$).

Como observado na figura 6, comprovou-se que a determinação de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se, empregando CH_4 como gás de reação, usando o isótopo ^{80}Se , não sofre interferência significativa ($> 10\%$) na presença de bromo em uma faixa de concentração de $50\text{-}600 \mu\text{g L}^{-1}$ em solução aquosa, devido ao fato de que a formação da espécie interferente $^1\text{H}^{79}\text{Br}^+$, dentro desta faixa de concentrações de Br, não é observada de forma significativa para representar um obstáculo à determinação de ^{80}Se nessas condições.

Avaliação do efeito matriz e determinação da faixa linear de trabalho

Com o objetivo de testar o efeito matriz foram realizadas curvas de adição de analito em diferentes amostras e diluições. Na tabela 4, apresentamos os coeficientes angulares das curvas de adição de analito em 7 amostras de sangue total, escolhidas aleatoriamente. Observou-se uma variação pequena ($<5\%$), não

significativa, do coeficiente angular entre as amostras em cada uma das diluições testadas.

Tabela 4 – Coeficientes angulares das curvas de adição de analito de 6 amostras em 3 diluições (100x; 50x; 25x).

AMOSTRA	Diluição		
	100X	50X	25X
1	0,0113	0,0139	0,0142
2	0,0103	0,0128	0,014
3	0,0105	0,0119	0,0149
4	0,0106	0,0122	0,0147
5	0,0108	0,0126	0,0155
6	0,0105	0,0121	0,014
7	0,0103	0,0125	0,0132

Na Figura 9, mostram-se as curvas de adição de analito realizadas na mesma amostra diluída 100X, 50X e 25X. Observou-se que o intervalo de concentrações testadas, (1 a 8 $\mu\text{g L}^{-1}$) encontra-se dentro da faixa linear do trabalho para essas condições, estes testes foram realizados para as 7 amostras apresentadas na tabela 4, observando-se resultados similares.

Observou-se, também, que o coeficiente angular (sensibilidade) aumenta de modo inversamente proporcional à diluição efetuada, o que poderia ser explicado pela presença dos íons carbono. Em amostras mais concentradas, existe maior concentração de carbono e, como já mencionado anteriormente, tal fato melhora a ionização de elementos com alto potencial de ionização, caso do Se (Larsen e Stürup, 1994). Consequentemente, nota-se um aumento da sensibilidade.

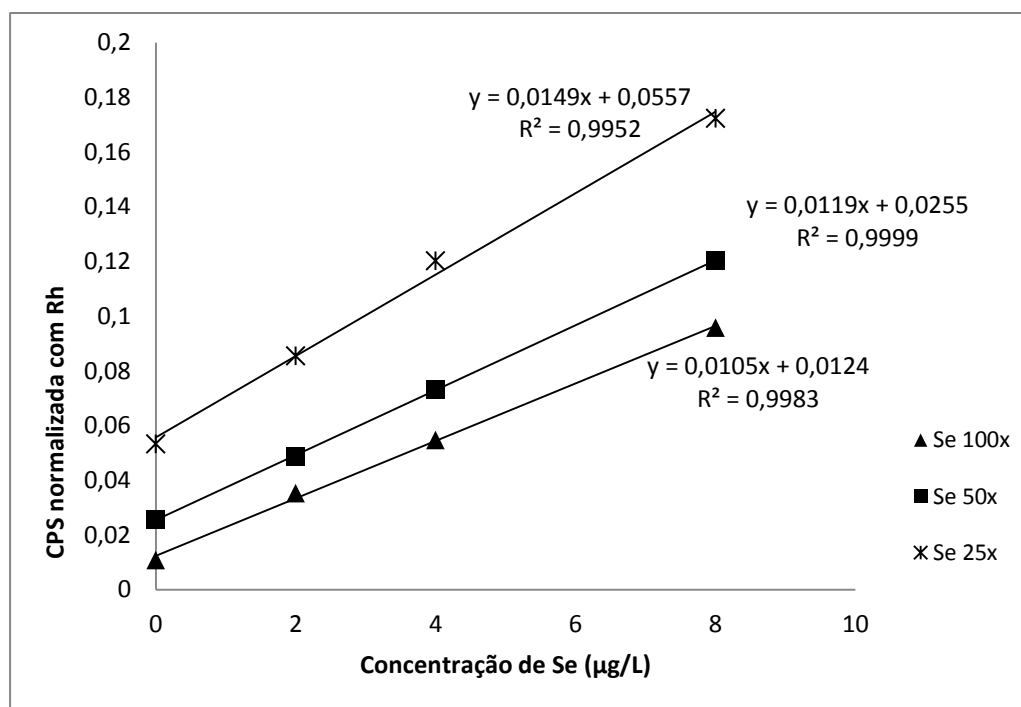


Figura 9 – Curva de adição de analito de Selênio (⁸⁰Se) em sangue, aplicando diferentes diluições à amostra.

Após de confirmar a pouca variabilidade do coeficiente angular entre as amostras (Tabela 4), foram realizadas as análises das amostras de sangue de crianças e adolescentes, coletadas nas comunidades de Belmont e Cuniã. No final de cada dia de análise, foi realizada uma avaliação dos coeficientes angulares após a leitura, com o objetivo de se certificar que a variação dos mesmos estivesse dentro de intervalo de confiança da distribuição normal dos coeficientes obtidos nesse dia. Das 352 amostras de sangue analisadas, 20 apresentaram coeficiente angular fora do intervalo antes mencionado, e foram separadas para reanálise.

O MRC de sangue (*SeronormTM Trace Elements Whole Blood L-2*) chegou ao laboratório apenas após realizadas todas as análises de sangue das crianças, e foi analisado juntamente com as amostras que apresentaram o coeficiente angular fora do intervalo de confiança, para garantir a acurácia desse resultado.

Foram realizadas determinações no MRC para a confirmação da exatidão e precisão dos métodos anteriormente descritos. Os resultados dos métodos estão na Tabela 5.

Tabela 5 – Determinação de Selênio no MRC *SeronormTM Trace Elements Whole Blood L-2*.

Valor Esperado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Valor Determinado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	
Certificado	Selênio 80 (Modo DRC, n=7)	Selênio 82 (Modo Standard, n=7)
112 (66-158)*	$105 \pm 14^{**}$	$134 \pm 14^{**}$

*faixa aceitável reportada no material de referencia *Seronorm Trace elemento whole blood L-2*

** Desvio padrão

Os resultados obtidos, aplicando as duas metodologias para a determinação do Se no material de referência (tabela 5), não apresentam uma diferença significativa com o valor certificado (teste T p-valor < 0.01) e ambos se encontram dentro da faixa aceitável reportada para o MRC ($66-158 \mu\text{g L}^{-1}$). Esses resultados mostram que ambas as metodologias poderiam ser usadas para a determinação de Se em sangue, embora se tenha observado que a metodologia que usa ^{80}Se apresenta um melhor resultado, com um erro menor (erro de 6%), em comparação com a metodologia de modo standard que usa o ^{82}Se , que apresenta um erro de 20%, com relação à média reportada no MRC. Ao comparar os resultados de ambas as metodologias, se observou uma diferença significativa entre os dois valores obtidos (Teste T p-valor $< 0,01$), comportamento também observado ao analisar as amostras, como será discutido a seguir.

Foram comparados os resultados da determinação de Se nas amostras da primeira coleta, usando ambas as metodologias: o modo standard (^{82}Se) e o modo DRC (^{80}Se) (Figura 10). Observou-se que os resultados apresentam diferença significativa entre os valores encontrados para cada uma das amostras, aplicadas às duas metodologias (Teste T- pareado P-valor < 0.01).

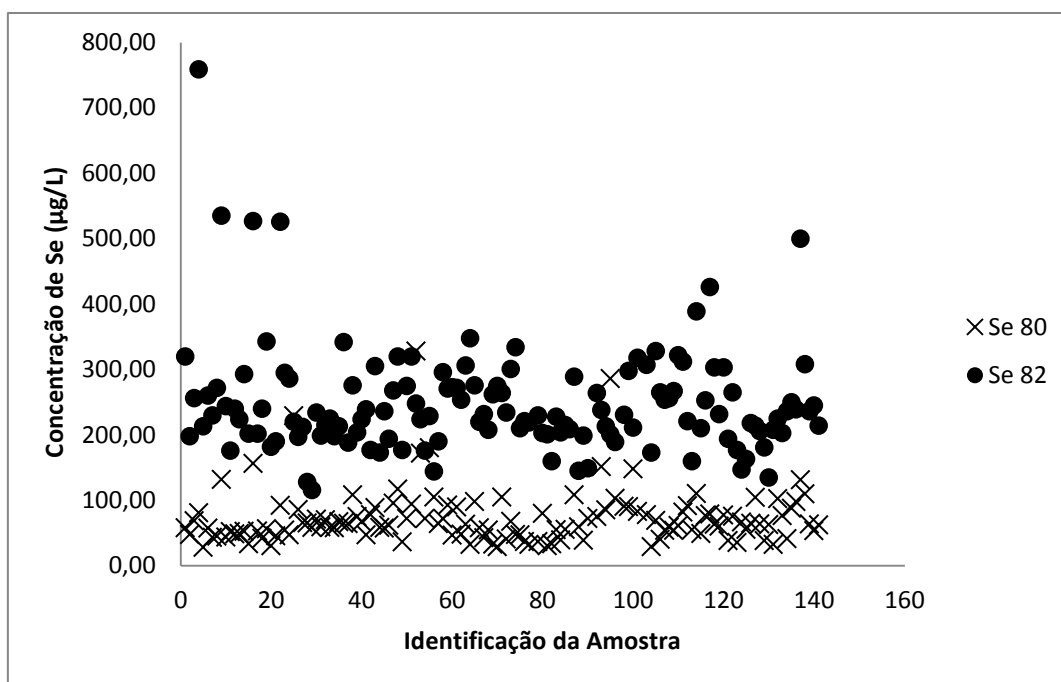


Figura 10 – Resultados das concentrações de selênio ($\mu\text{g L}^{-1}$) no sangue usando os Isótopos ^{80}Se (modo DRC) e ^{82}Se (Modo Standard).

Pode-se observar, na Figura 10, que os resultados obtidos, usando célula de colisão, são menores, se comparados aos obtidos usando o modo standard, o que provavelmente reflete a interferência de matriz corrigida por meio do uso do DRC e da técnica de adição de analito. O LD instrumental: $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ e LQ $0,7 \mu\text{g L}^{-1}$.

Embora existam trabalhos que reportam a aplicação do ^{82}Se para determinação direta no sangue diluído (Batista *et al.*, 2009), no presente estudo, decidimos adotar os resultados obtidos através da metodologia com DRC, usando selênio 80, com a técnica de adição de analito.

O sangue total é uma matriz biológica muito complexa, pelo grande número de elementos que contém. Por isso, no preparo da amostra, consideramos ser um passo importante a digestão ácida para poder minimizar a complexidade de elementos presentes na matriz. A aplicação das técnicas de DRC e adição de analito mostraram-se eficientes para a correção de interferentes reportados para o Se. O uso de DRC viabiliza o uso de ^{80}Se , melhorando assim o limite de detecção, pela abundância natural que esse isótopo apresenta, obtendo-se resultados satisfatórios, nos testes de vazão de gases. A possibilidade da formação de um interferente secundário, problema que poderia ser gerado com a aplicação

de DRC, como é o caso de $^1\text{H}^{79}\text{Br}^+$, foi avaliada. Constatou-se não haver interferência das concentrações possivelmente presentes na matriz estudada, fato comprovado através da leitura de Se com concentrações crescentes de Br, pois mostrou não afetar de forma significativa a determinação do Se. E, finalmente, outros possíveis interferentes de matriz, como viscosidade e variações no plasma são corrigidos com a técnica de adição de analito, cujo objetivo principal é corrigir interferência de matriz, embora seja esta técnica mais trabalhosa, visto requerer que a amostra seja analisada várias vezes com diferentes concentrações conhecidas do analito (spike).

Outro ponto que deve ser considerado na análise de sangue é a complexidade e heterogeneidade da matriz, já que é uma matriz formada por uma fase globular (eritrócitos e linfócitos) e outra aglobular (soro ou plasma). A primeira tem tendência à formação de coágulos, sendo os eritrócitos o principal reservatório de vários elementos, como é o caso do Se e do Hg (Berglund *et al.*, 2005; Lemire *et al.*, 2008; Lemire *et al.*, 2010). Por isso, a liofilização da matriz é altamente recomendada, na tentativa de diminuir os efeitos que tal heterogeneidade sobre a análise, visto que, após a reconstituição da parte liofilizada, a matriz fica mais homogênea.

5.1.2.Determinação de mercúrio em cabelo por CV-AAS

Os resultados obtidos através da técnica CV-AAS, na determinação do Hg no *CRM 13 Human hair* não apresentaram diferença significativa com o valor certificado (teste T, $p\text{-valor} < 0,001$). Os resultados da determinação de Hg no material de referência são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6 – Determinação das concentrações de Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$) no material de referencia certificado de cabelo *CRM-13 Human hair*, pela técnica de CV-AAS.

Valor Certificado	Valor Obtido
$4,42 \pm 0,2$	$4,27 \pm 0,16$

Média \pm desvio padrão (n=7);

A técnica de vapor frio descrita anteriormente é uma técnica robusta para a análise de Hg e que pode ser aplicada em vários tipos de matrizes, já que a geração de vapor frio elimina os efeitos da mesma na hora da leitura. Embora seja uma técnica que envolve um preparo de amostra laborioso, com uso de vários reagentes, possui a vantagem de ser relativamente barata, oferecer baixos limites instrumentais de detecção (LD: $0,3\mu\text{g L}^{-1}$) e quantificação (LQ: $1,2\mu\text{g L}^{-1}$).

5.1.3.Determinação de Hg e Se no cabelo por ICP-MS

A determinação de Hg e Se em matrizes biológicas tem sido feita principalmente pelas técnicas de Espectrometria Atômica, usando a técnica de Geração de Hidreto e Espectrometria de Fluorescência Atômica (AFS) para Se, e Vapor frio (CV- AAS) para análise de mercúrio (Dorea *et al.*, 1998; Rahman *et al.*, 2000; Seppänen *et al.*, 2000; Soares De Campos *et al.*, 2002; Pinheiro *et al.*, 2005). Essas metodologias são técnicas relativamente baratas e monoelementares, que oferecem baixos limites de detecção. O caráter monoelementar dessas técnicas, no entanto, é uma desvantagem. Schummer 1978 propôs uma metodologia na qual é usada a mesma solução da amostra para a determinação de Se e Hg através das técnicas de AFS e CV-AAS, respectivamente, mas o tratamento da solução de amostra para a determinação em Fluorescência Atômica é demorado, trabalhoso e requer o uso adicional de HCl para a redução de Selênio, necessária para a formação de hidreto, dificuldade que é reportada também por outros autores em trabalhos onde a determinação de Se e Hg é necessária na mesma amostra biológica (Dorea *et al.*, 1998; Rahman *et al.*, 2000; Seppänen *et al.*, 2000; Soares De Campos *et al.*, 2002; Pinheiro *et al.*, 2005).

No presente estudo, foram desenvolvidos métodos analíticos para a determinação de Hg e Se em cabelo. Para fins de validação, foi analisado o material de Referência CRM-13 Human Hair pela técnica de ICP-MS operando no modo *standard*.

No caso do Hg, para evitar o efeito de memória na técnica de ICP-MS, já reportado na literatura (Palmer *et al.*, 2006), foi adicionado à solução de limpeza do sistema, 1 mg L^{-1} de Au, bem como na curva de calibração e nas amostras analisadas como reportado por Palmer e colaboradores (2006).

Com relação ao selênio, foi observado um erro relativo alto na determinação do MRC tanto para o ^{80}Se , com ORC (Octapole Reaction Cell) com gás hidrogênio, como para o ^{82}Se no modo standard (erro de 61 a 110%). Os resultados mostraram uma possível interferência de matriz para esse elemento em ambas as metodologias (Tabela 7). Por isso, foi adicionado à solução de amostra e curva de calibração 1% de butanol, o que melhorou notoriamente a determinação do Se em ambos os isótopos, sendo a recuperação no modo standard mais satisfatória, comparada com o modo ORC.

Tabela 7 – Determinação das concentrações de Selênio ($\mu\text{g g}^{-1}$) no material de referencia certificados CRM 13 Human Hair.

Aquoso		Butanol 1,0%		Valor certificado
Modo ORC (^{80}Se)	Standard (^{82}Se)	Modo ORC (^{80}Se)	Standard (^{82}Se)	
3,8	2,9	1,90 \pm 0,11	1,73 \pm 0,20	1,79 \pm 0,17

Media \pm desvio padrão

Menciona-se na literatura o alto potencial de ionização do Se, o que faz com que sua análise por ICP-MS seja dificultada. Alguns autores propõem a técnica de adição de compostos orgânicos, com o objetivo de aumentar a população de íons C^+ no plasma, que estimula a ionização de outros elementos, como é o caso do Se, produzindo consequentemente um incremento na intensidade do sinal analítico (Larsen e Stürup, 1994). Rodrigues et al 2008 mencionam, em seu estudo, uma recuperação não satisfatória (menor a 80%) ao se aplicar a curva de calibração externa, fato esse atribuído à interferência de matriz, e propõe a adição de L-cisteína, que é o principal componente da queratina, proteína presente no cabelo, na curva de calibração. Após essa adição, os autores reportaram que não foi encontrada diferença significativa entre o valor de Se obtido e o valor certificado do material de referência, embora os autores reportaram que a recuperação para Hg foi menor a 70% (Rodrigues *et al.*, 2008).

Observou-se que a determinação realizada adicionando 1% de butanol e 1 mg Kg^{-1} de ouro na solução de amostra, não apresentou diferença significativa

(Teste T, p-valor < 0,01) ao valor certificado de Se e Hg (Tabela 8). Os limites instrumentais de detecção para Hg e Se foram de 0,04 e 0,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente. E os limites de quantificação foram de 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o Hg e 1,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o Se.

Tabela 8 – Determinação das concentrações de Se e Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$) no material de referência certificado CRM 13 Human Hair, pela técnica de ICP-MS modo standard com a adição de 1% Butanol e 1mg L^{-1} de Au.

Elemento	Valor Determinado (n=11)	Valor Certificado
Selênio	1,73 \pm 0,12	1,79 \pm 0,2
Mercurio	4,13 \pm 0,2	4,42 \pm 0,17

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os valores encontrados e certificados (T-student test, p-valor< 0.05).

Sem a adição do componente orgânico na curva de calibração, o coeficiente angular era inferior aproximadamente três vezes em comparação à curva de calibração com a adição de 1% de butanol (Tabela 9). Esse comportamento não foi observado no caso do Hg, cuja ionização nas condições do plasma é relativamente elevada em comparação ao Se, e, provavelmente por essa razão, a adição de butanol não teve a mesma influência no sinal do Hg (Tabela 9).

Tabela 9 – Coeficientes angulares das curvas de calibração em solução aquosa e com adição de 1% de butanol.

Elemento	0% Butanol	1% Butanol
Selênio	1407	6006
Mercurio	31334	44349

Existem estudos que ressaltam as vantagens da técnica de ICP-MS para análise de cabelo e reportam níveis de Se e Hg obtidos por essa metodologia (Razagui e Haswell, 1997; Goullé *et al.*, 2005; Rodrigues *et al.*, 2008). Razagui e colaboradores (1997) reportaram boa recuperação para Se (96-107%) após aplicar

a digestão por microondas, mas, nesse estudo, não se especifica como é feita a curva de calibração, e a porcentagem de ácido usada é duas vezes maior que a proposta em nosso estudo. Goullé 2005 reportou resultados obtidos pela técnica de ICP-MS após digestão ácida da amostra em placa aquecedora a 80°C, mencionando também a adição de butanol e Triton na solução de amostra. Tal estudo não reporta valores de recuperação de material de referência, mas a metodologia foi validada para 32 elementos e um dos critérios de validação foi a linearidade da curva de calibração. Embora, no presente estudo, encontrássemos para a curva de calibração externa aquosa, sem adição de butanol, uma linearidade de curva de 0,99, o coeficiente angular foi mais baixo do que o obtido ao adicionar o butanol. Como mencionado anteriormente, Rodriguez e colaboradores, em 2008, também reportaram uma metodologia para a análise de Se em cabelo com ICP-MS, que mostrou resultados satisfatórios para esse elemento, após a adição de L-cisteína. Porém a digestão foi realizada utilizando hidróxido de tetrametilamônio à temperatura ambiente, ou seja, em uma digestão alcalina através de uma base muito forte, que apresenta um preço mais elevado em comparação com a digestão ácida usando HNO₃, e, além disso, o autor reporta que essa metodologia não foi eficiente para a determinação de Hg.

Os resultados obtidos pela metodologia ICP-MS, modo standard neste estudo, após a adição de padrão de Au 1 mg g⁻¹ e 1% butanol na curva de calibração externa e na solução de amostra, não apresentaram diferença significativa com o valor certificado (Tabela 8). A mesma requer uma digestão relativamente simples através do uso de reagentes baratos. Digestão com HNO₃ e H₂O₂ e calor (80°C) através de uma placa aquecedora, onde podem ser colocadas várias amostras simultaneamente.

5.2. Exposição ao mercúrio nas comunidades de Belmont e RESEX Cuniã

5.2.1. Avaliação da Exposição ao Hg

Foi coletado um total de 487 amostras de cabelo, das quais 238 foram de Belmont e 249 de Cuniã, sendo que em Belmont 63% das amostras são de adultos e 37% de crianças e, em Cuniã, 54% dessas amostras são de adultos e 46% de crianças.

Verificou-se que as concentrações de mercúrio no cabelo nos habitantes das comunidades de Belmont e Cuniã não apresentaram distribuição normal (teste de Kolmogorov, p -valor $<0,05$), razão pela qual testes não-paramétricos foram aplicados.

Foi observada nas concentrações de mercúrio no cabelo uma ampla variabilidade intracomunidade e, também, diferença estatisticamente significativa entre as duas comunidades (Mann-Whitney U, p -valor $< 0,01$), sendo maiores os valores encontrados na população de Cuniã. Com relação a diferenças por gênero, em Cuniã os níveis deste elemento foram mais elevados em indivíduos do sexo masculino, porém tal ocorrência não se observa em Belmont, já que não foi encontrada uma diferença significativa das concentrações entre sexo feminino e masculino (Tabela 10). Em relação à idade, encontrou-se uma correlação positiva significativa embora baixa entre as concentrações de Hg e idade agregando todos os resultados. (Coeficiente de Spearman 0,163, p -valor $< 0,001$). Posteriormente foi testada a correlação em cada comunidade e evidenciou-se ainda mais forte em Cuniã (Coeficiente de Spearman 0,360, p -valor $< 0,001$) que em Belmont (Coeficiente de Spearman 0,180, p -valor $<0,001$). Encontrou-se uma diferença significativa, em ambas as comunidades (Mann-Whitney U, p -valor $< 0,01$), entre as concentrações de Hg em crianças (2- 16 anos), que em Belmont apresentam uma mediana de $2 \mu\text{g g}^{-1}$ e em Cuniã $4,2 \mu\text{g g}^{-1}$, comparados com os níveis de Hg em adulto (>16 anos), reportando em Belmont a mediana de $2,9 \mu\text{g g}^{-1}$ e em Cuniã $8,1 \mu\text{g g}^{-1}$ (Figura 11).

Tabela 10 – Concentrações de Hg-Total em cabelo ($\mu\text{g g}^{-1}$) na RESEX Cuniã e na comunidade de Belmont.

Comunidades	Gênero	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Cuniã	Masculino	114	8,8	5,8	7,9	1,1	33,8
	Feminino	135	5,5	3,5	4,6	0,6	19,0
	Total	249	7,0	5,0	5,8	0,6	33,8
Belmont	Masculino	102	3,4	3,2	2,3	0,1	19,1
	Feminino	136	5,2	9,3	2,7	0,1	71,4
	Total	238	4,4	7,4	2,5	0,1	71,4
Total	Total	487	5,8	6,4	4,1	0,1	71,4

Em Cuniã, 14% das mulheres em idade reprodutiva (13-49 anos) apresentaram níveis de Hg no cabelo acima do recomendado pela OMS ($10\mu\text{g g}^{-1}$) e, em Belmont, 24% ultrapassaram esses níveis. Em crianças, o valor de corte adotado foi de $6\mu\text{g g}^{-1}$, uma vez que há autores reportando possíveis efeitos deletérios quando a concentração de Hg se apresenta acima destes níveis (Atsdr, 1999). Em Cuniã, 37% das crianças apresentaram concentração de mercúrio no cabelo com valor superior a $6\mu\text{g g}^{-1}$, índice bem maior que aquele encontrado em Belmont, onde apenas 7% das crianças superaram esta marca, ver figura 11.

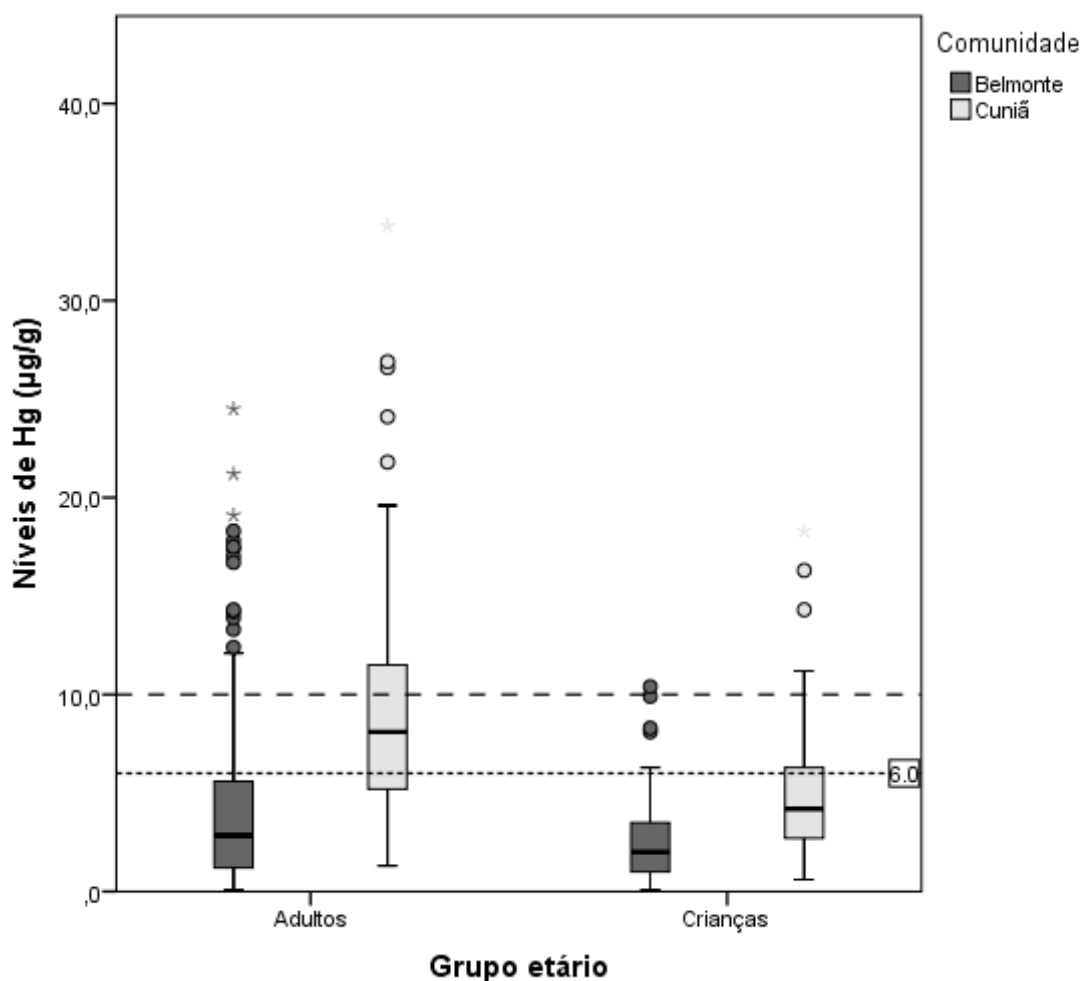


Figura 11 Concentrações de Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$) em cabelo de adultos e crianças na RESEX Cuniã e comunidade de Belmont.

5.2.1.1. Concentrações de Hg em cabelo e o consumo de peixe

Considerando todas as amostras de ambas as comunidades, verificou-se que existe uma correlação positiva, estatisticamente significativa, entre os níveis de mercúrio e a frequência do consumo de peixe (Coeficiente de Spearman: 0,380, p-valor < 0,01). A RESEX Cuniã encontra-se afastada da cidade, e é localidade de difícil acesso. Assim, sua fonte básica de proteínas se compõe quase exclusivamente de peixes e, eventualmente, é complementada com a caça de animais pertencentes ao topo de cadeia da região (ex: jacaré e biguá). Em contraste, a população localizada em Belmont possui diferentes alternativas alimentares, devido à sua proximidade com o centro urbano de Porto Velho, resultando tal facilidade na diminuição da frequência do consumo de peixe, como

se pode observar nos resultados apresentados na Tabela 11 _ a frequência de consumo de peixe em Belmont é significativamente mais baixa se comparada ao consumo de peixe em Cuniã, o que se reflete, conseqüentemente, nos níveis de Hg verificados em suas populações (Figura 11 e 12).

Tabela 11 – Frequência do Consumo de Peixe na RESEX Cuniã e Comunidade de Belmont.

Frequência do Consumo	Comunidades	
	Belmont %	Cuniã %
Nunca ou a cada 15 dias	29,46	1,61
Até 3 dias por semana	46,06	19,35
4 vezes por semana	18,67	21,37
Diariamente	5,81	57,66

Ao aplicar o teste de correlação de Spearman para as categorias de frequência de consumo de peixe e concentração de mercúrio no cabelo para cada comunidade, embora baixa foi observada uma correlação positiva significativa em Belmont (Coeficiente de Spearman: 0,209; p-valor < 0,05), e, em Cuniã, embora tenha sido observada uma tendência positiva, esta não foi significativa (Coeficiente de Spearman: 0,122; p-valor: 0,057) .

A baixa correlação entre a concentração de Hg e frequência no consumo de peixe, poderia ser explicado pela acurácia dos métodos de estudo de frequência de consumo, ou seja, é uma metodologia que depende da memória da pessoa entrevistada.

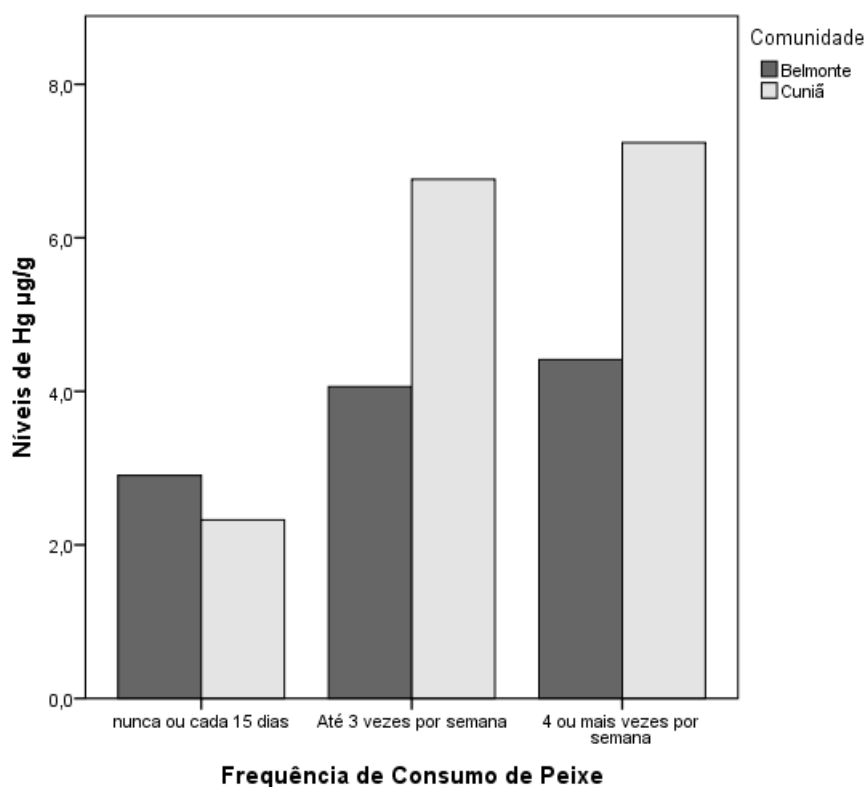


Figura 12 - Associação das concentrações de Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$) com frequência do consumo de peixe na RESEX Cuniã e comunidade de Belmont.

Quanto ao tipo do peixe consumido, os habitantes da RESEX reportaram a maior porcentagem de consumo de peixe carnívoro, como pode ser observado na Tabela 12, fator que contribuiu para os níveis elevados de Hg encontrados nessa população. Sabe-se que as concentrações de Hg no peixe dependem da posição da espécie na cadeia trófica, sendo os indivíduos de topo de cadeia aqueles que apresentam os níveis mais altos de concentração do metal, devido às características de biomagnificação do Hg, já antes descritas.

Tabela 12 – Percentagens do consumo por tipo de peixe (hábito alimentar) na RESEX Cuniã e comunidade Belmont.

Tipo de Peixe	Comunidades	
	Belmont %	Cuniã %
Herbívoro	46,8	41,0
Onívoro	30,2	2,8
Carnívoro	23,0	56,2

5.2.1.2. Tempo de Exposição.

Embora deva ser lembrado que entre os critérios de seleção foi considerado ter pelo menos 1 ano de permanência na comunidade. O tempo de residência entre ambas as comunidades apresentou uma diferença significativa (Test Mann-Whitney U, p-valor=0,05). Cuniã apresentou uma média de residência de 21 anos e somente 4% dos adultos reportaram menos de 3 anos de residência dentro da RESEX. Diferentemente, em Belmont, a média de residência é de 16 anos (menor, portanto), e 20% dos habitantes reportaram um tempo de residência inferior a 3 anos. Foi também encontrada uma correlação positiva, embora fraca, entre tempo de residência dos indivíduos na comunidade e as concentrações de mercúrio em cabelo (Coef Spear: 0,186, p-value < 0.01).

O tempo de residência na comunidade reflete o tempo de exposição da população ao Hg presente nesse ecossistema. A maior parte dos habitantes da RESEX Cuniã são residentes permanentes. Na RESEX existe pouca migração para fora da mesma, e seus hábitos alimentares são baseados principalmente em recursos nativos dessa região com pouca influência da área urbana. Por outro lado em Belmont existe uma maior migração para dentro e fora da comunidade e a mesma se encontra muito próxima a área urbana, o que influi a dieta dessa comunidade.

Considerando as 487 amostras coletadas neste estudo, encontrou-se uma média de $5,8 \mu\text{g g}^{-1}$ de Hg e mediana de $4,1 \mu\text{g g}^{-1}$ de Hg (ver tabela 1). Esse valor é menor que os valores reportados para o Rio Madeira, em estudos anteriores, em populações ribeirinhas (Malm *et al.*, 1990; Bastos *et al.*, 2006). O estudo de Bastos e colaboradores (2006), um dos que apresenta um elevado número de amostras de cabelo humano (716), apresentou uma mediana de $12,5 \mu\text{g g}^{-1}$ de Hg. Nesse trabalho, foram amostradas 45 comunidades ao longo do baixo Rio Madeira, entre Porto Velho e Itacoataia, das quais 33 apresentaram uma mediana acima de $10 \mu\text{g g}^{-1}$. O trabalho de Hacon 2014, que inclui os dados aqui apresentados, estuda 4 comunidades do Rio Madeira, duas à jusante, duas à montante, e a RESEX Cuniã, sendo encontrados nessas comunidades valores relativamente mais baixos em comparação aos reportados por Bastos. Hacon et al, 2014 estabelece uma clara diferença entre os níveis de Hg entre as comunidades estudadas, sendo a de Belmont a que apresenta os níveis mais baixos, e Cuniã, os mais altos. Embora a RESEX não se encontre próxima a áreas de garimpo, a ingestão de peixe é alta. Adicionalmente, pelo reportado por Bastos e colaboradores (2006) em seu estudo, o lago de Cuniã apresenta, em sedimento e material particulado, concentrações relativamente elevadas de mercúrio acumulado (média $98,3 \mu\text{g g}^{-1}$). Tal fato provavelmente se justifica pelas condições geográficas da hidrodinâmica desse ecossistema. Os lagos existentes nas margens do rio são potenciais reservatórios de mercúrio, uma vez que, devido às grandes diferenças nos níveis da água entre os períodos de cheia e de seca, são receptores de material particulado fino, o qual sedimenta, podendo, portanto, acumular o mercúrio. Somando-se a isto, a época da cheia contribui para a lixiviação dos solos contaminados que se encontram ao redor dos lagos. Bastos menciona que não foram observados padrões na distribuição do Hg no sedimento do Rio Madeira, porém os valores reportados (média $46,2 \mu\text{g g}^{-1}$) no mesmo apresentam tendência a ser mais baixos que os reportados para os lagos localizados na margem, principalmente em comparação com o lago de Cuniã, que apresentou um dos valores mais altos reportados para sedimento nesse estudo.

Ainda que, no presente estudo, não tenham sido analisadas matrizes ambientais, os dados encontrados no cabelo refletem o reportado por outros estudos nas matrizes ambientais de sedimento e peixe (Bastos *et al.*, 2006). Além disso, coloca em evidência a importância de monitorar comunidades como a

RESEX de Cuniã que, embora esteja localizada longe de área de garimpo, apresenta valores significativos de Hg no cabelo da população. Ao analisar os níveis de Hg em ambas as comunidades, observa-se que estes são mais baixos que aqueles reportados nos estudos anteriores nessa região. Ao analisar a média reportada para adulto em cada comunidade, em Cuniã a média ($8,1 \mu\text{g g}^{-1}$) é próxima do reportado por outros autores para o Rio Madeira, em áreas possivelmente afetadas pelo garimpo (Malm *et al.*, 1990). Vale a pena ressaltar, porém, que o cotejamento da média dos níveis de Hg em cabelo não é a melhor ferramenta de comparação, uma vez que se sabe que esse tipo de dados apresenta uma ampla variabilidade dentro das comunidades, e, conseqüentemente, uma distribuição não normal. Por essa razão, usar mediana e percentis é a abordagem mais recomendada, embora alguns estudos não apresentassem esse tipo de medidas, sendo difícil, portanto, a comparação entre eles.

Os estudos que reportam a exposição dos indivíduos ao Hg na Amazônia brasileira apontam para a necessidade de monitorar a associação desta exposição com os possíveis efeitos nocivos à saúde humana. No entanto, até aqui, a maioria dos estudos que reportaram aumento nos níveis de Hg nas comunidades ribeirinhas do Rio Madeira não relaciona tais achados às condições de saúde das populações locais. (Malm *et al.*, 1990; Boischio e Barbosa, 1993; Boischio e Cernichiari, 1998; Boischio e Henshel, 2000; Bastos *et al.*, 2006). Ainda assim, Boischio mostra, nos seus trabalhos sobre a avaliação de risco à exposição ao Hg no Rio Madeira, a importância do estudo da saúde das populações ribeirinhas, principalmente nos grupos mais vulneráveis, como são as mulheres em idade reprodutiva e as crianças (Boischio e Henshel, 2000).

Os poucos estudos transversais, em populações ribeirinhas adultas, na Amazônia Brasileira, que relatam uma associação entre o aumento dos níveis de Hg e a diminuição da função neuromotora (Lebel *et al.*, 1998; Grandjean *et al.*, 1999; Dolbec *et al.*, 2000) foram realizados na Amazônia central, no estado do Pará. As populações estudadas apresentavam médias de 10,8 a $12,6 \mu\text{g g}^{-1}$ de concentração de mercúrio em cabelo, valores abaixo dos $50 \mu\text{g g}^{-1}$ padrão considerado limítrofe pela OMS, acima do qual aumentam em 5% as chances de uma pessoa adulta apresentar sintomas da intoxicação por Hg. Conseqüentemente, os resultados dos estudos na Amazônia, põem em evidência o potencial risco que representa a exposição ao mercúrio através do consumo de peixes pelas

populações ribeirinhas, visto estarem elas submetidas a uma exposição crônica de baixas doses, como acontece nas comunidades de Belmont e Cuniã, o que deve ser avaliado, devido a que as consequências destes tipos de exposições ainda não terem sido bem estudadas (Holmes *et al.*, 2009), e existirem controvérsias na interpretação dos efeitos na saúde.

Os níveis de Hg em cabelo encontrados no presente estudo seguem um padrão já reportado por outros autores na região amazônica (Cordier *et al.*, 2002; Barbieri e Gardon, 2009; Hacon *et al.*, 2014), onde se observa que as comunidades ribeirinhas mais isoladas apresentam níveis mais altos de Hg no cabelo. Tais comunidades dependem exclusivamente dos recursos naturais da região, o que determina que sejam altos consumidores de peixe, a principal fonte de proteínas. No entanto, a maioria dos trabalhos realizados na Amazônia em áreas isoladas foi realizada em adultos. Existem poucos estudos de crianças os quais avaliem a exposição ao mercúrio (Passos e Mergler, 2008)_ alguns incluem comunidades isoladas (Tavares *et al.*, 2005; Pinheiro *et al.*, 2007; Fonseca *et al.*, 2008), e outros se restringem a crianças residentes nas proximidades de áreas urbanas com níveis mais baixos de exposição (Marques *et al.*, 2007; Dutra *et al.*, 2012; Farias *et al.*, 2012). São poucos os estudos que encontraram uma possível associação entre mercúrio e danos à função neuromotora na Amazônia (Grandjean *et al.*, 1999; Cordier *et al.*, 2002).

Pode-se observar, no presente estudo, que em ambas as comunidades os níveis de mercúrio em adultos são significativamente mais altos que os das crianças (Figura 11). A mediana dos níveis de Hg em cabelo de criança (Belmont: $2,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ e Cuniã: $4,2 \mu\text{g.g}^{-1}$), comparada com aquelas de outros estudos da Amazônia (Tabela 13) indica exposição baixa e moderada (Tavares et al. 2005; Pinheiro et al. 2007). Porém, deve-se considerar que esses níveis representam uma exposição crônica, ao longo da vida dessas crianças, começando desde a etapa pré-natal. Como já descrito, as crianças representam o grupo mais sensível à exposição ao Hg, visto representar este metal uma potente toxina quando atinge o sistema nervoso que nas crianças ainda está imaturo. A exposição precoce e continuada ao mercúrio pode, portanto, trazer danos graves ao desenvolvimento.

Tabela 13 – Concentração de Hg em cabelo de crianças da Amazônia Brasileira reportados na literatura.

Crianças	Lugar	Níveis de Hg ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	N	Autor
Indígenas Caiapós (>2 anos)	Rio Fresco	8,11 \pm 3,16; 6,55(0,8-13,7)	54	Barbosa, et al. 1998
7-12 anos	Santa de Itiqui	3,8(0,5-12,4)	124	Grandjean, et al. 1999
7-12 anos	Brasília Legal	11,9(0,7-35,8)	112	Grandjean, et al. 1999
7-12 anos	São Luís de Tapajós	25,4 (0,6-83,5)	98	Grandjean, et al. 1999
7-12 anos	Sai Cinza	17,7(7,3-63,8)	86	Grandjean, et al. 1999
Riberinhos (< 2 anos)	Rio Madeira	10,82 \pm 8,46; 7,8 (0,8-44,44)	71	Barbosa, et al. 1998
Waru Indian	Rondônia,	5,76 (5,06-6,58)	3	Campos, et al. 2002
Kayabi (<10 anos)		16,5 \pm 11,44	40	Dorea, et al. 2005
Cururu (<10 anos)		4,75 \pm 2,09	86	Dorea, et al. 2005
Kuburua (< 10 anos)		2,87 \pm 2,13	77	Dorea, et al. 2005
Ribeirinhos (3-7 anos)	Barão de Melgaço	5,37 \pm 3,35; 4,7 (0,58-17,14)	72	Tavaares et al. 2005
Crianças da Cidade	Barão de Melgaço	2,08 \pm 1,37; (0,38-7,57)	73	Tavaares et al. 2005
Meninas (0-12 anos)	Panacauera	2,74 \pm 0,96; (0,85-9,46)	22	M.C.N. Pinhero et al. 2007
Meninos (0-12 anos)	Panacauera	2,23 \pm 1,57 (0,39-5,16)	16	M.C.N. Pinhero et al. 2007
Meninas (0-12 anos)	Barreiras	6,48 \pm 2,61 (1,33-12,10)	37	M.C.N. Pinhero et al. 2007
Meninos (0-12 anos)	Barreiras	9,13 \pm 4,71 (1,66-17,70)	47	M.C.N. Pinhero et al. 2007
Meninas (0-12 anos)	São Luís de Tapajós	13,39 \pm 9,08 (1,34-53,80)	30	M.C.N. Pinhero et al. 2007

Crianças	Lugar	Níveis de Hg ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	N	Autor
Recém-Nascidos	Porto Velho	1,59 (0,05-19,65)		Marques, et al. 2007
Seis meses	Porto Velho	1,81 (0,02-32,95)		Marques, et al. 2007
10 anos	Puruzinho	18,4 \pm 12,76; 14,4(57,0-3,4)		M.F. Fonseca et al 2008
2-7 anos	Manaus	1,93 \pm 3,9	201	Farias et al, 2012
2-16 anos	Belmont	2,0 (0,1-10,8)	86	Este Estudo
2-16 anos	Cuniã	4,2 (0,6-18,3)	114	Este Estudo

*Média \pm Desvio padrão; mediana (min-max)

É uma questão da saúde pública o estudo da exposição crônica ao mercúrio em crianças e adolescentes através do consumo do peixe. Embora o consumo crônico de pescado contaminado com mercúrio possa representar um risco para a saúde, o peixe é a principal fonte de proteína e contém também outros nutrientes, como Se, colina, ácidos graxos poliinsaturados, que proporcionam uma série de efeitos benéficos para o desenvolvimento (Clarkson e Strain, 2003). Por tal razão, faz-se importante estudar a interação de todos esses fatores e a sua incidência na saúde, para entender o risco real a que esse grupo está exposto neste contexto.

A seguir, é apresentado o estudo da avaliação de saúde e exposição ao mercúrio e selênio, nas crianças das comunidades de Belmont e a RESEX Cuniã, usando como principal biomarcador a matriz sangue.

5.3. Avaliação da condição da saúde e concentração mercúrio e selênio no sangue em crianças e adolescentes na comunidade de Belemonte e Resex Cuniã

5.3.1. Resultados do Inquérito Domiciliar

O inquérito das condições de saúde das crianças e adolescentes até 16 anos de idade resultou das entrevistas realizadas com os pais e/ou responsáveis, no período de setembro de 2010 a dezembro de 2010. A abrangência foi de crianças com idades entre 2 e 16 anos, totalizando 110 entrevistas na área da Resex do Lago Cuniã e 80 entrevistas na comunidade de Belmont. A Tabela 13 apresenta a caracterização das populações infantis estudadas.

Caracterização sociodemográfica

Na Resex Cuniã, das 110 crianças que integraram o estudo, 68 % estudam no local. A idade média foi de 8,2 anos. Em relação à cor, 16% se declararam brancos, 18% pretos e 56% pardos. Na comunidade de Belmont, das 80 crianças que integraram o estudo, 95 % estudam no local. A idade média foi de 10 anos. Em relação à cor, 15% se declararam brancos, 24% pretos e 55% pardos. A caracterização sociodemográfica é apresentada na tabela 14, onde são apresentadas a distribuição de sexo, idade (maior ou menor de 10 anos, idade média) e a porcentagem de crianças que estudam em cada comunidade.

Tabela 14 – Distribuição de crianças e adolescentes por sexo, faixa etária e escolaridade na RESEX Cuniã e Comunidade Belmont.

Variáveis	Comunidades	
	RESEX Cuniã N= 110	Belmont N=80
<i>Sexo</i>		
Feminino	62 %	56 %
Masculino	38 %	44 %
<i>Idade</i>		
< 10 anos	70%	60%
> 10 anos	30%	40 %
<i>Escolaridade</i>		
Estuda	68 %	95 %
Não estuda	32 %	5 %

Modulo de Avaliação em Saúde

No que diz respeito à gravidez e ao nascimento da criança, 76% das crianças da RESEX do Lago Cuniã e 79% das crianças em Belmont fizeram o exame laboratorial chamado de triagem neonatal (teste do pezinho). Este exame detecta precocemente doenças metabólicas, genéticas e infecciosas, que poderão causar alterações no desenvolvimento neuropsicomotor do bebê. Este conhecimento é importante, principalmente para aquelas mães que foram expostas a elevadas concentrações de Hg, via ingestão de peixe durante o período da gestação.

Na RESEX do Lago Cuniã, do total das crianças, o peso médio ao nascer foi de 3,290 kg (mínimo: 2,000 kg e máximo de 5,000 kg) e 7,3% das crianças nasceram com peso inferior a 2,500 kg. Na comunidade de Belmont, do total da amostra de crianças, o peso médio ao nascer foi de 3,255 kg (mínimo: 2,000 kg e máximo de 4,950 kg) e 17,2% das crianças nasceram com peso inferior a 2,500 kg.

Para a totalidade da amostra de crianças residentes em ambas as comunidades, 6 % dos pais avaliaram a saúde das crianças como muito boa nas duas comunidades, acima de 80% avaliaram como boa (Cuniã 81%; Belmont 84, 6%), e menos de 3% avaliaram como ruim.

Dentre os agravos à saúde referentes às crianças mencionados pelos pais/responsáveis nas entrevistas, a malária é a doença mais comum, ocorrendo com frequência superior a 70% (Cuniã 74,5%; Belmont 72,5%). Segue-se à malária a catapora, com 35,5% de casos referidos em Cuniã e 16,5% em Belmont. Micose de pele é citada em aproximadamente 7% nas duas comunidades (Cuniã 6,4% e Belmont 7,5%). Em Belmont, bronquite é morbidade referida em 7,5% das entrevistas. Outras doenças investigadas têm percentis inferiores a 3%.

Quanto ao desenvolvimento mental das crianças das RESEX do Lago Cuniã e Belmont, apenas 1% dos pais apontou desenvolvimento mental anormal dos seus filhos na comunidade de Belmont. Em relação à deficiência física, 1 % das crianças apresenta alguma deficiência (braço torto, fenda palatina, pé-torto) em ambas as comunidades. Estas variáveis não apresentam diferenças entre gênero.

Modulo Nutricional

Em relação à amamentação das crianças, cerca de 96% das crianças foram amamentadas em ambas as comunidades. Dessas crianças, 53% em Cuniã e 65% em Belmont.

Observou-se que os alimentos mais consumidos pelas crianças residentes nas duas comunidades são peixe, mandioca, feijão, e arroz (Tabela 15). Sendo o consumo de feijão e arroz significativamente mais elevado em Belmont e da mandioca significativamente mais consumida em Cuniã (Minn Whitney p -valor $< 0,05$). Porém, com relação ao consumo de peixe, Cuniã apresenta uma frequência maior (Minn Whitney p -valor $< 0,05$): 54% consomem peixe diariamente, diferentemente de Belmont, onde só 1,3% reportou comer pescado todos os dias. Os peixes mais consumidos pelas crianças, no período avaliado, apresentam diferença entre as comunidades. Em Cuniã, foram: tucunaré, pacu, piranha, branquinha e traíra; e, em Belmont, foram reportados como mais consumidos: pacu, tambaqui, barba-chata, curimatá e mandi. As crianças e adolescentes seguem a dieta dos pais. Observou-se que, em Cuniã, a comunidade tem a necessidade de alterar a dieta de peixes durante o período de chuva, considerando a redução da abundância das espécies neste período, o que a leva a consumir outros alimentos, diversificando a dieta em relação ao período de seca. No período de chuva, a comunidade faz uso de aves aquáticas e carne de jacaré, quando disponível. Em Cuniã, dentre as frutas mais consumidas, destacam-se manga, banana, coco e açaí, de acordo com a época do ano. Além disso, algumas crianças (10%) consomem diariamente castanha-do-pará. Em Belmont, as frutas que apresentaram maior consumo foram banana, maçã, goiaba, manga e laranja, de acordo com a época do ano, e o consumo da castanha-do-pará é muito baixo, 80% das crianças reportaram não consumir a semente, e apenas 5% reportaram consumir até 3 vezes por semana.

Tabela 15 – Frequência percentual das principais proteínas consumidas pela população infantil da RESEX Cuniã e Comunidade de Belmont.

Comunidade	Alimentos	Nunca	1 vez a cada 15 dias	De 1 a 3 vezes por semana	Mais do que 3 vezes por semana	Diariamente
Cuniã	Peixe	0	2	25	20	53
	Frango	3	27	65	2	3
	Ovos	16	19	48	11	6
	Carne	5	51	27	12	4
	Leite	1	5	9	10	75
	Castanha-do-pará	28	35	20	7	10
Belmont	Peixe	9	20	53	16	1
	Frango	0	9	67	15	9
	Ovos	4	27	52	9	9
	Carne	0	18	51	23	9
	Leite	1	1	17	19	60
	Castanha-do-pará	80	15	5	0	0

5.3.2. Avaliação físico-neurológica

Não foi observada diferença entre os resultados da avaliação neurológica nas crianças, entre as duas comunidades. Observou-se somente um caso de criança com alteração físico-neurológica em cada comunidade, e esses casos não apresentaram níveis altos de Hg.

5.3.3. Parâmetros Antropométricos e Pressão Arterial

Índice de massa corporal (IMC)

Não foi encontrada uma diferença significativa entre o IMC das crianças nas duas comunidades nem entre as diferentes estações climáticas.

A Tabela 16 apresenta as percentagens das categorias de IMC em cada comunidade. Não foi encontrada diferença significativa do *Z-score* de IMC entre as comunidades, nem estações. Podendo-se observar que, em ambas as comunidades a maioria das crianças e adolescentes são eutróficas. Em Belmont, embora a diferença não tenha sido significativa na percentagem de crianças com

excesso de peso, se observaram mais crianças com sobrepeso, isto poderia ser reflexo do tipo de dieta, uma vez que em Belmont o acesso à comida industrializada é maior, o que geralmente implica dieta com maior valor calórico.

Tabela 16 – Distribuição percentual das categorias Z-score de IMC na RESEX Cuniã de Comunidade de Belmont nas diferentes estações do ano amostradas.

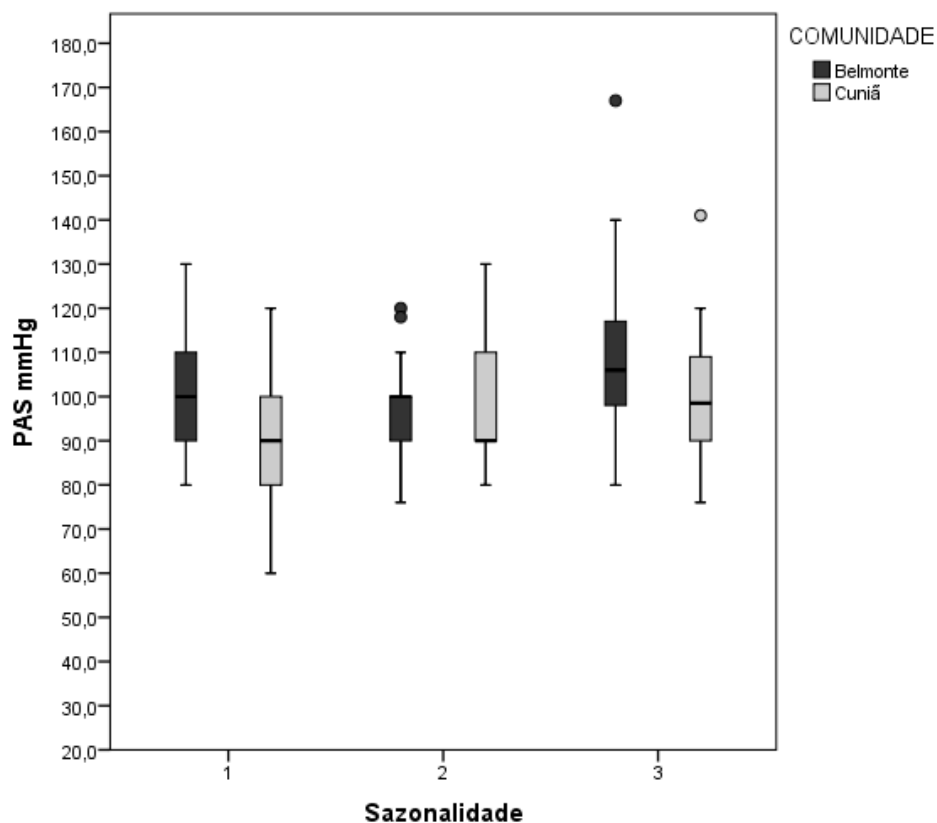
Condição	Belmont (%)			Cuniã (%)		
	Transição	Seca 1	Seca 2	Transição	Seca 1	Seca 2
Muito magro	2,6	0	0	1,3	1,4	1,9
Magro	5,3	2,8	7,1	1,3	1,4	1,9
Eutrófico	77,0	72	76,9	82,2	87,0	88,5
Sobrepeso	8,0	14,1	14,2	6,8	7,2	7,7
Obeso	6,6	7	9,5	4,1	2,9	0
Obeso grave	0,0	0	2,1	0	0	0

A avaliação da condição nutricional aplicada em estudos populacionais pode ser complementada com os dados antropométricos associados aos inquéritos alimentares e exames bioquímicos (Sbd, 2009).

Pressão Arterial

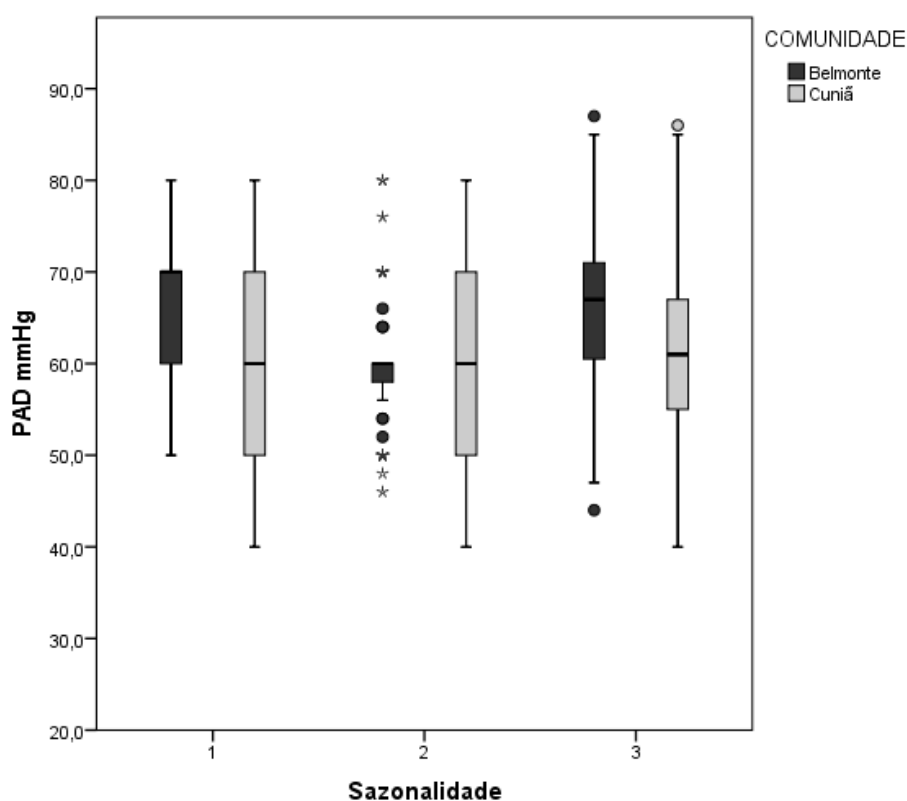
A pressão arterial diastólica (PAD) e a pressão arterial sistólica (PAS) apresentaram diferença significativa entre as comunidades de Cuniã e Belmont (Mann Whitney p-valor < 0,01). Em Belmont, as mensurações de PAD e PAS nas crianças apresentam valores mais elevados (figuras 13 e 14). Embora não se possa afirmar que as crianças de Belmont sofram de hipertensão arterial, é recomendável que essa tendência seja estudada com atenção. Não se têm valores de referência de pressão arterial em crianças nessa região. A probabilidade de hipertensão arterial em adultos é maior, quando, na infância, tenha havido elevação da PA. Na população brasileira, é alta a prevalência de hipertensão arterial (22,3-43,9%), o que, associado a sobrepeso, é fator de risco importante para morbidades cardíacas, entre outras doenças relacionadas (Patrocinadoras, 2007; De Araújo *et al.*, 2008). O monitoramento da pressão arterial deve ser praticado rotineiramente na avaliação da saúde de crianças e adolescente, sendo

esta prática ainda mais importante em populações que estejam expostas a fatores de risco para alterações cardiovasculares, como pode ser o caso da exposição ao Hg.



Sazonalidade 1: transição (maio2011); 2:seca 1 (Setembro 2011); 3: seca 2 (Julho 2012)

Figura 13 - Pressão Arterial Sistólica (PAS) registrada nas crianças estudadas na RESEX Cuniã e comunidade de Belmont em diferentes estações do ano.



Etapa 1: transição (maio 2011); Etapa 2: seca 1 (Setembro 2011); Etapa 3: seca 2 (Julho 2012)

Figura 14 - Pressão Arterial Diastólica (PAD) registrada nas crianças estudadas na RESEX Cuniã e comunidade de Belmont em diferentes estações do ano.

Embora Belmont apresente níveis mais elevados da pressão arterial, os níveis de Hg no sangue e no cabelo mostraram valores mais baixos em Belmont que em Cuniã. Entende-se que a pressão arterial é também afetada por outros fatores, como dieta, IMC, atividade física. Estas variáveis frequentemente são afetadas quando ocorrem mudanças no estilo de vida das populações. Por este motivo, tais fatores devem também ser cuidadosamente monitorados após a implantação da hidroelétrica na região, visto tal empreendimento promover mudanças no estilo de vida das pessoas que moram na área.

5.3.4. Resultados de Hemograma

Foram realizadas três coletas de sangue; 107 amostras em maio 2011, 132 em setembro 2011 e 93 amostras em Julho 2012. De todas as crianças amostradas,

89 foram amostradas na primeira e segunda coleta, e, dessas 89 crianças, 67 foram re-amostradas na última coleta.

Na continuação, são apresentados os parâmetros hematológicos de ambas as comunidades nas 3 estações. Os níveis encontrados nas 3 estações estão dentro dos valores de referência para crianças nessas idades (Sbd, 2009). Não foi observada diferença significativa, entre as comunidades, nos níveis de hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio e linfócitos. Porém, foi observada uma diferença significativa nos níveis de eosinófilos, os quais foram mais altos na RESEX Cuniã durante a época de seca, apresentando maior número de casos de eosinofilia relativa ($> 5\%$). Os eosinófilos são leucócitos mediadores de respostas imune, e, entre as principais causas do aumento dos níveis destas células no sangue, estão as infecções parasitárias e as reações alérgicas. No entanto, os casos de eosinofilia, nas crianças estudadas, foram observados em crianças com resultados de exame parasitológico tanto positivos como negativos. Logo, essa elevação de níveis de eosinófilos em casos negativos de parasitose, deve ser decorrente de reações alérgicas. A ferritina também apresentou diferença significativa entre as populações, sendo mais alta em Belmont, onde apresentou também uma variação sazonal, observando-se níveis de ferritina mais elevado durante a época seca. Embora a ferritina apresentasse essa diferença significativa entre comunidade e estação, não foi encontrada nenhuma diferença no ferro sérico (tabela 17).

**Tabela 17 – Parâmetros hematológicos das crianças estudadas da RESEX
Cuniã e comunidade de Belmont nas diferentes estações estudadas.**

PARÂMETROS	Período de Transição		Período de Seca 1		Período de Seca 2	
	Belmont	Cuniã	Belmont	Cuniã	Belmont	Cuniã
FERRITINA ng/mL	50 ± 34 43 (12-247)	36 ± 14 33 (16-75)	56 ± 30 47(11-152)	32 ± 15 30(9-85)	68 ± 45 56(7-190)	42 ± 17 41(11-88)
FERRO SÉRICO μg/dL	75 ± 23 73 (29-127)	78 ± 25 74(25-140)	80 ± 34 73(21-217)	83 ± 3 78(29-189)	78 ± 17 74(50-118)	71 ± 10 71(52-101)
HEMATÓCRITO %	40 ± 3 40 (35-50)	39 ± 3 40(32-46)	40 ± 3 40(35-47)	41 ± 4 40(33-61)	39 ± 2 39(34-45)	39 ± 2 38(33-51)
HEMOGLOBINA %	13 ± 1 13(11-17)	13 ± 1 13 (11-16)	13 ± 1 13(11-15)	13 ± 1 13(11-19)	13 ± 1 13(11-14)	13 ± 1 13(11-16)
VCM	82,5 ± 4,8 83(68-93)	83,9 ± 3,3 84(75-92)	82,6 ± 5,2 83(68-94)	83,6 ± 3,5 84(75-94)	82,4 ± 4 83(71-92)	83,9 ± 3 84(75-94)
LINFÓCITOS%	35 ± 8 34(11-53)	36 ± 9 35(18-67)	34 ± 9 30(20-60)	38 ± 9 38 (20-66)	35 ± 9 35(16-55)	33 ± 9 32(9-50)
MONÓCITOS%	4 ± 2 4(1-7)	4 ± 2 4(1-11)	2 2(1-5)	4 ± 2 4(1-10)	5 ± 2 5 (3-9)	4 ± 1 4(2-7)
EOSINÓFILOS%	9 ± 6 8 (1-38)	11 ± 8 9(0-45)	7 ± 4 6(1-16)	11 ± 8 9(0-45)	8 ± 6 6(2-33)	12 ± 9 8(1-35)

média ± desvio padrão, média (mínimo-máximo)

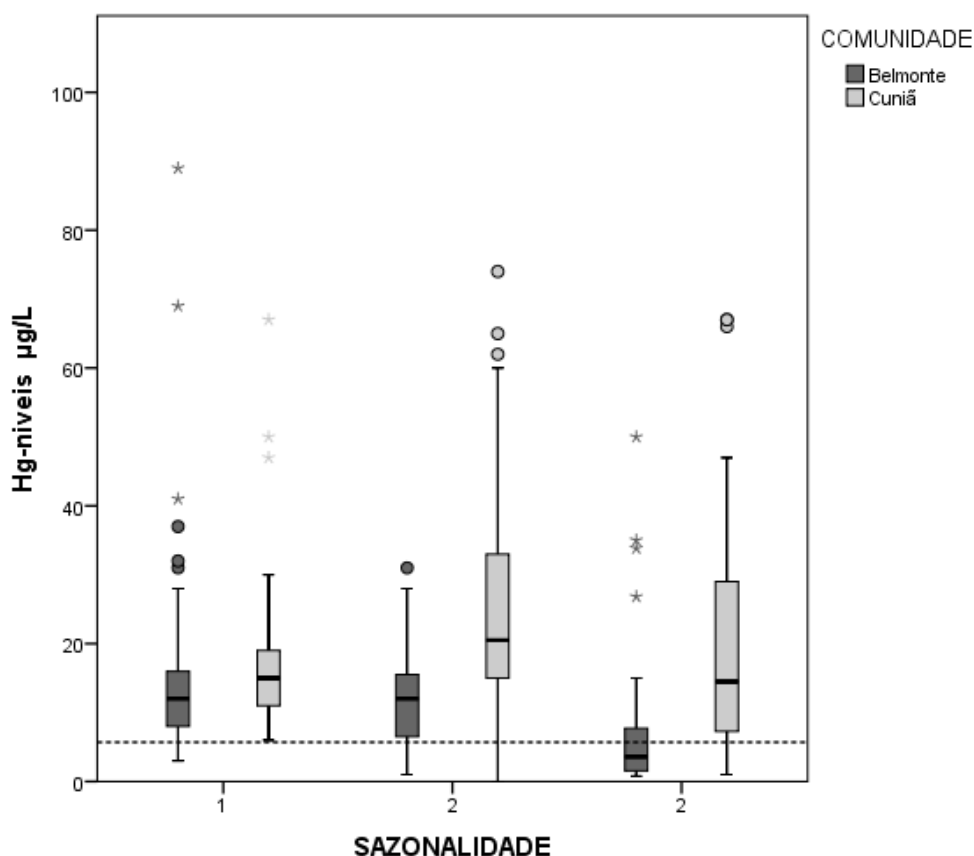
Não foi encontrada nenhuma alteração em saúde entre ambas as populações a partir da avaliação dos parâmetros antes mencionados. A elevação da ferritina pode ser resultado de uma ingestão maior de alimentos que contenham ferro, como é o caso da carne vermelha, feijão, açaí, entre outros. Elevações da ferritina também podem ser sinal de processos infecciosos ou inflamatórios, pelo que seria recomendado analisar ferritina junto a outras variáveis que indiquem essa condições (De Freitas Fonseca *et al.*, 2014).

5.3.5. Níveis de Mercúrio no Sangue

As concentrações de Hg no sangue não apresentaram uma distribuição normal, pelo que foram aplicados testes não paramétricos para o análise.

Foi observado que o gênero e a idade não influenciaram nos níveis de Hg no sangue das crianças estudadas, já que nenhuma das duas comunidades apresentou diferença significativa nos níveis de Hg entre meninas e meninos ou entre as faixas etárias de 2 a 10 anos e de 11 a 16.

Observou-se uma diferença significativa (Mann Whitney p -valor < 0,05) entre os níveis de mercúrio no sangue das crianças na comunidade de Belmont comparado à comunidade de RESEX Cuniã, sendo, na segunda, mais elevados em todas as etapas coletadas (Figura 15).



Sazonalidade: 1: transição (maio 2011); 2: seca 1 (Setembro 2011); 3: seca 2 (Julho 2012)

Linha pontilhada: Limite permissível no sangue (EPA): $5,8 \mu\text{g.L}^{-1}$

Figura 15 – Concentração de Hg no sangue de crianças estudadas na RESEX Cuniã e comunidade de Belmont nas diferentes estações do ano.

Na comunidade de Belmont, não foi encontrada diferença significativa entre os níveis de Hg na estação de transição (mediana: $14 \mu\text{g L}^{-1}$) e estação seca (mediana: $12 \mu\text{g L}^{-1}$), ou seja, não foi observada variação sazonal em 2011. Não obstante, os resultados dos níveis da seca de 2012 (mediana: $4 \mu\text{g L}^{-1}$) foram significativamente mais baixos que na etapa 1 (transição 2011) e 2 (seca 2011). Já em Cuniã se observou que as concentrações foram mais elevadas na estação seca (mediana: $21 \mu\text{g L}^{-1}$), em comparação com o período de transição em 2011 (mediana: $15 \mu\text{g L}^{-1}$); porém, na seca de 2012 (Mediana: $14 \mu\text{g L}^{-1}$), os níveis foram menores que na seca de 2011 e não apresentaram diferença significativa com a estação de transição de 2011. Esse comportamento dos níveis de Hg em ambas as comunidades foi confirmado ao realizar a comparação de médias pareadas das crianças que foram analisadas nas 3 coletas em ambas as comunidades.

Verificou-se uma correlação positiva entre os níveis de Hg no sangue e consumo de peixe (Coeficiente de Spearman: 0,356; p-valor < 0,01), analisando as amostras de ambas as comunidades em conjunto. Essa correlação positiva continua significativa ao analisar as comunidades em separado. Como já mencionado anteriormente, Belmont encontra-se localizada a apenas 10 km da cidade de Porto Velho, o acesso da comunidade a alimentos industrializados é relativamente frequente, diminuindo consequentemente a frequência na ingestão de peixe, o que se reflete provavelmente nos níveis mais baixos de Hg em sangue e cabelo dessa comunidade. Os hábitos alimentares da comunidade de Belmont, onde a frequência de ingestão de peixe está diminuída e substituída por outros alimentos, como mostrado acima, deve estar relacionado ao fato de que além dos níveis de Hg serem baixos, esses não apresentam variações sazonais, como foi observado nas duas coletas de 2011. Já na RESEX de Cuniã, cuja dieta é baseada principalmente na ingestão de peixe, e eventualmente, alimentos nativos da área, observamos níveis de mercúrio mais altos, e que refletem uma variação sazonal, evidenciada pela diferença significativa dos níveis deste metal entre as duas coletas de 2011. A coleta de maio foi realizada no início da época de transição, já que a época de cheia é considerada entre os meses de dezembro e abril. No

entanto, os níveis da água ainda estão elevados, em comparação com o período de seca de setembro.

Essa sazonalidade nas concentrações de Hg, na região amazônica, tem sido mencionada por outros autores (Dolbec *et al.*, 2001). E pode ser explicada pelo reportado nos questionários, no módulo nutricional, pelos habitantes da comunidade, que existe uma variação nas espécies de peixes consumidas durante as diferentes estações devido a disponibilidade das mesmas ser variada. Embora, no questionário, os habitantes da região citassem apenas a espécie mais consumida, esse consumo é sujeito à disponibilidade na estação. Devido à propriedade de biomagnificação do Hg, o peixe consumido pode apresentar diferentes concentrações de Hg, o que depende de sua posição na cadeia trófica, sendo os peixes piscívoros ou carnívoros os que apresentam as concentrações mais elevadas. Na estação de transição, as espécies de peixes não-carnívoros talvez sejam mais abundantes. De fato, Cuniã apresenta um maior consumo de espécies não-carnívoras durante a estação chuvosa (comunicação pessoal). No entanto, adicionalmente ao anterior, além da variação na disponibilidade de espécies, poderia existir, também, uma diferença na concentração do Hg no ecossistema, que depende das condições ambientais, as quais variam muito entre as estações de cada ano. Este fato poderia estar mostrado, no presente estudo, nas diferenças encontradas nos níveis de Hg no sangue entre as duas estações secas (setembro 2011 e Julho 2012), sendo significativamente mais baixos na seca de 2012, em ambas as comunidades. É provável que esses níveis mais baixos nas crianças estejam refletindo níveis de Hg dos peixes consumidos e do ecossistema nesse momento, que, embora também sejam da estação seca, podem ser influenciados por outros fatores ambientais, o que evidencia a complexidade do ciclo biogeoquímico do Hg no ecossistema Amazônico, já mencionado por outros autores (Wasserman *et al.*, 2003; Bastos, 2010).

Não encontramos valores de referência da presença de Hg no sangue, para crianças. Os níveis médios de mercúrio apresentados em ambas as comunidades estão acima dos valores recomendados pela EPA (Environmental Protection Agency), que recomenda manter os níveis de sangue abaixo de $5,8 \mu\text{g L}^{-1}$ e os de cabelo abaixo de $1 \mu\text{g g}^{-1}$, o que corresponderia à ingestão da dose diária, adotada

pela mesma agência, de $0,1 \mu\text{g Kg}^{-1}$ por peso corporal, dose permissível de Hg sem riscos comprovados de causar efeitos prejudiciais à saúde

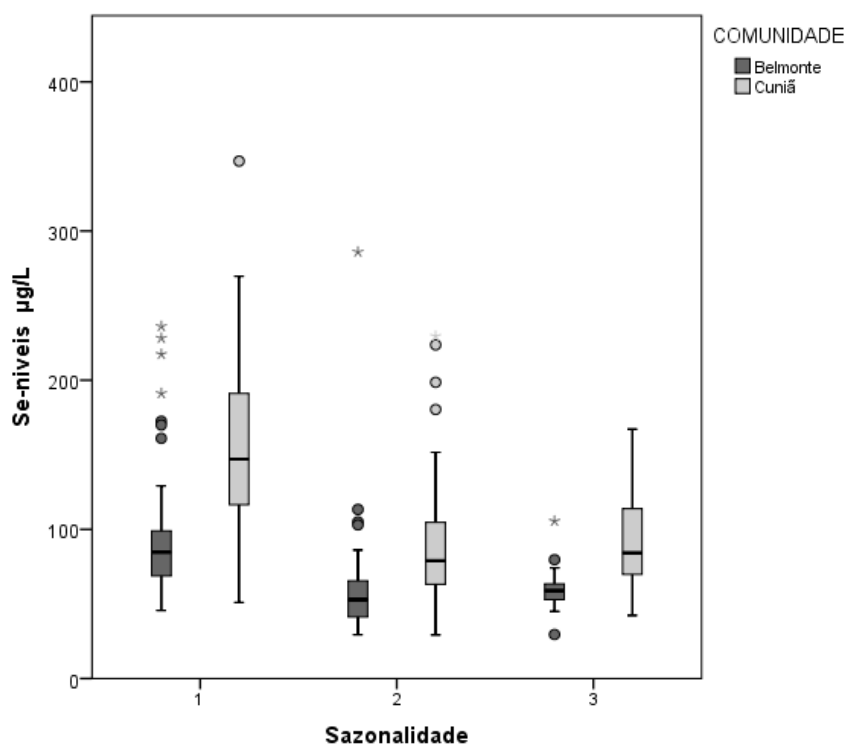
Os níveis recomendados pela EPA mencionados anteriormente são valores de referência, dificilmente podendo ser adotados na realidade Amazônica, devido, como já discutido anteriormente, à exposição crônica ao Hg pela alta frequência de ingestão de peixe, sendo esta a realidade das comunidades ribeirinhas que dependem do peixe como fonte exclusiva de proteína. Tal dependência é ainda mais marcada quando a comunidade se encontra em áreas isoladas de centros urbanos. Pelo anterior, é muito importante o estudo e registro de valores de referência para as populações desta região. Não encontramos valores de referência para sangue em crianças na literatura, visto que são poucos os estudos que usam esse indicador para o estudo da exposição ao mercúrio, sendo o cabelo o biomarcador mais usado. Os valores apresentados pelo presente estudo são os primeiros valores de Hg no sangue reportados para crianças no estado de Rondônia, e, por isso, é importante o estudo integrado desses níveis com outros parâmetros de saúde. Essa interação será discutida mais adiante.

5.3.6. Concentração de selênio no sangue

As concentrações de Selênio em crianças da RESEX de Cuniã e Belmont, não apresentaram uma distribuição normal e foi observada uma grande variabilidade nos níveis de Se tanto entre indivíduos de uma mesma comunidade como num quadro comparativo entre as duas comunidades em questão, fato já mencionado em outros estudos. Não foi observada nenhuma correlação entre os níveis de Se e a idade das crianças, diferentemente do reportado na literatura em crianças em países europeus, onde é mostrada uma associação positiva entre níveis de Se no sangue e a idade (Lombeck *et al.*, 1977; Van Caillie-Bertrand *et al.*, 1986). Esta não-dependência entre níveis de Se e idade já foi reportada em adultos por Lemier 2009, na região amazônica. O único estudo que apresenta dados de Se em crianças na Amazônia (Rocha et al 2014) foi realizado em indivíduos dentro de uma faixa etária de 3 a 9 anos, e a influência da idade na concentração de Se não foi estudada. No presente estudo, também não se encontrou diferença significativa nos níveis de Se entre sexo masculino e feminino em crianças, nas comunidades.

Observou-se uma diferença significativa entre os níveis de Se em ambas as comunidades (Figura 16), observando-se em Belmont níveis mais baixos. Na RESEX de Cuniã, os níveis de Se no período de transição (mediana: $149 \mu\text{g.L}^{-1}$) evidenciaram ser mais elevados que os níveis reportados para a seca de 2011 (mediana: $79 \mu\text{g L}^{-1}$) e seca de 2012 (mediana: $84 \mu\text{g L}^{-1}$), as secas não apresentaram entre elas diferença significativa nesta comunidade. Em Belmont, os dados também mostraram que houve uma diferença significativa entre Se no sangue do período de transição (mediana: $85 \mu\text{g L}^{-1}$), seca de 2011 (mediana: $52 \mu\text{g L}^{-1}$) e seca de 2012 (mediana: $59 \mu\text{g L}^{-1}$), acontecimento similar ao observado em Cuniã, embora, em Belmont, tenha se observado que as duas coletas da época seca também poderiam ser diferentes entre si ($p\text{-valor} = 0.054$), dependendo do nível de significância considerado, se o mesmo for menor que 95%.

Ao analisar os resultados dos níveis de Se no sangue em ambas as comunidades, considerando somente os daquelas crianças em que se fez mais de uma coleta de sangue (Teste de Wilcoxon), os resultados encontrados foram similares aos reportados para as comparações gerais das 3 coletas. Ou seja, os níveis das crianças foram significativamente mais altos na época de transição (maio 2011) em comparação às duas épocas de seca (Setembro 2011 e Julho 2012), e estas últimas não apresentaram diferença significativa entre si. Sendo assim, foi confirmada uma variação sazonal dos níveis de Se no sangue das crianças.



Sazonalidade: 1: transição (maio 2011); 2: seca 1 (Setembro 2011); 3: seca 2 (Julho 2012)

Foram tirados do gráficos dois outliers da etapa 1; em Belmont (776 µg L⁻¹); em Cuniã (452 µg L⁻¹).

Figura 16 – Concentração de Se no sangue das crianças estudadas na RESEX Cuniã e comunidade de Belmont em diferentes estações do ano.

Observou-se uma correlação positiva e estatisticamente significativa entre os níveis de Se e a frequência de ingestão de peixe (Coeficiente de Spearman: 0,344; p-valor < 0.0001). Estes resultados reforçam o que outros autores reportam sobre a importância do peixe como fonte de Se. Dorea et al (1988) reportou, em peixes do Rio Madeira, valores de Se que vão de 0.049 µg g⁻¹ a 0.245 µg g⁻¹, e que apresentaram uma correlação positiva e significativa com os níveis Hg nos peixes herbívoros. No presente estudo, também encontramos uma correlação positiva (Coeficiente de Spearman: 0,366, p-valor < 0,01) dos níveis de Se com Hg no sangue, o que provavelmente reforça a hipótese de o peixe ser fonte de exposição aos dois elementos. O mesmo fato também foi reportado em um estudo feito em crianças na Polônia (Osman *et al.*, 1998).

Além disso, também se observou uma correlação positiva entre os níveis de Se no sangue com a frequência na ingestão da castanha-do-pará (Coeficiente de Spearman: 0,256, p-valor < 0,01). Como já foi mostrado nos resultados do

inquérito nutricional, a frequência de consumo de castanha-do-pará é maior na comunidade de Cuniã, em comparação com Belmont.

Embora, a correlação da frequência de consumo de castanha com os níveis de Se fosse menor que a registrada para a frequência de consumo de peixe e Se, a maioria dos autores que têm estudado Se na Região Amazônica (Lemire *et al.*, 2010; Rocha *et al.*, 2014) reportaram a castanha-do-pará como a principal fonte deste elemento. Lemier e colaboradores, no estudo no Rio Tapajós em 2010, reportaram que a média das concentrações encontradas na castanha, na Amazônia, apresenta, pelo menos, uma ordem de grandeza acima da média de outros alimentos que também contêm Selênio, embora os níveis de Se na castanha sejam muito variáveis (0,4- 158,4 $\mu\text{g g}^{-1}$, e a média 27,7 $\mu\text{g g}^{-1}$).

Como a frequência de consumo de peixe e castanha apresentou uma diferença significativa entre Belmont e Cuniã, registrando-se a frequência de ingestão para ambos os alimentos mais elevada em Cuniã, conforme apresentado na Tabela 15, compreende-se que os níveis de Se sejam mais elevados na RESEX. No presente estudo, não foi encontrada nenhuma outra correlação significativa entre os níveis de Se e a frequência de ingestão de outros elementos ali consumidos.

Por outro lado, como foi mencionado, evidenciou-se, em crianças, uma variação sazonal de Se no sangue, diferentemente do reportado por Lemier e colaboradores em 2008, que não observaram variação sazonal de Se na matriz sangue, num estudo realizado em adultos de algumas comunidades do Rio Tapajós. Lemier, porém, observou variação sazonal nos níveis de Se no cabelo, que foi analisado por segmentos de 1 cm, para estudo de série temporal. Os autores concluíram que o sangue não mostrou ser um biomarcador sensível a mudanças sazonais do Se em adultos. Esses resultados são contrários aos resultados do presente trabalho, o que poderia ser devido a que existem diferenças entre adultos e crianças, como o fato de as crianças terem taxas metabólicas mais elevadas, crescimento acelerado, maior taxa de absorção de nutrientes, entre outras (Pronczuk e Garbino, 2005). Tais diferenças devem ser consideradas quando se faz esse tipo de avaliações, visto poderem explicar a discrepância de resultados entre os dois estudos sobre a sensibilidade da matriz sangue como biomarcador de exposição sazonal, que só foi observada no sangue das crianças

das duas comunidades estudadas e não foi evidenciada no grupo de adultos estudados por Lemier, no Pará.

Por outro lado, um resultado, observado no estudo de Lemier e também neste estudo, foi que os níveis mais baixos de Se foram registrados na estação seca, o que poderia ser explicado pelo fato de que a época da coleta da castanha-do-pará ocorre na estação chuvosa, que vai de dezembro a abril (Lemire *et al.*, 2008). Consequentemente, durante esse período, o consumo da castanha é mais elevado, em comparação com a seca, embora, nas entrevistas realizadas neste estudo, os pais das crianças declarem que durante a época da coleta da castanha também se costume armazenar a mesma para posterior consumo. No entanto, a frequência de ingestão deve ser menor na época seca, em comparação com a época de chuva, onde a disponibilidade da castanha é maior, o que poderia explicar a diminuição dos níveis de Se observados na estação seca. Ainda que, no presente estudo, a coleta de sangue não tenha sido feita no período de chuva, e sim no período de transição (maio 2011), os níveis de Se encontrados neste período foram significativamente mais elevados, em comparação com os dois períodos de seca amostrados. Tais resultados confirmam o reportado por outros autores que estudaram a exposição ao Se, e que colocam a castanha-do-pará como a principal fonte de exposição ao Se, na Amazônia brasileira, o que explica o fato de que a variação sazonal esteja em concordância com a época de coleta da castanha. Embora a correlação encontrada no presente estudo, entre a frequência de consumo da castanha e os níveis de Se tenha sido significativa, foi relativamente baixa (Coeficiente de Spearman: 0,256), é importante tomar em consideração, que o inquérito nutricional de frequência semanal, usado para avaliação da dieta e frequência de consumo, depende da memória do entrevistado, o que pode ser pouco confiável, e apresentar um erro metodológico difícil de contornar. Mesmo assim, o inquérito domiciliar é a metodologia usada para levantar esse tipo de informações. Pelo anteriormente mencionado, é também difícil abordar a parte de variação sazonal de consumo somente através do questionário. Por isto é importante a avaliação de biomarcadores que reflitam essa variação, como foi o caso da matriz sangue, que é um marcador de exposição relativamente recente e por essa razão é útil para o estudo de variações sazonais, embora apresente a desvantagem da coleta ter que ser repetida várias vezes, pelo menos uma em cada estação, para o monitoramento da sazonalidade. Além disto, é também um

marcador que pode dar informação sobre estados de saúde geral, através da avaliação do hemograma, parâmetros bioquímicos, entre outros, e, desta forma, ser possível fazer uma avaliação de saúde integrada à avaliação de exposição ao mercúrio e ao selênio.

As diferenças entre as concentrações de Se e Hg entre ambas as comunidades pode ser explicada pelos hábitos alimentares de cada uma delas. A ingestão de peixe, como já foi mostrada anteriormente, é menor em Belmont, e observa-se o mesmo comportamento na frequência da ingestão de castanha-do-pará, que também é mais baixa em Belmont, ao comparar com Cuniã (Tabela 15). Essa mesma tendência foi apresentada por Rocha et al 2014, que reportou que os níveis de Se no plasma de crianças, no município de Porto Velho, são maiores nas comunidades mais isoladas, com menos contato com centros urbanos e, por isso mesmo, sua dieta depende quase exclusivamente de plantas e animais nativos, como por exemplo, castanha-do-pará, peixe, e outros animais criados pela comunidade, como é o caso da RESEX Cuniã, fato que também deve favorecer os níveis mais elevados de Se. Reforça-se aqui o reportado no trabalho de Lemier et al 2010, que avaliou os níveis de Se de diferentes componentes da dieta de comunidades ribeirinhas no rio Tapajós, e verificou que os produtos (plantas, ovos, frango, entre outros) produzidos dentro da comunidade apresentavam níveis de Se mais altos, em comparação com o mesmo tipo de produtos provenientes do supermercado.

Apesar de o Selênio ser um elemento essencial, não existem valores de referência para o mesmo no sangue total para crianças na Amazônia. Os estudos que reportam níveis no sangue nesta região foram realizados em adultos, no estado do Pará (tabela 18). Existe somente um estudo em crianças, realizado em Rondônia, mas foram reportados no plasma e nos eritrócitos em separado, e não no sangue total, o que dificulta a comparação dos valores com o presente estudo, cujos resultados são de sangue total. Embora Rocha 2014 usasse matriz diferente, também foi observada uma diferença entre as comunidades estudadas associada à dieta das mesmas – concentrações mais elevadas de selênio na população que apresentava maior frequência na ingestão de castanha e que estava localizada mais afastada do centro urbano, dado também constatado no presente estudo (Tabela 18).

Tabela 18 Concentrações de Selênio reportados pela literatura na Amazônia Brasileira (sangue, plasma e eritrócitos).

Matriz	Selênio (µg/L)	N	Localidade	Idade	Autor
Sangue	284,3 (142,1-209,3)	236	Rio Tapajós	15-89	Lemier et al 2006
Sangue	seca:284 cheia:292	112	Rio Tapajós	15-89	Lemier et al 2009
Sangue	222 (124-1500)	443	Rio Tapajós	40-87	Lemier et al 2010
Plasma	41,9 ± 18,7 (16,1-84,4)	31	Demarcação, Porto Velho	5,5± 1,6	Rocha, et al 2014
Plasma	189,1 ± (96,3-278,5)	11	Gleba do Rio Preto, Porto Velho	6,0 ± 2,1	Rocha, et al 2014
Eritrócitos	97,6 ± 26,3 (58,8-165,4)	31	Demarcação, Porto Velho	5,5 ± 1,6	Rocha, et al 2014
Eritrócitos	235,0 ± 105,6 (117,4-474,4)	11	Gleba do Rio Preto, Porto Velho	6,0 ± 2,1	Rocha, et al 2014
Sangue	T: 102,4 ± 89,9; 85 (46-766)	70	Belmont	2-16	Este estudo
	S1: 58,6 ±34,6; 53 (29- 286)	62			
	S2: 58,5 ± 14,2; 59 (30-106)	41			
	T:163 ± 80,4; 149(51-482)	37	RESEX Cuniã		
Sangue	S1: 89,6 ± 39,3; 79(29-230)	69		2-16	Este estudo
	S2: 94,2 ± 34,1; 84 (42- 167)	51			

Média ± Desvio Padrão; mediana (min-max).

T: transição (Maio 2011); S1: seca1 Setembro 2011; seca 2 (Agosto 2012);

Os resultados encontrados nas crianças de Belmont e Cuniã encontram-se abaixo dos níveis reportados por Lemier e colaboradores nos 3 estudos no Rio Tapajós, o que se deve provavelmente a estes estudos reportarem níveis em adultos, os quais podem apresentar níveis mais elevados em comparação às crianças (Rükgauer *et al.*, 1997). Adicionalmente, os estudos foram realizados na Amazônia Central, que é uma área onde os níveis de selênio na castanha tendem a ser mais altos, em comparação com o leste Amazônico (Chang *et al.*, 1995). Tal fato pode estar relacionado à diferença nos padrões de distribuição das concentrações de Se no solo da Região Amazônica. Essa tendência é também

observada nas concentrações deste elemento no peixe, visto que os níveis reportados para peixes no Rio Madeira (Dorea *et al.*, 1998) foram menores se comparados com os reportados em um reservatório na cachoeira de Piraí, no estado do Pará (Lima *et al.*, 2005).

O recomendado para a comparação de valores de referência de Se é que esta seja feita com valores da mesma área geográfica (Thomson, 2004), devido à variação na distribuição geográfica dos níveis deste elemento, fato comprovado dentro da região da Amazônia brasileira. Porém, como mencionado anteriormente, não foram encontrados estudos que reportem valores de Se no sangue para crianças nesta região. Por isso, apresentamos, na Tabela 19, valores de Se reportados na literatura para crianças saudáveis em outros países. Observe-se que os valores de Cuniã, na época de transição, são similares aos mais altos reportados na literatura, os quais correspondem a grupo estudado na Suécia e na África do Sul (Bárány *et al.*, 2002; Bazzi *et al.*, 2008). Já Belmont apresentou, nesta estação, valores menores, similares aos reportados na Polônia e República Tcheca (Osman *et al.*, 1998; Benes *et al.*, 2000). Na época de seca, porém, Belmont apresentou valores mais baixos, em comparação com os reportados em outros países, embora seja importante mencionar que esses são estudos transversais. Não se tem a certeza de que esses níveis de Se reportados pudessem sofrer uma variação sazonal e, conseqüentemente, atingir valores mais baixos, como é o caso da Região Amazônica.

Tabela 19 – Concentrações de Selênio no sangue reportado pela literatura em crianças em outras partes do mundo além da Amazônia

País	Selênio (µg/L)	N	Idade média	Autor
Polônia	72 (50-110)	140	8-9 anos	Osman et al, 1994
Polônia	87 (55- 284)	157	8 anos	Osman et al, 1998
República Tcheca	69	798	10 anos	Benés et al, 2000
Suécia, 1997	120 ± 20	131	15 anos	Barany, 2002
África do Sul, 1995	176	49	Criança de escola	Bazzil et al 2008

Média ± desvio padrão, média (mínimo-máximo)

Como já foi mencionado, os relatos do inquérito de saúde infantil, os parâmetros hematológicos e antropométricos não apresentaram resultados que indicassem uma diferença significativa no estado geral de saúde das crianças de ambas as comunidades. Por isto, os valores apresentados para as duas comunidades podem ser considerados como valores de referência para esta região, onde não têm sido reportados sintomas de deficiência de selênio nem intoxicação por este não metal.

Quanto às variações sazonais, é importante considerar que, na época seca, é observada, além de valores mais baixos no nível de Se, uma tendência a níveis mais elevados de Hg, como ocorreu na seca de 2011, em Cuniã. Essas condições poderiam aumentar o risco de intoxicação da população nesta estação, e, no caso de estudos futuros para avaliação da saúde, a seca deverá ser a estação mais apropriada para a realização das avaliações de risco.

Associação entre as variáveis

Observou-se uma correlação positiva e significativa (tabela 20), entre os níveis de Hg no cabelo e Hg no sangue das crianças. O mercúrio no cabelo representa a carga do elemento no indivíduo, pelo que se espera que os indivíduos mais expostos, que apresentam os níveis mais altos no sangue, apresentem também níveis mais altos no cabelo (Who, 1990). Do mesmo modo, foi

encontrada uma correlação positiva entre os níveis de Hg no cabelo e os níveis de Se no sangue (Coeficiente de Spearman: 0,375, p-valor<0,01). Essa correlação positiva poderia indicar que o consumo de castanha e, conseqüentemente Se, é um fator que favorece a eliminação de Hg (Hg no cabelo). O que também é apontado ao encontrar uma correlação positiva entre os níveis de Hg no cabelo e frequência de consumo de castanha-do-pará (Coeficiente de Spearman: 0,411, p-valor <0,001), o que indica que as pessoas que consomem com maior frequência a castanha apresentam maiores níveis de Hg no cabelo. Essa hipótese já foi levantada por outros autores na literatura e Ling e colaboradores (2012) comprovaram que a suplementação de Se, ajuda a excreção de Hg, o que está de acordo com os resultados encontrados neste estudo.

Foram feitas análises de correlação entre os biomarcadores de Hg avaliados, e o Se, parâmetros hematológicos e pressão arterial. Na tabela 20, são apresentados os coeficientes de Spearman que apresentaram significância estatística.

Tabela 20 – Correlações significativas encontradas entre as concentrações de Hg em cabelo e sangue com Selênio, parâmetros sanguíneos, PAS e PAD.

Parâmetro	Hg-sangue	Hg-cabelo
Hg-sangue	1	0,561**
Hg-cabelo	0,561**	1
Se-sangue	0,231**	0,378**
PAS	-0,136*	0,139**
PAD	-0,171**	-0,164**
Ferritina	-0,200**	-0,188**
Eosinófilos	0,298**	0,322**

** p-valor<0,001 *p-valor<0,05

Observou-se uma correlação negativa entre os níveis de ferritina e os níveis de Hg, no sangue e cabelo. Tal constatação está em concordância com o encontrado em outro estudo na Polônia (Osman *et al.*, 1998), que menciona que os níveis de ferro podem interferir com a absorção de outros elementos e que, por isso, níveis mais elevados do mesmo poderiam diminuir a absorção de outros metais, o que foi já comprovado no caso da exposição a cádmio (Bárány *et al.*,

2005). Portanto, é importante considerar os níveis de ferro nos estudos de avaliação de exposição ambiental, principalmente no caso do mercúrio.

Na avaliação da exposição de Hg associada a parâmetros hematológicos, observou-se uma correlação positiva significativa entre a contagem de eosinófilos e níveis de Hg no sangue e no cabelo. Seria interessante que fosse considerada e estudada mais cuidadosamente, para verificar se de fato existe alguma relação entre a presença de Hg e o aumento da resposta imunológica dessas células.

Evidenciou-se uma correlação negativa significativa, porém baixa, entre os níveis de Hg tanto no cabelo como no sangue e a pressão arterial sistólica e diastólica nas crianças. Este resultado poderia ser explicado pelo fato, já reportado na literatura, de o peixe ser a principal fonte de Hg em comunidades ribeirinhas (Boischio e Barbosa, 1993; Barbosa *et al.*, 1997; Boischio e Henshel, 2000; Dórea *et al.*, 2005; Hacon *et al.*, 2008), e, ao mesmo tempo, também representar fonte de outros elementos benéficos para o organismo, entre eles o Se, ácidos graxos poliinsaturados, colina, entre outros (Clarkson e Strain, 2003; Berry e Ralston, 2008; Boucher *et al.*, 2011). Pelo fato de maiores níveis de Hg representarem também maior ingestão de peixe, na pressão arterial, isto poderia apontar um efeito protetor, pela presença no peixe dos outros elementos antes mencionados e que deveriam ser considerados na hora de uma avaliação de risco na exposição ao Hg. Embora os resultados de um estudo que compara o perfil proteômico em crianças expostas a Hg e Pb sugiram que exposição ao Hg pode aumentar o risco de doença cardiovascular em crianças (Birdsall *et al.*, 2010), dependendo dos níveis do Hg presentes no peixe consumido, a ingestão frequente de peixe não representa um risco para a saúde humana. É por isto que o monitoramento dos níveis de Hg tanto nos peixes como nas comunidades ribeirinhas, após a instalação do complexo hidroelétrico no Rio Madeira é importante, para garantir que o aumento dos níveis de Hg, que geralmente ocorrem após a instalação deste tipo de empreendimento, não represente um risco à saúde tanto humana como do ecossistema.

No presente trabalho, observou-se que ambas as populações de crianças estudadas, mesmo apresentando níveis de Hg e Se significativamente diferentes, decorrentes das diferenças nos hábitos alimentares, não apresentam diferenças significativas entre as condições de saúde, as quais foram avaliadas através do estudo de parâmetros antropométricos, hematológicos, mensuração da pressão

arterial e da percepção de saúde avaliada no módulo de saúde do inquérito domiciliar respondido pelos pais. As diferenças na dieta, porém, podem ser explicadas pelo estilo de vida, que depende em grande parte da localização da comunidade e do grau de isolamento das áreas urbanas, condições que podem ser alteradas após o estabelecimento de grandes empreendimentos que visam ao desenvolvimento econômico da região.

Pelo anterior, o levantamento das condições das populações localizadas nos arredores do complexo Hidroelétrica do Rio Madeira, é importante para saber o impacto que este tipo de empreendimento terá, após o seu estabelecimento, na saúde das comunidades ribeirinhas.

6 Conclusões

O uso de técnicas de análises multielementares, como ICP-MS, representa uma boa opção para programas de monitoramento ambiental, onde a avaliação simultânea de vários elementos é necessária.

Embora o selênio seja um elemento de difícil análise através da técnica do ICP-MS, por ter alto potencial de ionização e apresentar interferências poliatômicas no isótopo mais abundante, adaptações de técnica, como a adição de solvente orgânico (butanol) e uso da célula de colisão, permitem a determinação dos níveis de Se em matrizes biológicas utilizando o ICP-MS.

As concentrações de Hg no cabelo, de $5,8 \mu\text{g g}^{-1}$ (mediana) para os indivíduos residentes a RESEX Cuniã e $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$ para os habitantes da comunidade de Belmont, representam valores “baseline” de exposição ao mercúrio, na etapa de formação do reservatório, durante a fase de construção da hidrelétrica. A diferença entre os níveis de Hg de ambas as comunidades foi significativa e pode ser explicada pela diferença na espécie e quantidade de peixe consumido.

As concentrações de Hg em cabelo mais elevadas reportadas para a RESEX Cuniã representam níveis de exposição ao Hg de uma população com alto consumo de peixe, o que é comum nas comunidades ribeirinhas isoladas na Região Amazônica. Por isso, o monitoramento deste tipo de populações, e principalmente das crianças, sendo este um grupo vulnerável, deve ser considerado para o melhor entendimento do risco à saúde que esta exposição crônica possa representar.

Os níveis de Se e Hg no sangue de crianças na RESEX Cuniã são significativamente mais altas em comparação com a comunidade de Belmont. Ambos os elementos apresentam variação sazonal, sendo Se mais elevado durante

a época de cheia, ao contrário do Hg, que apresenta valores mais baixos nesta estação.

A variação sazonal encontrada na exposição ao Hg e Se nas crianças estudadas, durante a etapa de construção da planta hidrelétrica, evidenciou o período de seca como a estação onde o risco de exposição ao Hg é potencialmente mais elevado. Os níveis de Hg reportados são mais elevados, nesta estação e, os níveis de Se, elemento que parece influenciar a tóxico-cinética do Hg, apresentarem-se mais baixos. É importante considerar-se tal dinâmica na criação do cenário na avaliação de Risco.

Observaram-se diferenças significativas no tipo de dieta das duas comunidades, o qual foi avaliado por meio do módulo de nutrição no inquérito domiciliar. Essas diferenças referem-se, principalmente, à frequência de consumo de peixe e castanha-do-pará, indubitavelmente maior em Cuniã.

O Selênio pode favorecer a eliminação do mercúrio em crianças, o que foi indicado pela correlação positiva encontrada entre as concentrações de Se no sangue e concentrações de Hg no cabelo, reflexo do Hg sendo eliminado do organismo. Essa hipótese é fortalecida também pela forte correlação entre o Hg-cabelo e o consumo da castanha-do-pará pelos habitantes, principal fonte de Se.

Na etapa da construção da planta hidrelétrica no Rio Madeira, não foi encontrada diferença, estatisticamente significativa, entre as comunidades de Belmont e RESEX Cuniã, com relação às condições de saúde avaliadas através do inquérito domiciliar, exames hematológicos, avaliação neurológica, parâmetros antropométricos e mensuração da pressão arterial; variáveis através das quais podem ser avaliados efeitos clínicos observáveis. No entanto é importante a avaliação de efeitos subclínicos, através do desenvolvimento de testes neurológicos e técnicas mais sensíveis, como é o caso de avaliação do perfil proteômico.

Embora tenha sido constatada uma diferença significativa na exposição ao mercúrio entre ambas as comunidades, não foi encontrada diferença nas condições

de saúde avaliadas através dos parâmetros hematológicos, antropométricos, de pressão arterial e exame físico-neurológico, que apresentaram resultados que estão dentro dos valores de referência de crianças saudáveis. Os resultados obtidos através da avaliação dos parâmetros anteriores e dos questionários de saúde infantil respondidos pelos pais e/ou responsáveis evidenciam que não existe sintomatologia de efeitos clínicos observáveis da intoxicação do mercúrio nas crianças da RESEX Cuniã e da Comunidade de Belmont, similares a Minamata, durante a etapa de construção da hidrelétrica do Rio Madeira.

No presente estudo, apresentam-se as condições de saúde dos participantes como uma informação *baseline* para comparações futuras de monitoramento e vigilância dos padrões de exposição ao Hg, após o estabelecimento da usina hidrelétrica, gerando dados e informações para medir o impacto na saúde de populações ribeirinhas em áreas de projetos de hidrelétricas. Estas informações são importantes para os programas de vigilância em saúde infantil do Ministério da Saúde, sendo as crianças um grupo vulnerável na exposição ao Hg, principalmente sob a forma de metilmercúrio, resultante da ingestão de peixe.

7 Recomendações

Na análise de Se e Hg na matriz sangue, é recomendável, estudar a análise simultânea de outros elementos, tanto tóxicos (Pb e Cd) como essenciais (Zn e Cu), para avaliar outras possíveis interações.

Recomendamos fazer mais testes com a metodologia de ICP-MS-DRC e determinação de Se⁸⁰, no material de referência e amostras reais, para avaliar se a técnica de adição de analito, nesta metodologia, é realmente necessária.

Na metodologia de determinação de Se em sangue por ICP-MS é recomendável testar a adição de uma substância orgânica, como é o caso do butanol. Com a adição de este poder-se-ia observar uma melhora no sinal de Se no sangue e o mesmo possibilitaria ainda a utilização de Se⁸², como foi observado na análise de cabelo.

Recomenda-se a otimização de outras matrizes, tais como peixe e outros alimentos com uma frequência elevada de consumo, para o análise simultânea de Se e Hg por técnicas multielementares (ICP-MS ou ICP-OES).

Para a avaliação de exposição ao Hg, é importante considerar a exposição ao Se a partir da determinação do mesmo em outras matrizes tais como cabelo (marcador de exposição). É importante também considerar na avaliação de risco ao Hg, a exposição ao Se, através da análise simultânea de ambos os elementos em alimentos com frequência elevada de consumo, para avaliar a interação dos dois.

Implementação de novas técnicas para o estudo dos efeitos subclínico da exposição de Hg (perfil proteico) e testes neurológicos mais sensíveis.

Incluir a avaliação visual entre os efeitos da exposição ao mercúrio, devido a que foi reportado pelos professores possíveis dificuldades de visão entre as crianças na escola.

Devido a que a variação sazonal foi evidenciada nas concentrações de Hg e Se, é importante implementar um meio de avaliar também essa variação de consumo entre as duas estações, através da metodologia do inquérito alimentar.

8 Referências

ALAN, S. et al. Do recent data from the Seychelles Islands alter the conclusions of the NRC Report on the toxicological effects of methylmercury? , 2004.

ARAI, T. et al. Chemical forms of mercury and cadmium accumulated in marine mammals and seabirds as determined by XAFS analysis. **Environmental science & technology**, v. 38, n. 24, p. 6468-6474, Dec 15 2004. ISSN 0013-936X.

ATSDR, U. Toxicological profile for mercury. **Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, US Department of Health and Human Services**, 1999.

AUGER, N. et al. Low-level methylmercury exposure as a risk factor for neurologic abnormalities in adults. **Neurotoxicology**, v. 26, n. 2, p. 149-157, Mar 2005. ISSN 0161-813X. >.

BAKIR, F. et al. Methylmercury poisoning in Iraq. **Science**, v. 181, n. 96, p. 230-241, 1973. ISSN 0036-8075.

BÁRÁNY, E. et al. Iron status influences trace element levels in human blood and serum. **Environmental Research**, v. 98, n. 2, p. 215-223, 2005. ISSN 0013-9351.

BÁRÁNY, E. et al. Trace elements in blood and serum of Swedish adolescents: relation to gender, age, residential area, and socioeconomic status. **Environmental research**, v. 89, n. 1, p. 72-84, 2002. ISSN 0013-9351.

BARBIERI, F. L.; GARDON, J. International Journal of Health Geographics. **International journal of health geographics**, v. 8, p. 71, 2009.

BARBOSA, A. C.; GARCIA, A. M.; DE SOUZA, J. R. Mercury contamination in hair of riverine populations of Apiacas Reserve in the Brazilian Amazon. **Water, air, and soil pollution**, v. 97, n. 1-2, p. 1-8, Jun 1997. ISSN 0049-6979.
BASTOS, W. R. RELATÓRIO TRIMESTRAL DO PROJETO AVALIAÇÃO DE RISCO E ANÁLISE DO PERFIL DE SAÚDE DAS COMUNIDADES

POTENCIALMENTE EXPOSTAS AO MERCÚRIO NO RIO MADEIRA-UHE SANTO ANTÔNIO UNIR/RIOMAR/SAESA. 2010.

BASTOS, W. R. et al. Mercury in the environment and riverside population in the Madeira River Basin, Amazon, Brazil. **Science of the Total environment**, v. 368, n. 1, p. 344-351, 2006. ISSN 0048-9697.

BATISTA, B. L. et al. A fast ultrasound-assisted extraction procedure for trace elements determination in hair samples by ICP-MS for forensic analysis. **Forensic science international**, v. 192, n. 1, p. 88-93, 2009. ISSN 0379-0738.

BAZZI, A.; NRIAGU, J. O.; LINDER, A. M. Determination of toxic and essential elements in children's blood with inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 10, n. 10, p. 1226-1232, 2008.

BENES, B. et al. The concentration levels of Cd, Pb, Hg, Cu, Zn and Se in blood of the population in the Czech Republic. **Central European journal of public health**, v. 8, n. 2, p. 117-119, 2000. ISSN 1210-7778.

BERGLUND, M. et al. Inter-individual variations of human mercury exposure biomarkers: a cross-sectional assessment. **Environmental Health**, v. 4, n. 1, p. 20, 2005. ISSN 1476-069X.

BERRY, M. J.; RALSTON, N. V. Mercury toxicity and the mitigating role of selenium. **EcoHealth**, v. 5, n. 4, p. 456-459, Dec 2008. ISSN 1612-9202.

BERZAS NEVADO, J. et al. Mercury in the Tapajós River basin, Brazilian Amazon: a review. **Environment international**, v. 36, n. 6, p. 593-608, Aug 2010. ISSN 0160-4120.

BIRDSALL, R. E. et al. Effects of lead and mercury on the blood proteome of children. **Journal of proteome research**, v. 9, n. 9, p. 4443-4453, Sep 3 2010. ISSN 1535-3893.

BJÖRN, E. et al. Investigation and quantification of spectroscopic interferences from polyatomic species in inductively coupled plasma mass spectrometry using electrothermal vaporization or pneumatic nebulization for sample introduction. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 53, n. 13, p. 1765-1776, 1998. ISSN 0584-8547.

BOISCHIO, A. A. P.; BARBOSA, A. Exposição ao mercúrio orgânico em populações ribeirinhas do Alto Madeira, Rondônia, 1991: resultados preliminares. **Cad Saúde Pública**, v. 9, p. 155-60, 1993.

BOISCHIO, A. A. P.; CERNICHIARI, E. Longitudinal hair mercury concentration in riverside mothers along the upper Madeira river (Brazil). **Environmental Research**, v. 77, n. 2, p. 79-83, May 1998. ISSN 0013-9351.

BOISCHIO, A. A. P.; HENSHEL, D. Fish consumption, fish lore, and mercury pollution—risk communication for the Madeira River people. **Environmental Research**, v. 84, n. 2, p. 108-126, Oct 2000. ISSN 0013-9351.

BOUCHER, O. et al. Neurophysiologic and neurobehavioral evidence of beneficial effects of prenatal omega-3 fatty acid intake on memory function at school age. **The American journal of clinical nutrition**, v. 93, n. 5, p. 1025-1037, 2011. ISSN 0002-9165.

BOUDOU, A. et al. Synergic effect of gold mining and damming on mercury contamination in fish. **Environmental science & technology**, v. 39, n. 8, p. 2448-2454, 2005. ISSN 0013-936X.

BROWN, K.; ARTHUR, J. Selenium, selenoproteins and human health: a review. **Public health nutrition**, v. 4, n. 2b, p. 593-599, 2001. ISSN 1475-2727.

CAMPOS, R. C. D. **Estudo da determinação de Mercúrio por espectrofotométrica de absorção atômica sem chama pela técnica de vapor frio**. 1980. 73 Dissertação de Maestrado (Mestre). Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, PUC-Rio.

CARNEIRO, M. et al. Intervalos de referência para elementos menores e traço em cabelo humano para a população da cidade do Rio de Janeiro-Brasil. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 37-45, 2002. ISSN 0100-4042.

CHANG, J. C. et al. Selenium content of Brazil nuts from two geographic locations in Brazil. **Chemosphere**, v. 30, n. 4, p. 801-802, Feb 1995. ISSN 0045-6535.

CHANG, L. W.; SUBER, R. Protective effect of selenium on methylmercury toxicity: a possible mechanism. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 29, n. 3, p. 285-289, Sep 1982. ISSN 0007-4861.

CHEN, C. et al. The roles of serum selenium and selenoproteins on mercury toxicity in environmental and occupational exposure. **Environmental health perspectives**, v. 114, n. 2, p. 297-301, Feb 2006. ISSN 0091-6765.

CHOI, A. L. et al. Selenium as a potential protective factor against mercury developmental neurotoxicity. **Environmental research**, v. 107, n. 1, p. 45-52, May 2008. ISSN 0013-9351.

CHUNHIENG, T. et al. Study of selenium distribution in the protein fractions of the Brazil nut, *Bertholletia excelsa*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 13, p. 4318-4322, Jun 30 2004. ISSN 0021-8561.

CLARKSON, T. W.; MAGOS, L. The toxicology of mercury and its chemical compounds. **CRC Critical Reviews in Toxicology**, v. 36, n. 8, p. 609-662, 2006. ISSN 1040-8444.

CLARKSON, T. W.; STRAIN, J. Nutritional factors may modify the toxic action of methyl mercury in fish-eating populations. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 5, p. 1539S-1543S, 2003. ISSN 0022-3166.

CORDIER, S. et al. Neurodevelopmental investigations among methylmercury-exposed children in French Guiana. **Environmental research**, v. 89, n. 1, p. 1-11, 2002. ISSN 0013-9351.

COUNTER, S. A.; BUCHANAN, L. H. Mercury exposure in children: a review. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 198, n. 2, p. 209-230, Jul 15 2004. ISSN 0041-008X.

CRESPO-LÓPEZA, M. et al. Mercurio y neurotoxicidad. **Rev Neurol**, v. 40, n. 7, p. 441-447, 2005.

CRUMP, K. S. et al. Influence of prenatal mercury exposure upon scholastic and psychological test performance: benchmark analysis of a New Zealand cohort. **Risk Analysis**, v. 18, n. 6, p. 701-713, Dec 1998. ISSN 0272-4332.

DANG, F.; WANG, W.-X. Antagonistic interaction of mercury and selenium in a marine fish is dependent on their chemical species. **Environmental science & technology**, v. 45, n. 7, p. 3116-3122, Apr 1 2011. ISSN 0013-936X.

DAVIDSON, P. W.; MYERS, G. J.; WEISS, B. Mercury exposure and child development outcomes. **Pediatrics**, v. 113, n. Supplement 3, p. 1023-1029, Apr 2004. ISSN 0031-4005.

DE ARAÚJO, T. L. et al. Análise de indicadores de risco para hipertensão arterial em crianças e adolescentes. **REVISTA-ESCOLA DE ENFERMAGEM UNIVERSIDADE DE SAO PAULO**, v. 42, n. 1, p. 120, 2008. ISSN 0080-6234.

DE FREITAS FONSECA, M. et al. Iron status as a covariate in methylmercury-associated neurotoxicity risk. **Chemosphere**, v. 100, p. 89-96, 2014. ISSN 0045-6535.

DE LACERDA, L. D. et al. Mercury contamination in the Madeira River, Amazon-Hg inputs to the environment. **Biotropica**, p. 91-93, 1989. ISSN 0006-3606.

DE OLIVEIRA, S. E. et al. Mercury exposures in riverside Amazon communities in Para, Brazil. **Environmental Research**, v. 84, n. 2, p. 100-107, 2000. ISSN 0013-9351.

DOLBEC, J. et al. Sequential analysis of hair mercury levels in relation to fish diet of an Amazonian population, Brazil. **Science of the total environment**, v. 271, n. 1, p. 87-97, Apr 23 2001. ISSN 0048-9697.

DOLBEC, J. et al. Methylmercury exposure affects motor performance of a riverine population of the Tapajos river, Brazilian Amazon. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 73, n. 3, p. 195-203, Apr 2000. ISSN 0340-0131.

DOREA, J. G. Fish are central in the diet of Amazonian riparians: should we worry about their mercury concentrations? **Environmental Research**, v. 92, n. 3, p. 232-244, 2003. ISSN 0013-9351.

DÓREA, J. G. et al. Fish consumption (Hair Mercury) and nutritional status of Amazonian Amer-Indian Children. **American Journal of human biology**, v. 17, n. 4, p. 507-514, Jul-Aug 2005. ISSN 1520-6300..

DOREA, J. G. et al. Selenium and mercury concentrations in some fish species of the Madeira River, Amazon Basin, Brazil. **Biological trace element research**, v. 65, n. 3, p. 211-220, Dec 1998. ISSN 0163-4984.

DUTRA, M. D. S. et al. Longitudinal assessment of mercury exposure in schoolchildren in an urban area of the Brazilian Amazon. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 28, n. 8, p. 1539-1545, Aug 2012. ISSN 0102-311X.

EL-DEMERDASH, F. Effects of selenium and mercury on the enzymatic activities and lipid peroxidation in brain, liver, and blood of rats. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 36, n. 4, p. 489-499, Jul 2001. ISSN 0360-1234.

FARIAS, L. A. et al. Mercury and methylmercury concentration assessment in children's hair from Manaus, Amazonas state, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 42, n. 2, p. 279-286, 2012. ISSN 0044-5967.

FEDERAL ENVIRONMENTAL AGENCY. Environmental Health Risk: Action Programme Environment and Health, 2004. Germany. http://www.apug.de/archiv/pdf/brochure_children_suscept.pdf, Accesado: 18/05/15

FILLION, M. et al. A preliminary study of mercury exposure and blood pressure in the Brazilian Amazon. **Environmental Health**, v. 5, n. 1, p. 29, 2006. ISSN 1476-069X.

FONSECA, M. D. F. et al. Poor psychometric scores of children living in isolated riverine and agrarian communities and fish–methylmercury exposure. **Neurotoxicology**, v. 29, n. 6, p. 1008-1015, 2008. ISSN 0161-813X.

GANTHER, H. et al. Selenium: relation to decreased toxicity of methylmercury added to diets containing tuna. **Science,(Wash.)**. v. 175, n. 4026, p. 1122-1124, Mar 10 1972. ISSN 0036-8075 (Print)

GIBB, H.; O'LEARY, K. G. Mercury Exposure and Health Impacts among Individuals in the Artisanal and Small-Scale Gold Mining Community: A Comprehensive Review. **Environ Health Perspect**, 2014.

GINÉ-ROSIAS, M. F. G. **Espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS)**. CENA, 1999.

GOULLÉ, J.-P. et al. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair: Reference values. **Forensic Science International**, v. 153, n. 1, p. 39-44, Oct 4 2005. ISSN 0379-0738.

GRANDJEAN, P. et al. Cognitive performance of children prenatally exposed to “safe” levels of methylmercury. **Environmental research**, v. 77, n. 2, p. 165-172, May 1998. ISSN 0013-9351.

GRANDJEAN, P. et al. Methylmercury neurotoxicity in Amazonian children downstream from gold mining. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, n. 7, p. 587, Jul 1999. ISSN 0091-6765 (Print)

GRANDJEAN, P. et al. Impact of contrast sensitivity performance on visually presented neurobehavioral tests in mercury-exposed children. **Neurotoxicology and teratology**, v. 23, n. 2, p. 141-146, Mar-Apr 2001. ISSN 0892-0362.

HACON, S. et al. An overview of mercury contamination research in the Amazon basin with an emphasis on Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 7, p. 1479-1492, 2008. ISSN 0102-311X.

HACON, S. S. et al. The Influence of Changes in Lifestyle and Mercury Exposure in Riverine Populations of the Madeira River (Amazon Basin) near a Hydroelectric Project. **International journal of environmental research and public health**, v. 11, n. 3, p. 2437-2455, 2014.

HARADA, M. Minamata disease: methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution. **CRC Critical Reviews in Toxicology**, v. 25, n. 1, p. 1-24, 1995. ISSN 1040-8444.

HATTENDORF, B.; GÜNTHER, D. Strategies for method development for an inductively coupled plasma mass spectrometer with bandpass reaction cell. Approaches with different reaction gases for the determination of selenium. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 58, n. 1, p. 1-13, 2003. ISSN 0584-8547.

HOLMES, P.; JAMES, K.; LEVY, L. Is low-level environmental mercury exposure of concern to human health? **Science of the total environment**, v. 408, n. 2, p. 171-182, 2009. ISSN 0048-9697.

HYLANDER, L. D. et al. Fish mercury increase in Lago Manso, a new hydroelectric reservoir in tropical Brazil. **Journal of environmental management**, v. 81, n. 2, p. 155-166, Oct 2006. ISSN 0301-4797.

ICMBio, Ministerio de Meio Ambiente, Diagnostico da Reserva Extrativista do Lago de Cuniã, versão não finalizada. **Gestão Integrada Cuniã- Jacundá, Porto Velho** 2011.

INCA, Instituto Nacional do Cancer, 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: INCA, 2004.
<http://bvssp.icict.fiocruz.br/lildbi/docsonline/get.php?id=410>, Acessado: 18/05/2014

INSKIP, M.; PIOTROWSKI, J. Review of the health effects of methylmercury. **Journal of Applied Toxicology**, v. 5, n. 3, p. 113-133, 1985. ISSN 1099-1263.

JARVIS, K. E.; GRAY, A. L.; HOUK, R. S. Handbook of inductively coupled plasma mass spectrometry. 1991.

KHAN, M. A.; WANG, F. Mercury-selenium compounds and their toxicological significance: Toward a molecular understanding of the mercury-selenium antagonism. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, n. 8, p. 1567-1577, 2009. ISSN 1552-8618.

LACERDA, L. D. D.; MALM, O. Mercury contamination in aquatic ecosystems: an analysis of the critical areas. **Estudos avançados**, v. 22, n. 63, p. 173-190, 2008. ISSN 0103-4014.

LARSEN, E. H.; STÜRUP, S. Carbon-enhanced inductively coupled plasma mass spectrometric detection of arsenic and selenium and its application to arsenic speciation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 9, n. 10, p. 1099-1105, 1994.

LEBEL, J. et al. Neurotoxic effects of low-level methylmercury contamination in the Amazonian Basin. **Environmental research**, v. 79, n. 1, p. 20-32, Oct 1998. ISSN 0013-9351.

LEMIRE, M. et al. Elevated levels of selenium in the typical diet of Amazonian riverside populations. **Science of the total environment**, v. 408, n. 19, p. 4076-4084, Sep 1 2010. ISSN 0048-9697.

LEMIRE, M. et al. Selenium from dietary sources and motor functions in the Brazilian Amazon. **Neurotoxicology**, v. 32, n. 6, p. 944-953, Dec 2011. ISSN 0161-813X.

LEMIRE, M. et al. Elevated blood selenium levels in the Brazilian Amazon. **Science of the total environment**, v. 366, n. 1, p. 101-111, Jul 31 2006. ISSN 0048-9697.

LEMIRE, M. et al. Biomarkers of selenium status in the Amazonian context: blood, urine and sequential hair segments. **Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology**, v. 19, n. 2, p. 213-222, 2008. ISSN 1559-0631.

LEOPOLD, K.; FOULKES, M.; WORSFOLD, P. J. Gold-coated silica as a preconcentration phase for the determination of total dissolved mercury in natural

waters using atomic fluorescence spectrometry. **Analytical chemistry**, v. 81, n. 9, p. 3421-3428, May 1 2009. ISSN 0003-2700.

LI, Y.-F. et al. Organic selenium supplementation increases mercury excretion and decreases oxidative damage in long-term mercury-exposed residents from Wanshan, China. **Environmental science & technology**, v. 46, n. 20, p. 11313-11318, 2012. ISSN 0013-936X.

LIMA, A. P. S. et al. Mercury and selenium concentrations in fish samples from Cachoeira do Piria Municipality, ParaState, Brazil. **Environmental research**, v. 97, n. 3, p. 236-244, 2005. ISSN 0013-9351.

LOMBECK, I. et al. The selenium state of healthy children. **European journal of pediatrics**, v. 125, n. 1, p. 81-88, 1977. ISSN 0340-6199.

MAILMAN, M. et al. Strategies to lower methyl mercury concentrations in hydroelectric reservoirs and lakes: A review. **Science of the Total Environment**, v. 368, n. 1, p. 224-235, Sep 1 2006. ISSN 0048-9697.

MALM, O. Gold mining as a source of mercury exposure in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v. 77, n. 2, p. 73-78, May 1998. ISSN 0013-9351. MALM, O. et al. Mercury and methylmercury in fish and human hair from the Tapajos river basin, Brazil. **Sci Total Environ**, v. 175, n. 2, p. 141-50, Dec 11 1995. ISSN 0048-9697 (Print).

MALM, O. et al. Follow-up of mercury levels in fish, human hair and urine in the Madeira and Tapajos basins, Amazon, Brazil. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 97, n. 1-2, p. 45-51, 1997. ISSN 0049-6979.

MALM, O. et al. Mercury pollution due to gold mining in the Madeira River basin, Brazil. **Ambio**, v. 19, n. 1, p. 11-15, 1990. ISSN 0044-7447.

MARQUES, R. C. et al. Maternal mercury exposure and neuro-motor development in breastfed infants from Porto Velho (Amazon), Brazil. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 210, n. 1, p. 51-60, Jan 2007. ISSN 1438-4639.

MAY, T. W.; WIEDMEYER, R. H. A table of polyatomic interferences in ICP-MS. **ATOMIC SPECTROSCOPY-NORWALK CONNECTICUT**, v. 19, n. 5, p. 150-155, Sep-Oct 1998. ISSN 0195-5373.

MERGLER, D. et al. Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern. **AMBIO: A Journal of the Human Environment**, v. 36, n. 1, p. 3-11, Feb 2007. ISSN 0044-7447.

MOZAFFARIAN, D. Fish, mercury, selenium and cardiovascular risk: current evidence and unanswered questions. **International journal of environmental research and public health**, v. 6, n. 6, p. 1894-1916, Jun 2009. ISSN 1660-4601 (Electronic)1660-4601 (Linking).

MURATA, K. et al. Delayed evoked potentials in children exposed to methylmercury from seafood. **Neurotoxicology and teratology**, v. 21, n. 4, p. 343-348, Jul-Aug 1999. ISSN 0892-0362.

MYERS, G. J. et al. Prenatal methylmercury exposure from ocean fish consumption in the Seychelles child development study. **The Lancet**, v. 361, n. 9370, p. 1686-1692, May 17 2003. ISSN 0140-6736.

MYERS, G. J. et al. Postnatal exposure to methyl mercury from fish consumption: a review and new data from the Seychelles Child Development Study. **Neurotoxicology**, v. 30, n. 3, p. 338-349, 2009. ISSN 0161-813X.

OLSZOWY, H. A. et al. Background levels of bromide in human blood. **Journal of analytical toxicology**, v. 22, n. 3, p. 225-230, 1998. ISSN 0146-4760.

OSMAN, K. et al. Interactions between essential and toxic elements in lead exposed children in Katowice, Poland. **Clinical biochemistry**, v. 31, n. 8, p. 657-665, 1998. ISSN 0009-9120.

PALMER, C. D. et al. Determination of lead, cadmium and mercury in blood for assessment of environmental exposure: A comparison between inductively coupled plasma-mass spectrometry and atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 61, n. 8, p. 980-990, 2006. ISSN 0584-8547.

PASSOS, C. J.; MERGLER, D. Human mercury exposure and adverse health effects in the Amazon: a review. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, p. s503-s520, 2008. ISSN 0102-311X.

PASSOS, C. J. et al. Eating tropical fruit reduces mercury exposure from fish consumption in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v. 93, n. 2, p. 123-130, Oct 2003. ISSN 0013-9351.

PASSOS, C. J. S. et al. Epidemiologic confirmation that fruit consumption influences mercury exposure in riparian communities in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v. 105, n. 2, p. 183-193, Oct 2007. ISSN 0013-9351.

PATROCINADORAS, S. V Diretrizes brasileiras de hipertensão arterial. **Arq Bras Cardiol**, v. 89, n. 3, p. e24-e79, 2007.

PFEIFFER, W. C. et al. Mercury concentrations in inland waters of gold-mining areas in Rondonia, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 87, p. 233-240, Nov 1989. ISSN 0048-9697.

PINHEIRO, M. et al. Mercury pollution and childhood in Amazon riverside villages. **Environment international**, v. 33, n. 1, p. 56-61, Jan 2007. ISSN 0160-4120.

PINHEIRO, M. et al. Mercury and selenium concentrations in hair samples of women in fertile age from Amazon riverside communities. **Science of the Total Environment**, v. 349, n. 1, p. 284-288, Oct 15 2005. ISSN 0048-9697.

PINHEIRO, M. D. C. N. et al. Mercury and selenium—a review on aspects related to the health of human populations in the Amazon. **Environmental Bioindicators**, v. 4, n. 3, p. 222-245, 2009. ISSN 1555-5275.

PRONCZUK, J.; GARBINO, J. Children's health and the environment: A Global Perspective: A Resource Manual for the Health Sector. **Children's health and the environment: A Global Perspective: A Resource Manual for the Health Sector**, 2005.

RAHMAN, L. et al. Determination of mercury, selenium, bismuth, arsenic and antimony in human hair by microwave digestion atomic fluorescence spectrometry. **Talanta**, v. 52, n. 5, p. 833-843, 2000. ISSN 0039-9140.

RALSTON, N. V. Contrasting Influences of Selenium Status and Mercury Exposures on Environmental Health—an Introduction to the Special Topic: Selenium as a Bioindicator of Susceptibility to Mercury Exposures. **Environmental Bioindicators**, v. 4, n. 3, p. 198-202, 2009. ISSN 1555-5275.

RALSTON, N. V. et al. Dietary and tissue selenium in relation to methylmercury toxicity. **Neurotoxicology**, v. 29, n. 5, p. 802-811, Sep 2008. ISSN 0161-813X.

RATZLAFF, K. L. Optimizing Precision in Standard Addition Measurement. **Analytical Chemistry**, v. 51, n. 2, p. 232-235, 1979. ISSN 0003-2700.

RAZAGUI, I. B.-A.; HASWELL, S. J. The determination of mercury and selenium in maternal and neonatal scalp hair by inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Journal of analytical toxicology**, v. 21, n. 2, p. 149-153, Mar-Apr 1997. ISSN 0146-4760.

RIGOTTO, R. M. The inclusion of health in environmental impact studies: case report of a coal-fired power plant in Ceará State. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 14, n. 6, p. 2049-2059, 2009. ISSN 1413-8123.

ROCHA, A. V. et al. Selenium Status and Hair Mercury Levels in riverine children from Rondonia-Amazonia. **Nutrition**, 2014. ISSN 0899-9007.

RODRIGUES, J. L. et al. A fast method for the determination of 16 elements in hair samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) with tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 23, n. 7, p. 992-996, 2008. ISSN 0267-9477.

ROSENBERG, D. M. et al. Large-scale impacts of hydroelectric development. **Environmental Reviews**, v. 5, n. 1, p. 27-54, 1997. ISSN 1208-6053.

ROULET, M. et al. Distribution and partition of total mercury in waters of the Tapajós River Basin, Brazilian Amazon. **Science of the Total Environment**, v. 213, n. 1, p. 203-211, 1998. ISSN 0048-9697.

ROULET, M. et al. Effects of recent human colonization on the presence of mercury in Amazonian ecosystems. **Water, air, and soil pollution**, v. 112, n. 3-4, p. 297-313, 1999. ISSN 0049-6979.

RÜKGAEUER, M.; KLEIN, J.; KRUSE-JARRES, J. Reference values for the trace elements copper, manganese, selenium, and zinc in the serum/plasma of children, adolescents, and adults. **Journal of trace elements in medicine and biology**, v. 11, n. 2, p. 92-98, 1997. ISSN 0946-672X.

SALONEN, J. T. et al. Mercury accumulation and accelerated progression of carotid atherosclerosis: a population-based prospective 4-year follow-up study in men in eastern Finland. **Atherosclerosis**, v. 148, n. 2, p. 265-273, 2000. ISSN 0021-9150.

SALONEN, J. T. et al. Intake of mercury from fish, lipid peroxidation, and the risk of myocardial infarction and coronary, cardiovascular, and any death in eastern Finnish men. **Circulation**, v. 91, n. 3, p. 645-655, 1995. ISSN 0009-7322.

SAXBERG, B. E.; KOWALSKI, B. R. Generalized standard addition method. **Analytical Chemistry**, v. 51, n. 7, p. 1031-1038, 1979. ISSN 0003-2700.

SBD, P. Avaliação Nutricional da Criança e do Adolescente: Manual de Orientação. **Rio de Janeiro**, 2009.

SCHETAGNE, R.; DOYON, J.-F.; FOURNIER, J.-J. Export of mercury downstream from reservoirs. **Science of the total environment**, v. 260, n. 1, p. 135-145, 2000. ISSN 0048-9697.

SEPPÄNEN, K. et al. Effect of supplementation with organic selenium on mercury status as measured by mercury in pubic hair. **Journal of trace elements in medicine and biology**, v. 14, n. 2, p. 84-87, 2000. ISSN 0946-672X.

SOARES DE CAMPOS, M. et al. Correlation between mercury and selenium concentrations in Indian hair from Rondônia State, Amazon region, Brazil. **Science of the total environment**, v. 287, n. 1, p. 155-161, 2002. ISSN 0048-9697.

SPURGEON, A. Prenatal methylmercury exposure and developmental outcomes: review of the evidence and discussion of future directions. **Environmental health perspectives**, v. 114, n. 2, p. 307-312, Feb 2006. ISSN 0091-6765.

STERN, A. H. A review of the studies of the cardiovascular health effects of methylmercury with consideration of their suitability for risk assessment. **Environmental Research**, v. 98, n. 1, p. 133-142, 2005. ISSN 0013-9351.

SUGIURA, Y.; TAMAI, Y.; TANAKA, H. Selenium protection against mercury toxicity: high binding affinity of methylmercury by selenium-containing ligands in comparison with sulfur-containing ligands. **Bioinorganic chemistry**, v. 9, n. 2, p. 167-180, 1978. ISSN 0006-3061.

TANNER, S. D.; BARANOV, V. I. A dynamic reaction cell for inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-DRC-MS). II. Reduction of interferences produced within the cell. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 10, n. 11, p. 1083-1094, 1999. ISSN 1044-0305.

TAVARES, L. M. B. et al. Performance on neurological development tests by riverine children with moderate mercury exposure in Amazonia, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 4, p. 1160-1167, Jul-Aug 2005. ISSN 0102-311X.

THOMSON, C. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 58, n. 3, p. 391-402, 2004. ISSN 0954-3007.

VAN CAILLIE-BERTRAND, M.; DEGENHART, H.; FERNANDES, J. Influence of age on the selenium status in Belgium and the Netherlands. **Pediatric research**, v. 20, n. 6, p. 574-576, 1986. ISSN 0031-3998.

VEIGA, M. M.; MEECH, J. A.; OÑATE, N. Mercury pollution from deforestation. **Nature**, v. 368, n. 6474, p. 816-817, 1994. ISSN 0028-0836.

VERDON, R. et al. Mercury evolution (1978–1988) in fishes of the La Grande hydroelectric complex, Quebec, Canada. **Water Air & Soil Pollution**, v. 56, n. 1, p. 405-417, 1991. ISSN 0049-6979.

VIRTANEN, J. K. et al. Mercury as a risk factor for cardiovascular diseases. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 18, n. 2, p. 75-85, Feb 2007. ISSN 0955-2863.

VUPPUTURI, S. et al. Blood mercury level and blood pressure among US women: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2000. **Environmental research**, v. 97, n. 2, p. 195-200, 2005. ISSN 0013-9351.

WASSERMAN, J. C.; HACON, S.; WASSERMAN, M. A. Biogeochemistry of mercury in the Amazonian environment. **Ambio: A Journal of the Human Environment**, v. 32, n. 5, p. 336-342, 2003. ISSN 0044-7447.

WASSERMAN, J. C.; HACON, S. S.; WASSERMAN, M. A. O ciclo do mercúrio no ambiente amazônico. **Mundo & vida**, v. 2, n. 1/2, p. 46-53, 2001.

WHO. IPCS environmental health criteria 101: methylmercury. International programme of chemical safety. **World Health Organization, Geneva, Switzerland**, 1990.

WHO, W. H. O. **Guidance for identifying populations at risk from mercury exposure**: UNEP 2008.

ZHANG, H. et al. New insights into traditional health risk assessments of mercury exposure: implications of selenium. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 2, p. 1206-1212, 2014. ISSN 0013-936X.

www.epe.gov.br, acessado: 14/11/2014

9Anexos

9.1.Valores de referência de parâmetros hematológicos em crianças

idade	hemoglobina (g/dl)		hematocrito (%)		VCM(μ 3)	
	média	limite	média	limite	média	limite
0,5 -1,9a	12,5	11	37	33	77	70
2 - 4a	12,5	11	38	34	79	73
5 -7a	13	11,5	39	35	81	75
8 -11a	13,5	12	40	36	83	76
12 -14a						
F	13,5	12	41	36	85	78
M	14	12,5	43	37	84	77
15 -17a						
F	14	12	41	36	87	79
M	15	13	46	38	86	78
18 -49a						
F	14	12	42	37	90	80
M	16	14	47	40	90	80

Adaptado de Oski et al 1998

Globulos Brancos

Para crianças, os valores absolutos e porcentagens normais podem diferir. As porcentagens são as seguintes:

Basófilos: 0 a 2%

Eosinófilos: 1 a 5%

Linfócitos: 45 a 75%

Monócitos: 3 a 10%

Neutrófilos: 22 a 40%.

FERRITINA SERICA (Soro)

* CRIANÇAS

RECÉM-NASCIDO 25,00 a 200,00 ng/mL

02 a 05 MESES 50,00 a 200,00 ng/mL

06 MESES A 15 ANOS 7,00 a 140,00 ng/mL

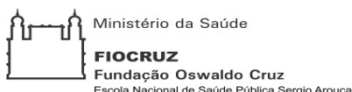
FERRO SÉRICO (soro)

Recém-Nascidos..... 100,00 a 250,00

Crianças 50,00 a 120,00

Fonte: laudo laboratório CEACLIN

9.2. Inquérito Domiciliar



AVALIAÇÃO DA SAÚDE DAS COMUNIDADES RIBEIRINHAS POTENCIALMENTE EXPOSTAS À CONTAMINAÇÃO POR MERCÚRIO NO RIO MADEIRA

Questionário Individual Infantil – até 15 anos e 11 meses

SE A ENTREVISTADA JÁ TIVER ENGRAVIDADO, APLICAR O QUESTIONÁRIO ADULTO

Código do questionário: _____	Data da entrevista: ____/____/____	Horário de Início: ____:____ hs
Código do Entrevistador: _____		

Nome Completo da Criança:		
Nome Completo do Responsável:		
Grau de Parentesco do Responsável:		
Endereço Completo da Criança:		
Comunidade:		
Telefone para contato:		
Coordenadas da casa – GPS	Lat: _____	Long: _____
Coleta de Cabelo () Realizada () Não Realizada		

Sempre mencionar o nome da criança em vez de [NOME]

IDENTIFICAÇÃO:					
1	Sexo:	1. () Masculino		2. () Feminino	
2	Data de Nascimento:	____/____/____		Idade: _____	
3	Cor:	1. () Branca	2. () Negra	3. () Parda	4. () Outra
4	Série Escolar:	1. () 1º ano 2. () 2º ano 3. () 3º ano 4. () 4º ano 5. () 5º ano	6. () 6º ano 7. () 7º ano 8. () 8º ano 9. () 9º ano 10. () 1º ano do Ensino Médio	11. () 2º ano do Ensino Médio 12. () 3º ano do Ensino Médio 13. () Não Estuda 14. () Parou de Estudar. Em qual série? _____	
5	O pai e a mãe do [NOME] possuem algum grau de parentesco?	1. () Sim, Qual? _____		2. () Não	
6	Quanto tempo você mora na Reserva de Cunha ? (Especificar se o entrevistado se refere à sua própria idade ou à duração em anos)	1. () Desde os _____ a		2. () Há _____ anos	

MÓDULO DE AVALIAÇÃO DA SAÚDE					
7	O(a) [NOME] já foi vacinado?	1. () Sim		2. () Não Se NÃO, vá para a pergunta 9	
8	Quais vacinas tomou? (Só preencher com o cartão de vacinação da criança.)	a) BCG	1. () Sim	2. () Não	
		b) Parassia Infantil	1. () Sim	2. () Não	
		c) Difteria, Tetano e Coqueluxe	1. () Sim	2. () Não	
		d) Sarampo, Rubéola e Caxumba	1. () Sim	2. () Não	
		e) Meningite	1. () Sim	2. () Não	
		f) Febre Amarela	1. () Sim	2. () Não	
		g) Hepatite B	1. () Sim	2. () Não	
		h) Rotavírus	1. () Sim	2. () Não	
		i) Outra?	1. () Sim	2. () Não	
9	Como o(a) Sr(a) avalia a saúde do seu filho?	1. () Muito Boa	2. () Boa	3. () Regular	4. () Ruim 5. () Muito Ruim
10	A Sra. fez o teste do pezinho em [NOME] quando ele(a) nasceu?	1. () Sim		2. () Não	
11	Com quantos quilos [NOME] nasceu?	____, ____ kg			
12	Que doenças seu filho já teve?			Ele (a) recebeu algum tratamento médico para esta doença?	
		1. () Doença da coluna ou costas		1. () Sim 2. () Não	
		2. () Micose ou algum problema de pele		1. () Sim 2. () Não	
		3. () Leishmaniose		1. () Sim 2. () Não	
		4. () Bronquite		1. () Sim 2. () Não	
		5. () Malária		1. () Sim 2. () Não	
		6. () Lepra ou hanseníase		1. () Sim 2. () Não	
		7. () AIDS / HIV		1. () Sim 2. () Não	
		8. () Febre Amarela		1. () Sim 2. () Não	
		9. () Toxoplasmose		1. () Sim 2. () Não	
		10. () Caxumba		1. () Sim 2. () Não	
		11. () Sarampo		1. () Sim 2. () Não	
		12. () Rubéola		1. () Sim 2. () Não	
		13. () Paralisia Infantil / Poliomielite		1. () Sim 2. () Não	
		14. () Epilepsia		1. () Sim 2. () Não	
		15. () Catapora		1. () Sim 2. () Não	
		16. () Coqueluxe		1. () Sim 2. () Não	
		17. () Meningite		1. () Sim 2. () Não	
		18. () Hepatite A		1. () Sim 2. () Não	
		19. () Hepatite B		1. () Sim 2. () Não	
		20. () Dengue		1. () Sim 2. () Não	
		21. () Tuberculose		1. () Sim 2. () Não	
		22. () Hipotireoidismo		1. () Sim 2. () Não	
		23. () Alergia		1. () Sim 2. () Não	
		24. () Outro? _____		1. () Sim 2. () Não	
13	Qual o posto de saúde ou hospital que você leva [NOME] quando necessário?	1. () Em Porto Velho. Qual? _____		2. () Fora de Porto Velho. Qual? _____	
14	Algum médico já falou que o desenvolvimento mental de [NOME] é anormal?	1. () Sim.		2. () Não Se NÃO, vá para 16.	
15	A Sra. fez algum exame para confirmar?	1. () Sim Qual? _____		2. () Não	
16	[NOME] possui alguma deficiência física?	1. () Sim Qual? _____		2. () Não	

17	Seu filho faz ou já fez tratamento para:	a) Diabetes?	1. () Sim	2. () Não
		b) Tuberculose?	1. () Sim	2. () Não
		c) Hanseníase?	1. () Sim	2. () Não
		d) Problemas mentais?	1. () Sim	2. () Não
		e) Problema de Nervos?	1. () Sim	2. () Não
18	Algum médico já disse que [NOME] tem problema de coração?	1. () Sim	2. () Não	
19	[NOME] já teve sua pressão arterial medida?	1. () Sim	2. () Não	

TABAGISMO NO DOMICÍLIO				
Se a entrevistada for a Mãe, vá para a pergunta 20. Caso contrário, vá para o Módulo Neurológico.				
20	A Sra. fumou durante a gravidez do / da [NOME] ?	1. () Sim	2. () Não Se NÃO, vá para o próximo Módulo.	99. () NS / NR Se NS / NR, vá para o próximo Módulo.
21	Quantos cigarros por dia a Sra. fumava durante a gravidez do / da [NOME] ?	1. _____ 99. () NS / NR		
22	Durante a gravidez, em quais meses a Sra. fumou?	a. Primeiro:	1. () Sim	2. () Não 99. () NS / NR
		b. Segundo:	1. () Sim	2. () Não 99. () NS / NR
		c. Terceiro:	1. () Sim	2. () Não 99. () NS / NR
		d. Quarto:	1. () Sim	2. () Não 99. () NS / NR
		e. Quinto:	1. () Sim	2. () Não 99. () NS / NR
		f. Sexto:	1. () Sim	2. () Não 99. () NS / NR
		g. Sétimo:	1. () Sim	2. () Não 99. () NS / NR
		h. Oitavo:	1. () Sim	2. () Não 99. () NS / NR
		i. Nono:	1. () Sim	2. () Não 99. () NS / NR

MÓDULO NEUROLÓGICO				
23	Nos últimos 12 meses [NOME] teve algum problema dos nervos?	1. () Sim Qual? _____	2. () Não	
24	Quem lhe disse que [NOME] tinha problemas de nervos?	1. () Médico 2. () Enfermeiro 3. () Vizinhos	4. () Amigos 5. () Outros	
25	[NOME] tem dificuldade em	1. Se concentrar?	1. () Sim	2. () Não
		2. Enxergar?	1. () Sim	2. () Não
		3. De memória?	1. () Sim	2. () Não
		4. Diferenciar as cores?	1. () Sim	2. () Não
		5. Caminhar?	1. () Sim	2. () Não
		6. Remar?	1. () Sim	2. () Não
		7. Pescar?	1. () Sim	2. () Não
26	[NOME] usa óculos?	1. () Sim	2. () Não	
27	[NOME] é uma criança mais agitada do que o normal?	1. () Sim	2. () Não	
28	[NOME] tem dificuldades para ter reflexos rápidos, exemplo, tirar a mão rapidamente quando encosta em algo quente?	1. () Sim	2. () Não	
29	Você considera [NOME] uma criança irritada?	1. () Sim	2. () Não	
30	Você considera [NOME] uma criança paciente?	1. () Sim	2. () Não	
31	Seu filho(a) tem algum problema de equilíbrio ou cai com frequência?	1. () Sim	2. () Não	

32	Seu filho (a) já repetiu de ano na escola? Em qual série e quantas vezes? (Marcar nos parentes o número de vezes que a série escolar foi repetida.)	1. () 1º ano 2. () 2º ano 3. () 3º ano 4. () 4º ano 5. () 5º ano	6. () 6º ano 7. () 7º ano 8. () 8º ano 9. () 9º ano 10. () 1ª série EM
33	A professora de [NOME] já disse que ele (a) havia dificuldade de concentração?	1. () Sim	2. () Não
34	A professora de [NOME] já disse que ele (a) havia dificuldade de memorização?	1. () Sim	2. () Não
35	Quantas horas por dia em média, [NOME] fica assistindo televisão?	1. () _____ horas por dia	2. () Não tenho televisão em casa

MÓDULO DE NUTRIÇÃO							
36	[NOME] foi amamentado?		1. () Sim		2. () Não Se NÃO, vá para a 38.		
37	Até qual idade [NOME] foi amamentado?		a) _____ meses		b) _____ anos		
38	Em geral, quantas vezes por semana o(a) seguinte alimento é consumido?		Nunca	1 vez a cada 15 dias	De 1 a 3 vezes por semana	Mais do que 3 vezes por semana	Diariamente
		Peixe –					
		Feijão					
		Arroz					
		Frango					
		Ovos					
		Carne de boi ou de porco					
		Cereais (milho, soja, trigo)					
		Verduras ou legumes (batata, espinafre, alface, cenoura)					
		Frutas					
		Mandioca					
		Leite, manteiga, iogurte ou queijo					
		Castanha do Pará					
		Enlatados De que tipo?					
39	Quais frutas o(a)[NOME] mais come?		1) _____ 2) _____				
40	Qual(is) peixe(s) [NOME] mais consome?		1) _____ 2) _____				
41	Você comeu peixe ontem? Se sim, qual?		1. () Sim		2. () Não		
42	Na última semana quantas vezes comeu peixe?		_____ vezes por semana.				
43	Qual quantidade de peixe ingeriu por refeição?		_____				

MÓDULO DE ASMA		
44	Alguma vez na vida seu filho(a) teve chiado no peito (sibilos)?	1-() Sim 2-() Não
45	Nos últimos 12 meses seu filho(a) teve chiado no peito (sibilos)?	1-() Sim 2-() Não
46	Nos últimos 12 meses quantas crises de chiado no peito (sibilos) seu filho(a) teve?	1-() Nenhuma 2-() 1-3 3-() 4-12 4-() + que 12

47	Nos últimos 12 meses com que frequência seu filho(a) teve o sono perturbado por chiado no peito?	1-() Nunca acordou com chiado no peito 2-() Menos de 1 noite por semana	3-() 1 ou mais noites por semana
48	Nos últimos 12 meses o chiado do seu filho(a) foi tão forte a ponto de impedir que ele(a) conseguisse dizer mais de 2 palavras entre cada respiração?	1-() Sim	2-() Não
49	Alguma vez seu filho(a) teve asma?	1-() Sim	2-() Não
50	Nos últimos 12 meses seu filho(a) teve chiado no peito após exercício físico?	1-() Sim	2-() Não
51	Nos últimos 12 meses seu filho(a) teve tosse seca à noite sem estar gripado ou com infecção respiratória	1-() Sim	2-() Não

MÓDULO DE EXPOSIÇÃO			
52	Seu filho (a) é alérgico (a) a algum produto de limpeza?	1-() Sim	2-() Não (Se não, pular para Q54)
53	Qual (is)?		
54	Seu filho (a) é alérgico (a) a algum produto químico?	1-() Sim	2-() Não (Se não, pular para Q56)
55	Qual (is)?		
56	Sua casa fica numa região próxima (pode marcar mais de 1 opção)	1-() Rio Madeira 2-() Área de queimada	3-() Área de agricultura 4-() Outra Qual? _____
57	Próximo a sua casa ocorre queimada no ambiente?	1-() Sim	2-() Não (Se não, pular para Q58)
58	Qual a razão da queimada? (pode marcar mais de 1 opção)	1-() Queima de lixo, Quantos metros da casa? _____ 2-() Queima da floresta, Quantos metros da casa? _____ 3-() Queima de pasto, Quantos metros da casa? _____ 4-() Queima de vegetação do quintal, Quantos metros da casa? _____ 5-() Outros? _____, Quantos metros da casa? _____	
59	A família prepara farinha em casa?	1-() Sim	2-() Não
60	Você verifica alguma mudança [NOME] com a mudança do tempo/clima?	1-() Sim	2-() Não (Se não, pular para Q62)
61	Em que mês é mais freqüente a chuva?	_____	() Não sabe
62	Você observa alguma alteração [NOME] no período da seca (quando o rio seca)?	1-() Sim	2-() Não
Data final da entrevista: __/__/__		Horário de Término: __:__ hs	

ENCERRE A ENTREVISTA E AGRADEÇA A PARTICIPAÇÃO.

Existe alguma observação a ser feita por parte do entrevistador?
