



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS ENERGÉTICAS E  
NUCLEARES

GAEL FREIRES DE LIMA

**Identificação de elementos traços e biomonitoração de danos genotóxicos na  
população exposta ao óleo contaminante no litoral pernambucano**

Recife  
2023

GAEL FREIRES DE LIMA

**Identificação de elementos traços e biomonitoração de danos genotóxicos na população exposta ao óleo contaminante no litoral pernambucano**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologias Energéticas e Nucleares.

Área de concentração: Aplicações de radioisótopos na agricultura e meio ambiente.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo

Coorientadora: Dr.<sup>a</sup> Fabiana Farias de Lima Guimarães

Recife

2023

Catálogo na fonte  
Bibliotecário Gabriel Luz, CRB-4 / 2222

L732i Lima, Gael Freires de.  
Identificação de elementos traços e biomonitoração de danos genotóxicos na população exposta ao óleo contaminante no litoral pernambucano / Gael Freires de Lima, 2023.  
99 f.: il.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo.  
Coorientadora: Dra. Fabiana Farias de Lima Guimarães.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.  
CTG. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares. Recife, 2023.

Inclui referências apêndice e anexos.

1. Tecnologias energéticas e nucleares. 2. Petróleo. 3. Metais. 4. Contaminação. 5. Genotoxicidade. 6. Ensaio cometa. 7. Espectrometria.  
I. Melo, Ana Maria Mendonça de Albuquerque (Orientadora). II. Guimarães, Fabiana Farias de Lima (Coorientadora). III. Título.

UFPE

621.4837 CDD (22. ed.)

BCTG / 2023 - 147

## **Gael Freires de Lima**

IDENTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇOS E BIOMONITORAÇÃO DE DANOS GENOTÓXICOS NA  
POPULAÇÃO EXPOSTA AO ÓLEO CONTAMINANTE NO LITORAL PERNAMBUCANO

Dissertação Apresentada ao Programa de Pós Graduação Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociência - CTG, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Tecnologias Energéticas e Nucleares. Área de Concentração: Aplicações de Radioisótopos na Agricultura e Meio-Ambiente.

Aprovado em: 03/03/2023

## **BANCA EXAMINADORA**

---

Dra. Mariana Espósito Mendes - (Examinador Externo)  
UNIBRA/CRCN-NE/CNEN

---

Dra. Mariana Luiza de Oliveira Santos - (Examinador Externo)  
Secretaria de Ciência, Tecnologia e Inovação de Pernambuco - SECTI

---

Dra. Maíra de Vasconcelos Lima Sampaio (Examinador Externo)  
Comissão Nacional de Energia Nuclear - CRCN-NE/CNEN/UFPE

Dedico este trabalho ao meu eu, que morreu e renasceu tantas vezes até a realização deste feito.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a toda minha ancestralidade e espiritualidade por me manter vivo, renovar as minhas forças e me ensinar a sempre ser grato e insistir na bondade.

Agradeço a minha orientadora Dra. Ana Maria Mendonça por ter me recebido como aluno de mestrado, e ter me dado a oportunidade de crescimento acadêmico por meio do desenvolvimento deste trabalho.

À minha tão compreensiva e acolhedora coorientadora Dra. Fabiana Farias por ter sido sempre tão solícita e pelo exemplo profissional e pessoal que tem sido desde a minha chegada ao meio acadêmico.

À Dra. Mariana Esposito por sempre ser prestativa, exigente e acolhedora, se tornando fundamental para a realização de todos os meus feitos acadêmicos até aqui.

À toda equipe do Laboratório de Dosimetria Biológica do CRCN-NE, em especial a Laís Melo e Júlio César por toda parceria e amizade construída.

À toda equipe do Laboratório de Biofísica e Radiobiologia da UFPE, em especial ao doutorando Vinícius Henrique pela parceria.

Ao Dr. Elvis Joacir de França e toda equipe do Laboratório de Análises Ambientais do CRCN-NE por todo suporte indispensável à realização deste trabalho.

À Dra. Betânia Lucena e toda equipe do projeto Saúde dos Pescadores – PE por todo suporte indispensável à realização deste trabalho.

À minha mãe Isa Milca, por ser o meu porto seguro, acreditar em mim e me lembrar da nossa força.

À minha amiga Josimara Nascimento pelo amor, cuidado, paciência e compreensão diante das dificuldades, pelo apoio emocional e por acreditar e sonhar junto comigo.

Aos meus amigos Vinícius, Rivaldo e Daniel pelo elo que me fortalece.

A todos os afetos que, de alguma forma, amenizam as dores e trazem alegria para a minha vida.

Ao Centro Regional de Ciências Nucleares, pela infraestrutura e amparo técnico

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco - FACEPE, pelo apoio financeiro.

Tenho me sentido borboleta. Estive em um casulo, reconheço cada processo da metamorfose que me transmutou. Já não carrego mais o peso morto. Estou leve para voar. Preenchido e coberto de luz. Sinto a necessidade de jogar para o universo fragmentos do que sou agora. (O autor, 2022).

"Quando a dor de não estar vivendo for maior que o medo da mudança, a pessoa muda." (Sigmund Freud).

## RESUMO

O derrame de petróleo cru no litoral do nordeste brasileiro, envolvendo o navio Bouboulina, levou a inúmeros prejuízos socioeconômicos. A chegada do óleo bruto causou uma mobilização coletiva para limpeza das praias, principalmente por parte de pescadores e marisqueiras que têm no ecossistema marinho a sua principal fonte de renda. As tentativas de limpeza de forma amadora levaram à exposição a compostos e elementos presentes nessa substância que são tóxicos para a saúde humana. O material genético pode ser um dos principais alvos dessa exposição. Por meio deste estudo foi realizada uma análise da contaminação por elementos químicos e compostos presentes no óleo derramado e dos efeitos genotóxicos associados, a fim de identificar e definir a repercussão da exposição na saúde humana. Foram selecionados 30 indivíduos, incluindo, pescadores, marisqueiras e residentes, de ambos os sexos e maiores de 18 anos de idade, da região da praia da Barra de Sirinhaém. As análises químicas foram realizadas em Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite – GFAAS e com Chama – FAAS. O Ensaio Cometa foi realizado a partir de linfócitos do sangue periférico para o estudo da genotoxicidade e caracterização do dano após a exposição. Os resultados sugerem uma possível relação entre o consumo de pescados possivelmente contaminados, o aumento da concentração de alguns elementos e os danos ao DNA. No entanto, faz-se necessário um estudo com uma amostra populacional maior e mais homogênea, que seja avaliada em um menor intervalo de tempo após a exposição, para o estudo da influência da contaminação dos metais pesados e associação com os efeitos genotóxicos.

**Palavras-chave:** petróleo; metais; contaminação; genotoxicidade; ensaio cometa; espectrometria.

## ABSTRACT

The crude oil spill on the coast of northeastern Brazil, involving the ship Bouboulina, led to numerous socioeconomic losses. The arrival of crude oil caused a collective mobilization to clean the beaches, mainly by fishermen and shellfish gatherers who rely on the marine ecosystem as their main source of income. Amateur cleaning attempts have led to exposure to compounds and elements present in this substance that are toxic to human health. Genetic material can be one of the main targets of this exposure. Through this study, an analysis of the contamination by chemical elements and compounds present in the spilled oil and the associated genotoxic effects was carried out, in order to identify and define the impact of exposure on human health. 30 individuals were selected, including fishermen, shellfish gatherers and residents, of both sexes and over 18 years of age, from the Barra de Sirinhaém beach region. Chemical analyzes were performed using Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry – FAAS and Flame Spectrometry – FAAS. The Comet Assay was performed using peripheral blood lymphocytes for the study of genotoxicity and characterization of damage after exposure. The results suggest a possible relationship between the consumption of possibly contaminated fish, the increase in the concentration of some elements and DNA damage. However, it is necessary to carry out a study with a larger and more homogeneous population sample, which is evaluated in a shorter period of time after exposure, in order to study the influence of heavy metal contamination and its association with genotoxic effects.

**Keywords:** oil; metals; contamination; genotoxicity; comet assay; spectrometry.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Formação do petróleo.....	18
Figura 2 –	Número vazamentos de óleo associados a navios (maior que 700 toneladas) entre 1970 e 2015.....	22
Figura 3 –	Imagens da presença de óleo após acidente de 2019.....	28
Figura 4 –	Ordem cronológica do avistamento do óleo no litoral do Nordeste acidente de 2019.....	29
Figura 5 –	Localidades Afetadas pelo Petróleo - Última Atualização em 29/10/2019.....	30
Figura 6 –	Participação de voluntários locais na remoção do óleo da praia de Itapuama, Pernambuco, Brasil.....	32
Figura 7 –	Esquema de funcionamento do espectrômetro de absorção em chama.....	39
Figura 8 –	Imagens classificadas de acordo com a intensidade de fluorescência na cauda do cometa.....	41
Figura 9 –	Imagens classificadas de acordo com a intensidade de fluorescência na cauda do cometa.....	44
Figura 10 –	Banho término utilizando banho maria ultrassônico Elma Elmasonic P 180H.....	45
Figura 11 –	Espectrofotômetro de absorção atômica VARIAN AA240Z (Zeeman) com forno de grafite GTA 120.....	46
Figura 12 –	Equipamento SpectrAA 220 da Varian/Agilent.....	48
Figura 13 –	Índice de danos no DNA de linfócitos dos voluntários (a) e Frequência de graus de danos no DNA de linfócitos dos voluntários (b).....	53
Figura 14 –	Efeito da exposição no dano ao DNA expresso como %TDNA (A)...	55
Figura 15 –	Mapa colorimétrico de correlação.....	67
Figura 16 –	Mapa colorimétrico de correlação.....	68
Figura 17 –	Mapa colorimétrico de correlação.....	70
Figura 18 –	Mapa colorimétrico de correlação.....	71

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Composição do petróleo texto.....	17
Quadro 2 –	Histórico resumido de vazamentos de óleo entre 1966 e 2003.....	23
Quadro 3 –	Formas de exposição humana ao óleo e possíveis sinais e sintomas no organismo.....	31
Quadro 4 –	Correlação entre a variável dependente ID e as variáveis independentes (metais).....	67
Quadro 5 –	Teste da significância global do modelo de regressão linear múltipla.....	67
Quadro 6 –	Correlação entre a variável dependente FD e as variáveis independentes (metais).....	68
Quadro 7 –	Teste a significância global do modelo de regressão linear múltipla	69
Quadro 8 –	Correlação entre a variável dependente ID e as variáveis independentes (metais).....	70
Quadro 9 –	Teste a significância global do modelo de regressão linear múltipla	71
Quadro 10 –	Correlação entre a variável dependente FD e as variáveis independentes (metais).....	71
Quadro 11 –	Teste a significância global do modelo de regressão linear múltipla	72

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros utilizados nas análises por GFAAS.....	48
Tabela 2 – Características da população de voluntários da Z06 (Praia Barra de Sirinhaém).....	51
Tabela 3 – Comparação frente ao gênero.....	52
Tabela 4 – Concentrações de metais e marcadores biológicos.....	55
Tabela 5 – Concentrações dos metais pesados frente ao consumo de álcool, pescados e contato com o óleo.....	61
Tabela 6 – Concentrações de metais pesados comparadas as diferentes faixas etárias.....	63
Tabela 7 – Concentrações de metais pesados comparados a diferentes formas de contato com o óleo.....	64
Tabela 8 – Voluntários com valores de índice de dano e concentrações de Al e Zn elevados.....	72

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>16</b>
2.1	Objetivos específicos .....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>17</b>
3.1	Petróleo.....	17
<b>3.1.1</b>	<b>Origem</b> .....	<b>18</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Refino</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1.3</b>	<b>Derramamentos de óleo e diretrizes</b> .....	<b>20</b>
3.2	Contaminação associada ao Petróleo.....	24
3.3	Derramamento de petróleo no litoral do Brasil em 2019 .....	27
<b>3.3.1</b>	<b>Origem</b> .....	<b>27</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Panorama</b> .....	<b>27</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Riscos à saúde humana</b> .....	<b>31</b>
3.4	Biomonitoramento .....	35
<b>3.4.1</b>	<b>Contaminação por metais pesados</b> .....	<b>36</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Análise de genotoxicidade</b> .....	<b>40</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>42</b>
4.1	seleção de doadores e coleta das amostras.....	42
4.2	ensaio Cometa .....	43
<b>4.2.1</b>	<b>Montagem das lâminas</b> .....	<b>43</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Análise microscópica</b> .....	<b>43</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Análises dos resultados</b> .....	<b>44</b>
4.3	Quantificação dos elementos traços .....	45
<b>4.3.1</b>	<b>Preparação das amostras</b> .....	<b>45</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Análise por Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite (GFAAS)</b> .....	<b>46</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Análise por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (FAAS)</b> .....	<b>48</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Análise dos resultados</b> .....	<b>49</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>51</b>
5.1	Ensaio cometa .....	52
5.2	Quantificação de elementos e análise de genotoxicidade .....	55

<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>73</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>74</b>
	<b>APÊNDICE A – TABELA GERAL .....</b>	<b>86</b>
	<b>ANEXO A - QUESTIONÁRIO .....</b>	<b>87</b>
	<b>ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO .....</b>	<b>93</b>
	<b>ANEXO C - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP .....</b>	<b>95</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente o petróleo é a base da matriz energética mundial, contando com 32,9% do consumo de energia global. Enquanto o carvão alcançou sua maior parcela sobre o consumo de energia primária global (30,1%) desde 1970, o gás natural representa 23,7% da energia primária consumida globalmente, a hidroeletricidade alcançou 6,7%, a energia nuclear possui uma parcela de 4,4% e as formas renováveis de energia (biocombustíveis, energia eólica e energia solar) contam apenas com 2,7% do consumo global de energia (BP, 2014).

O aumento das reservas existentes no mundo, incluindo as perspectivas de exploração do pré-sal brasileiro reaqueceram o setor de óleo e gás. No entanto, a dificuldade de se explorar e produzir em áreas com grandes profundidades marítimas está relacionada com o volume de óleo descoberto, a imensa estrutura logística e tecnológica empregada. Neste contexto, o desconhecimento do comportamento dos reservatórios pode ocasionar acidentes, como vazamento de óleo, e os grandes navios petroleiros, que carregam mais de  $2 \times 10^6$  toneladas deste produto pelo mundo todo, representam um risco elevado de vazamento de óleo dentro e em torno do ecossistema costeiro (BRAGA, 2012; IEA, 2011a; OPEC, 2011 apud COSTA, 2012).

O marco histórico relacionado ao surgimento de políticas de meio ambiente no Brasil, que tratam de derrames de petróleo e seus derivados no ecossistema aquático, foi o vazamento de óleo ocasionado por um oleoduto da Petrobrás na Baía de Guanabara-RJ, em 2000 (CETESB, 2009 apud FONSECA, 2009). A estrutura de planos de resposta às emergências no Brasil se desenvolveu, principalmente, a partir desse acidente, com a promulgação da Lei nº 9966/2000 que dispõe sobre a prevenção, o controle e a fiscalização da poluição causada por lançamento de óleo e outras substâncias nocivas ou perigosas em águas sob jurisdição nacional (BRASIL, 2000).

Em agosto de 2019, o litoral do Nordeste brasileiro foi atingido pelo maior desastre ambiental provocado por vazamento de petróleo na história do país. A primeira mancha de óleo foi registrada no dia 30 do mesmo mês, no Estado da Paraíba (Dantas *et al.*, 2019). Desde então, o vazamento alastrou-se por mais de 70% dos 3.300 quilômetros de litoral nos outros estados do Nordeste, atingindo quase 500 locais até o início de novembro (IBAMA, 2019). O Instituto Brasileiro do

Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), em 05 de novembro de 2019, emitiu um boletim onde constam mapas representando as localidades onde foram observadas as manchas de óleo ao longo do litoral nordestino, detalhando a extensão da mancha em cada estado.

Após a contaminação por manchas de óleo nas áreas costeiras dos estados nordestinos, principalmente do estado de Pernambuco, foram observados inúmeros prejuízos socioeconômicos à população. No entanto, outros problemas poderão surgir se novas políticas de saúde pública não forem adotadas em tempo hábil, uma vez que uma parcela da população, unida pelo sentimento de preservação ambiental, colocou sua saúde em risco de contaminação por elementos tóxicos presentes no óleo derramado. A exposição humana a petróleo bruto pode levar a efeitos deletérios ao sistema biológico, incluindo o material genético, devido ao potencial genotóxico desse material e de seus constituintes (ITOPF, 2019).

Desta forma, fazer a monitoração da população atingida é uma questão de saúde pública. Estes fatos reverberam a necessidade de avaliar os possíveis danos ocasionados às pessoas expostas ao óleo contaminante no litoral pernambucano. Para isto faz-se necessário o uso de técnicas que avaliam os danos ao material genético dos indivíduos, além de inferir a presença dos elementos traços presentes no óleo contaminante que podem ter sido incorporados por estas pessoas no momento da exposição.

## 2 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos genotóxicos na população de pescadores e marisqueiras que foram expostos ao óleo derramado no litoral pernambucano, bem como, aferir a presença de elementos traços contaminantes nesta população.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Analisar os efeitos genotóxicos no sangue dos indivíduos expostos ao óleo contaminante por meio do ensaio cometa;
- b) Quantificar os elementos traços relacionados a exposição ao óleo contaminante (Al, As, Cd, Cu, Fe V e Zn);
- c) Correlacionar o perfil da concentração de elementos traços no sangue dos indivíduos expostos com os possíveis efeitos genotóxicos.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

As operações para explorar novos campos petrolíferos, refino e distribuição de combustíveis, passando pela produção e transporte de óleo e derivados, envolvem, em vários aspectos, o risco de vazamento de óleo ou derivados para o meio ambiente com consequências negativas tanto para os ecossistemas, no qual o ser humano faz parte, quanto para as economias de mercado.

#### 3.1 PETRÓLEO

O termo petróleo vem do latim, no qual *petra* significa pedra e *oleum* refere-se à óleo. Encontra-se, em geral, em rochas sedimentares, podendo ser extraído da terra no estado líquido. O petróleo não é uma substância homogênea e suas características variam muito de acordo com o campo de origem, porém todos apresentam análise elementar semelhante, com a presença de carbono (de 83 a 87% em massa), hidrogênio (11 a 14 % em massa), nitrogênio (0,11 a 1,7%), oxigênio (0,1 a 2%), enxofre (de 0,06 a 8% em massa) e metais (até 3,0% em massa). Desta forma, no óleo bruto encontra-se estes elementos misturados, formando hidrocarbonetos como os naftenos, benzeno, entre outros, além de metais como Chumbo, Cobre, Cádmio, Arsênio, Vanádio, Tório e Urânio (IARC, 2012; ATSDR, 2013; RAMIREZ *et al.*, 2017). O quadro 1 contém a composição do petróleo bruto.

Quadro 1– Composição do petróleo.

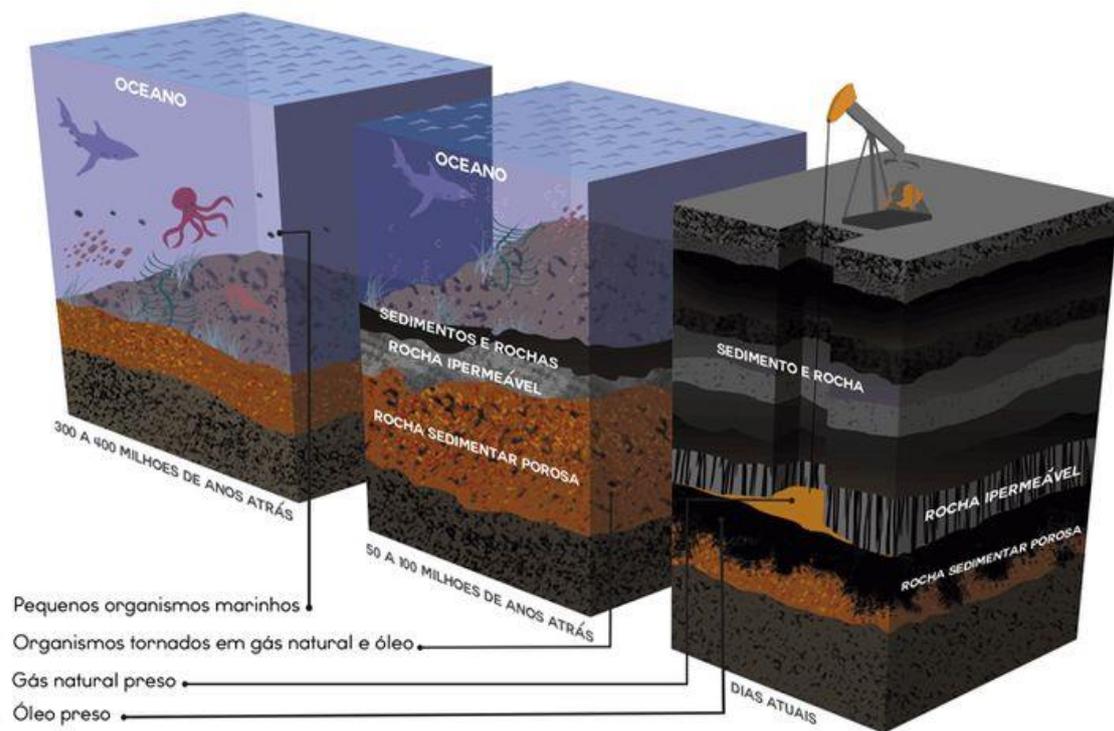
<b>PRINCIPAIS CONSTITUINTES DO PETERÓLEO BRUTO</b>	
Hidrocarbonetos cíclicos	Ciclohexano
Hidrocarbonetos alifáticos	n-butano, isobutano, n-hexano
Hidrocarbonetos aromáticos	tolueno, m-xileno, estireno, benzo(a)pireno
Outros elementos	nitrogênio, oxigênio, sais e resíduos de metais como chumbo, cobre, cádmio, arsênio e vanádio

Fonte: O autor (2021).

### 3.1.1 Origem

As bacias sedimentares constituem 64% da estrutura geológica das terras emersas brasileiras de acordo Moreira e Sene (2005). São depressões de relevo preenchidas por fragmentos de rochas preexistentes, que foram erodidas, e grande quantidade de organismos animais e vegetais depositados, lentamente, em um grande intervalo de tempo geológico e que, por meio da compactação ou cimentação, ocasionadas pelo emparelhamento das camadas geológicas, juntamente com o calor e a pressão, transformam esse material orgânico em combustíveis fósseis (Figura 1) (GURGEL *et al.*, 2013).

Figura 1– Formação do petróleo



Fonte: Productions (2017).

A maioria dos hidrocarbonetos explorados mundialmente vem de rochas sedimentares. Além da matéria orgânica e das transformações termoquímicas, para que o petróleo (óleo e gás) se forme, também é preciso outras condições iniciais, como o afastamento das bactérias aeróbicas, a imobilidade do material orgânico por um longo período e a presença de bactérias anaeróbicas. O petróleo, então formado, migra pelos poros da rocha para locais de menor pressão e vem a

superfície ou para numa camada impermeável, onde ficará armazenado (GURGEL *et al.*, 2013).

Segundo Gurgel *et al.* (2013), as áreas mais propícias à formação de petróleo são mares interiores, baías e golfos, sendo a ocorrência de reservas nos interiores dos continentes resultantes de áreas originalmente marinhas, emergidas por forças advindas dos movimentos da crosta, ou da migração do óleo das rochas geradoras para as rochas armazenadoras por meio de fendas. No que diz respeito à idade dos sedimentos, 60% do petróleo e do gás encontrado são originários de estratos do período cenozóico, conforme Corrêa (2003), sendo as principais reservas petrolíferas datadas do mesozóico (período cretáceo).

### **3.1.2 Refino**

No seu estado bruto, o petróleo tem poucas aplicações, servindo como óleo combustível. Para que o potencial energético do petróleo seja aproveitado ao máximo, ele deve ser submetido a uma série de processos para obtenção dos seus derivados (MARIANO, 2001).

Além do petróleo ser uma mistura complexa formada por diversos compostos, não existem dois petróleos idênticos. As diferenças em sua composição vão influenciar de forma decisiva os rendimentos e a qualidade das frações que serão obtidas de cada petróleo. De acordo com Mariano (2001), o principal objetivo dos processos de refinação é a obtenção da maior quantidade possível de derivados de alto valor comercial, ao menor custo operacional possível, com máxima qualidade, minimizando-se a geração dos produtos de pequeno valor de mercado.

Refinarias de petróleo são um sistema de operações múltiplas e as operações que são usadas em uma dada refinaria dependem das propriedades do petróleo que será refinado, assim como dos produtos desejados. Por essas razões, as refinarias podem ser muito diferentes (ABADIE, 1999). Os esquemas de refino variam significativamente de uma refinaria para outra também pelo fato de que os mercados de uma dada região estão sempre se modificando com o passar do tempo.

O refino do petróleo consiste na série de beneficiamentos pelos quais passa o mineral bruto para a obtenção de derivados, estes sim, produtos de grande interesse comercial. Esses beneficiamentos englobam etapas físicas e químicas de separação, que originam as grandes frações de destilação. Estas frações são então processadas através de uma outra série de etapas de separação e conversão que

fornece os derivados finais do petróleo. Refinar petróleo é, portanto, separar as frações desejadas, processá-las e lhes dar acabamento, de modo a se obterem produtos vendáveis (NEIVA, 1983).

Além disso, os avanços na tecnologia dos processos propiciam o surgimento de novas técnicas de refino de alta eficiência e rentabilidade, que ocupam o espaço dos processos mais antigos, de menores eficiências e maiores custos operacionais que, assim sendo, entram em obsolescência. Além desses fatores, também existem as crescentes exigências ambientais por parte dos governos, sob a forma de legislações e regulamentações, e por parte dos próprios mercados, que demandam cada vez mais, produtos oriundos de processos ditos “limpos”, e que, desta forma, forçam a indústria do refino de petróleo a implementar melhorias contínuas (MARIANO, 2001). De acordo com Abdie (1999), se observados nos contextos de médio e longo prazos, os processos de refino não podem ser considerados estáticos, mas sim dinâmicos na sua constante evolução.

### **3.1.3 Derramamentos de óleo e diretrizes**

De acordo com Noronha, Ferreira e Pinto (2018), os primeiros navios petroleiros do mundo começaram a operar no final do século XIX, tendo um padrão de pequeno porte até 1950, chegando a 100.000 toneladas em 1959. Com o aumento do transporte de petróleo, surgiu a conscientização do potencial desse produto em poluir o ambiente marinho (IMO, 2016).

Em 1954, devido aos frequentes casos de despejo de óleo por navios mercantes e pelo estado de extrema degradação dos portos e terminais aquaviários, a poluição dos mares por óleo começou a ser reconhecida como um problema. Em consequência, foi organizado no Reino Unido, a Convenção Internacional para a Prevenção da Poluição Marinha por Óleo, chamada de OILPOL, na qual ficaram definidas zonas de descarte proibido e a obrigação de armadores e contratantes de dispor de facilidades adequadas para receber resíduos e águas oleosas (NORONHA; FERREIRA; PINTO, 2018).

A OILPOL entrou em vigor em 1958 através de uma convenção da IMO (International Maritime Organization), com emendas em 1962, 1969 e 1971. Em 1962, ampliou a definição de zonas de descarte proibido e ampliou o leque de navios sujeitos a regulamentação e, em 1969, as operações de descarte sofreram novas restrições (IMO, 2014). No entanto, o foco estava nos poluentes resultantes

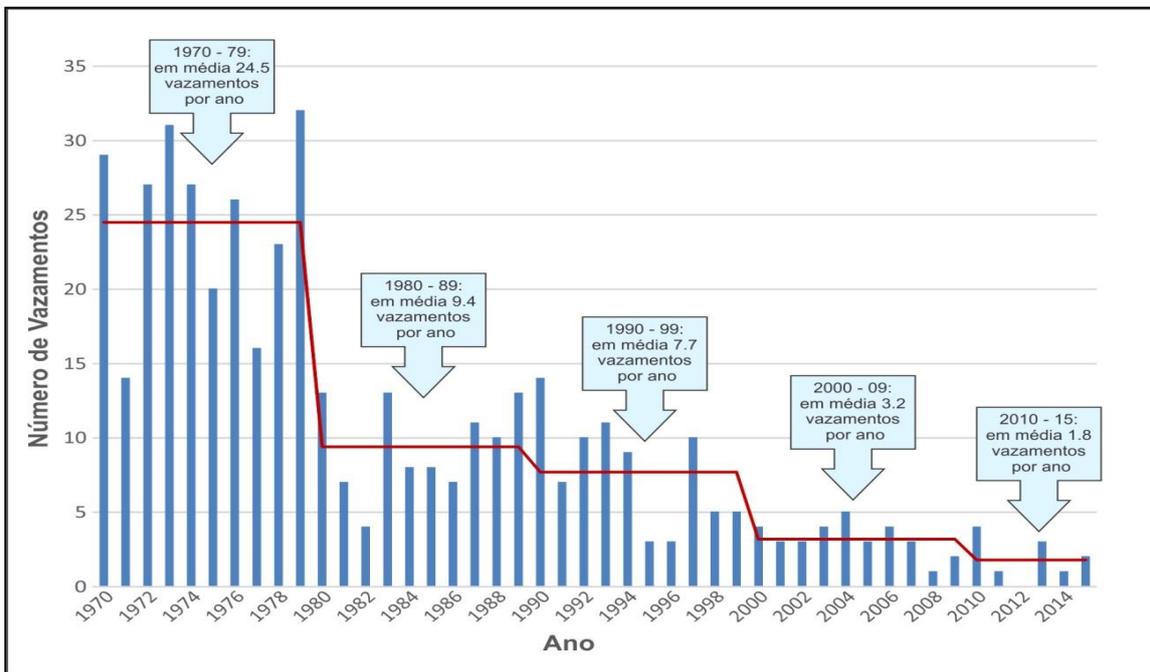
de operações de rotina e a descarga de resíduos oleosos, não sobre acidentes de derramamento de óleo causados por petroleiros.

A preocupação com a poluição do meio ambiente começou a partir da década de 70, quando incidentes marítimos relevantes, envolvendo principalmente petroleiros, assolaram as costas de países da Europa e dos EUA (NORONHA; FERREIRA; PINTO, 2018). Inúmeras conferências foram convocadas, a partir desta década, gerando diversas regras e normas visando aumentar a segurança na navegação e diminuir a poluição marinha. Dentre elas, a Convenção de Londres de 72/73 e a Conferência das Nações Unidas Sobre Direito do Mar de 1982 (SILVA, 2008).

Segundo Chang et al. (2014), o risco de vazamentos de óleo no mar levanta muitas questões de planejamento e políticas, da permissão ou proibição do aumento dos volumes de transporte de petróleo e para o desenvolvimento da capacidade de resposta e recuperação frente aos desastres potenciais de derramamento. Além disso, há a necessidade de informações sobre as consequências potenciais de derrames de petróleo.

Fingas (2011) colocou que grandes derramamentos de petróleo atraem muita atenção tanto do público quanto da mídia, e nos últimos anos, essa atenção criou uma consciência global sobre os riscos de vazamentos de óleo e os danos que eles podem causar ao meio ambiente. Uma porcentagem dos grandes incidentes com vazamento de óleo desde a década de 60 é relacionada a navios petroleiros. Entretanto, como observado nos dados da *International Tanker Owners Pollutions Federation* (ITOPF) (2016) apresentados na figura 2, as ocorrências desses eventos indesejáveis têm diminuído.

Figura 2– Número vazamentos de óleo associados a navios (maior que 700 toneladas) entre 1970 e 2015.



Fonte: Adaptado de ITOPF (2016).

O primeiro acidente que trouxe para a comunidade internacional a extrema gravidade dos derramamentos de óleo no mar foi o desastre envolvendo o petroleiro liberiano Torrey Canyon, em 18 de março de 1967 que bateu em rochas na costa da Cornualha, na Inglaterra.

Como resultado, mais de 120.000 t de petróleo bruto foram derramados no oceano. Segundo Pietraszek (1967), nunca um desastre de petroleiro no mar havia deixado repercussões tão devastadoras para o próprio mar ou para as costas adjacentes. A poluição por óleo causada por este evento estendeu-se por uma distância de 120 milhas ao longo da costa da Cornualha e 80 km ao longo da costa francesa no lado oposto do Canal da Mancha.

As populações residentes de organismos marinhos e aves marinhas dessas costas sofreram danos em seus organismos. Estima-se que o ecossistema levou 6 anos para se recuperar. Entretanto, o acidente mais grave com um petroleiro ocorrido nos mares europeus foi o que envolveu o Amoco Cadiz em 17 de março de 1978, na costa da Bretanha, na França quando mais de 230.000 t de óleo fluíram para o mar (ROGOWSKA; NAMIESNIK, 2010).

O quadro 2 apresenta um histórico resumido de importantes derramamentos de óleo que ocorreram até o ano de 2003 no mundo, incluindo o acidente da Baía de Guanabara no Brasil. Esses eventos geraram repercussões que implicaram normativas e/ou em acordos internacionais com vistas à prevenção de acidentes correlatos.

Quadro 2– Histórico resumido de vazamentos de óleo entre 1966 e 2003.

Acidente	Data	Tipo de óleo	Volume Vazado (ton)	Localização (país)	Coordenadas		Áreas Contaminadas	Estratégias de Resposta	Repercussão
					Latitude	Longitude			
Torrey Canyon (NOAA, 2016a)	18/03/1967	Petróleo cru	120.000	Inglaterra	50° 03'N	4° 44'W	Costas inglesa e francesa	Queima in situ	CLC/69
								Dispersantes químicos	FUND/71
									MARPOL 73
Argo Merchant (NOAA, 2016b)	15/12/1976	Óleo combustível venezuelano	28.000	Estados Unidos	41° 02'N	69° 27'W	Não houve toque na linha de costa	Queima in situ	MARPOL 73/78
Amoco Cadiz (CEDRE, 2016a)	16/03/1978	Petróleo cru e Bunker C	230.000	França	48° 35'N	04° 43'W	320 km de praias na França	Dispersantes químicos	PLANO POLMAR (1978)
								Biorremediação	CEDRE (1979)
									PARIS MOU (1983)
Exxon Valdez (CEDRE, 2016b)	24/03/1989	Petróleo cru	38.500	Estados Unidos	60° 50.33'N	146° 52.98'W	800 km de áreas costeiras e ilhas do Alaska	Dispersantes químicos	OPA 90
								Queima in situ	OPRC 90
Erika (CEDRE, 2016c)	12/12/1999	Óleo combustível pesado	20.000	França	47° 07'N	03° 48'W	Costa francesa	Contenção e recolhimento	
								Biorremediação	
Prestige (NOAA, 2016c)	19/11/2002	Óleo combustível pesado	63.000	Espanha	42° 19'N	12° 19'W	1900 km de áreas costeiras de 6 países	Contenção e recolhimento	ALTERAÇÕES PACOTES ERIKA I e II (2003)
								Limpeza de Praia	
Baía de Guanabara (CALIXTO, 2011)	18/01/2000	Óleo combustível marítimo (MF-380)	1.300	Brasil	22° 44' 28"S	43° 14' 05"W	Áreas ao redor da Baía de Guanabara	Contenção e recolhimento	LEI N°9966/2000
								Limpeza de Praia	
								Biorremediação	

Fonte: Adaptado de Noronha et al. (2018).

Como consequência do acidente com o Exxon Valdez, foi elaborada em 1990 a Convenção Internacional sobre Reparação, Resposta e Cooperação para Poluição por Óleo (OPRC 90) solicitando que seus signatários estabelecessem medidas para lidar com vazamentos de óleo tanto em nível nacional quanto em cooperação com outras nações. A OPRC 90 também define a necessidade de Planos de Emergência

a bordo de navios e plataformas que devem estar integrados com planos de emergência nacionais. Também demanda que todo e qualquer incidente de poluição seja comunicado as autoridades marítimas, que sejam mantidos estoques de equipamentos de resposta e que sejam realizados exercícios simulados frequentes (IMO, 2014).

O acidente do Prestige fez com que a comissão europeia acelerasse o estabelecimento da Agência Europeia de Segurança Marítima (EMSA) e demonstrou que havia poucas embarcações de combate a vazamentos de óleo na Europa, levando a EMSA a criar uma rede de embarcações e outros recursos para ajudar os Estados-Membros a lidar com a poluição por navios (LUOMA, 2009). Na época, eles previam que em 2009 haveria uma frota abrangente de embarcações recolhedoras de óleo (OSRV, Oil Spill Response Vessels) disponíveis em todas as principais áreas marítimas europeias (EMSA, 2009 apud LUOMA, 2009).

Sabe-se que, no Brasil, o marco histórico relacionado ao surgimento de políticas de meio ambiente que tratam de derrames de petróleo e seus derivados nos ecossistemas aquáticos foi o vazamento de óleo ocasionado por um oleoduto da Petrobras na Baía de Guanabara-RJ (CETESB, 2009 apud FONSECA, 2009). Conforme analisa Calixto (2011), a estrutura de planos de resposta às emergências no Brasil se desenvolveu, principalmente, a partir desse incidente, com a promulgação da Lei nº 9966/2000 que dispõe sobre a prevenção, o controle e a fiscalização da poluição causada por lançamento de óleo e outras substâncias nocivas ou perigosas em águas sob jurisdição nacional (BRASIL, 2000).

### 3.2 CONTAMINAÇÃO ASSOCIADA AO PETRÓLEO

A exploração de petróleo envolve etapas operacionais, incluindo exploração, extração, refinamento e transporte. A extração é responsável por trazer hidrocarbonetos naturais como o petróleo bruto, à superfície e, para esta atividade, existem vários métodos, como por exemplo, bombeamento mecânico, bombeamento hidráulico e uso de ácidos. Todos esses processos produzem graves danos ambientais, incluindo desmatamento e poluição do ar, da água e do solo (RAMIREZ *et al.*, 2017).

Segundo Ramirez *et al.* (2017), a fase de exploração, que determina a localização e o tamanho das reservas de petróleo, é a fase em que várias extrações são realizadas diariamente para avaliação do produto. Os resíduos são colocados

em piscinas e em outros casos são queimados; isso gera uma grande parte dos resíduos e aumenta o impacto nos ecossistemas próximos e na saúde das populações vizinhas (BRAVO, 2007). Além disso, países como México, Taiwan, Finlândia, Áustria, Espanha, entre outros, expressaram preocupação com o impacto do petróleo bruto em seus ecossistemas e habitantes (MALDONADO; NARVAEZ, 2003; SHCROEDER *et al.*, 1999).

Os compostos presentes no petróleo podem bioacumular nas cadeias alimentares e interromper as atividades bioquímicas ou fisiológicas de muitos organismos, causando carcinogênese de alguns órgãos, mutagênese no material genético e prejuízo na capacidade reprodutiva na população exposta (ONWURAH *et al.*, 2007).

Esses poluentes entram em contato direto com a natureza na forma de grandes emissões atmosféricas, geração de resíduos e efluentes que poluem o ar, a água e o solo, além da biota associada a esses meios (BRAVO, 2007; RICO *et al.*, 2007). As pessoas que vivem em pequenas comunidades espalhadas ao longo dos rios que recebem resíduos da indústria de petróleo, por exemplo, usam animais que vivem nessa água como fonte de alimento, bem como para facilitar o crescimento das plantações, embora esta água contenha hidrocarbonetos aromáticos polinucleares (PAH) em 10 a 10.000 vezes maior do que as diretrizes da EPA dos EUA (HURTIG; SEBASTIAN, 2002).

O óleo cru ou seus componentes podem percorrer várias rotas para entrar em contato com o corpo humano, incluindo i) absorção pela pele; ii) ingestão de alimentos e bebidas; e iii) inalação pela respiração. A exposição ao óleo não se limita à área próxima à poluição. Os componentes mais pesados tendem a depositar sedimentos onde podem contaminar fontes de água repetidamente ou ser consumidos por organismos que podem entrar na cadeia alimentar humana. (RAMIREZ *et al.* 2017).

Além disso, a crescente demanda por produtos petrolíferos resultou em uma busca contínua por novos campos de petróleo em terra e no mar e por métodos cada vez mais baratos e rápidos de levar produtos petrolíferos aos mercados. Conseqüentemente, petroleiros cada vez maiores para transportar o petróleo estão sendo projetados e construídos e o tráfego deles ao longo das rotas marítimas internacionais está se tornando cada vez mais pesado (ROGOWSKA; NAMIESNIK, 2010).

O primeiro superpetroleiro de alto mar começou a operar no início dos anos 1950. Em 1959, o primeiro navio-tanque com capacidade maior do que 100.000 t foi lançado e o maior navio-tanque de todos os tempos - o Jahre Viking (564.763 toneladas de peso morto (DWT)) - começou a operar em 1979 (WIEWIÓRA *et al.*, 2007). Estima-se que de 1914 a 1953 a tonelagem de transporte marítimo fluido-combustível aumentou de 1,51 a 81 milhões de toneladas de registro de bruto (BRT) (BORAKOWSKI, 1955). Dos 71.929 navios em serviço em alto mar em todo o mundo em 2007, mais de 11.000 eram petroleiros dedicados ao transporte de petróleo e produtos químicos, com uma tonelagem bruta combinada (GT) de 232.757.000. Quase 10% de todos os petroleiros tinham um GT de 60.000 cada, e 16% tinham um GT entre 25.000 e 60.000 cada (EMSA, *The European Maritime Safety Agency*, 2009).

Embora o transporte marítimo esteja entre as formas mais sustentáveis de transportar mercadorias, ele tem efeitos negativos que incluem: operação regular do navio - resíduos produzidos e lançados na água / atmosfera, limpeza de tanques de óleo, recarga em portos etc.; e eventos excepcionais como colisões, acidentes, encalhes de navios, vazamentos acidentais (EMSA, 2009).

Um total de 4.999 derramamentos de óleo foram relatados entre 1974 e 2008 (de acordo com o banco de dados da ITOPF (2009)), resultantes de operações como carregamento, descarregamento ou abastecimento de óleo; apenas 0,6% destes foram grandes derramamentos (> 700 t). Colisões e encalhes foram as causas mais importantes de tais derramamentos. O número total de derramamentos de óleo resultantes de tais acidentes, durante o período de 1974-2008, foi de 4.369, dos quais > 7% foram classificados como grandes derramamentos (> 700 t), 18% como derramamentos médios (7-700 t), e quase 75% como pequenos derramamentos (<7 t) (ITOPF, 2009).

Segundo Rogowska e Namiesnik (2010), embora a principal fonte de poluição marinha por óleo seja a operação de navios, a maior ameaça resulta de acidentes com petroleiros ou do mau funcionamento de outras embarcações e plataformas de perfuração off-shore. Cada acidente envolvendo um petroleiro pode poluir tanto as águas quanto as áreas costeiras adjacentes (Badkowski, 1977). A quantidade de óleo que vaza de uma embarcação após um acidente pode chegar a centenas de milhares de toneladas.

### 3.3 DERRAMAMENTO DE PETRÓLEO NO LITORAL DO BRASIL EM 2019

#### 3.3.1 Origem

O óleo encontrado no litoral brasileiro é oriundo de uma mistura de petróleo cru extraído do Cinturão do Orinoco – Venezuela, segundo investigação feita pela Polícia Federal. A conclusão foi feita através da análise das características e procedências do óleo, além de estudos feitos para detectar o local exato do vazamento através da análise de imagens de satélites e simulações. Além disso, a cooperação nacional e internacional com apoio da Interpol, gerou uma base em dados, documentação e informações (VLADIMIR PLATONOW, 2021).

A Polícia Federal cumpriu, no início do mês de outubro de 2019, mandados de busca e apreensão na Lachmann Agência Marítima, representante do navio-tanque Bouboulina. Em 15 de julho, o navio-tanque grego atracou no Puerto José, na Venezuela, onde foi carregado com 1 milhão de barris de petróleo tipo Merey 16 cru. O navio deixou a costa venezuelana rumo ao sudeste e chegou à costa brasileira, passando pelo Amapá. O sistema de rastreamento da embarcação confirmou a passagem pelo ponto de origem do óleo e evidenciou que o navio fez uma parada na África do Sul. Além disso, a Petrobras emitiu um relatório interno que afirma que as manchas que poluíram praias do Brasil são uma mistura de óleos da Venezuela (CAMILA COSTA, 2019).

#### 3.3.2 Panorama

No final de agosto de 2019 foram identificados pontos de contaminação por petróleo cru na costa do nordeste brasileiro (Figura 3). Em 30 de agosto, o Instituto Brasileiro de Meio Ambiente – Ibama, realizou investigação sobre localidades com avistamento de oleada/vestígios esparsos.

Figura 3– Imagens da presença de óleo após acidente de 2019. (A) Presença do óleo em Alagoas. (B) Presença do óleo em rede de pesca em Pernambuco. (C) Presença do óleo no Maranhão. (D) Presença do óleo no Rio Grande do Norte.



Fonte: Ibama (2019).

Dados atualizados até 27/10/2019, publicados pelo IBAMA, indicam que a investigação retrospectiva concluiu que a primeira localidade afetada no Nordeste foi a Praia de Gramame no Município do Conde na Paraíba (Latitude: 07° 14' 57.81" S | Longitude: 34° 48' 20.65" W) e a última localidade até 27/10 foi Ilhéus na Praia de Cururupe (Latitude: 14°52' 52.93" S | Longitude: 39° 01' 20.89" W). A figura 4 apresenta, de forma cronológica, o acometimento do óleo nessas localidades.

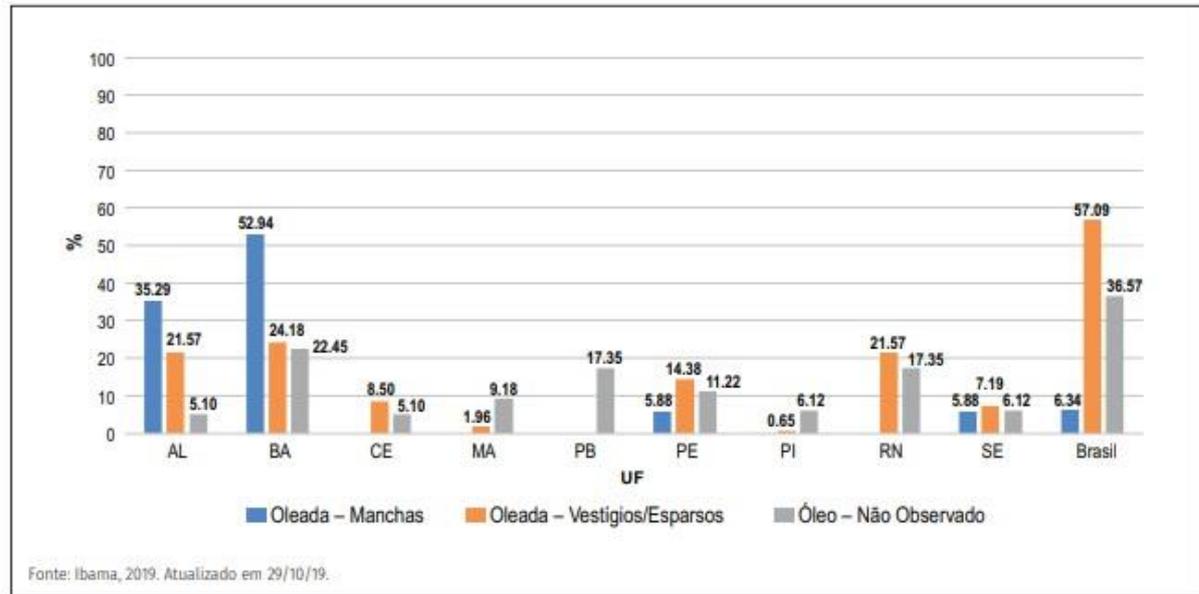
Figura 4– Ordem cronológica do avistamento do óleo no litoral do Nordeste no acidente de 2019



Fonte: Boletim Epidemiológico - SVS (2019).

Nos nove estados da região Nordeste, 153 municípios são litorâneos, onde 94 apresentam registro de localidades que foram de alguma forma afetadas. Em 6% (n=17) destas localidades foram identificadas manchas oleadas; em 37% (n=98) não foram observadas manchas; e em 57% (n=153) foram identificados vestígios esparsos, totalizando 268 localidades afetadas nos 94 municípios (IBAMA, 2019), como pode ser observado detalhadamente na figura 5.

Figura 5– Localidades Afetadas pelo Petróleo - Última Atualização em 29/10/2019



Fonte: Boletim Epidemiológico - SVS (2019).

A operação de resposta ao desastre foi coordenada pelo Grupo de Acompanhamento e Avaliação (GAA), composto pela Marinha, IBAMA e Agência Nacional de Petróleo (ANP), conforme estabelecido no Decreto nº 8.127, de 22 de outubro de 2013, que institui o Plano Nacional de Contingência para Incidentes de Poluição por Óleo em Águas sob Jurisdição Nacional, e a estrutura de governança Boletim Epidemiológico - SVS (2019). De acordo com o Decreto nº 8.127/2013, são competências do Ministério da Saúde:

A. mobilizar o Sistema Único de Saúde - SUS, para atuar em apoio às ações de prevenção, preparação e resposta;

B. apoiar o Comitê Executivo e o Grupo de Acompanhamento e Avaliação na proposição de diretrizes para a implementação do PNC, quanto aos aspectos de prevenção, preparação e resposta;

C. apoiar o Comitê Executivo e o Grupo de Acompanhamento e Avaliação na definição dos componentes do Sisnóleo necessários à execução de ações de prevenção, preparação e resposta;

D. orientar e apoiar as esferas de gestão do SUS na definição, execução, avaliação e monitoramento das ações de prevenção, preparação e resposta.

### 3.3.3 Riscos à saúde humana

A presença do petróleo no ambiente nem sempre levará à exposição da população, em especial aos compostos mais tóxicos (hidrocarbonetos aromáticos) que apresentam alta volatilidade, mas pode ocorrer. Os efeitos à saúde humana por exposição ao petróleo dependem de fatores como: característica físico-química do produto, via de exposição, tempo de exposição e susceptibilidade individual, podendo ocasionar diferentes manifestações clínicas nos indivíduos expostos (Secretaria de Vigilância em Saúde, 2019).

A princípio, o contato com o petróleo para esse desastre é eventual e de curto prazo, podendo ocorrer a exposição ao produto por contato dérmico, inalação ou ingestão e acarretando diversos sintomas como explicitados no Quadro 3 (Secretaria de Vigilância em Saúde, 2019).

Quadro 3– Formas de exposição humana ao óleo e possíveis sinais e sintomas no organismo.

<b>FORMAS DE EXPOSIÇÃO</b>	<b>SINAIS E SINTOMAS</b>
Contato dérmico	irritações na pele, rash cutâneo, queimação e inchaço
Inalação	sintomas respiratórios, cefaleia e náusea
Ingestão	dores abdominais, vômito e diarreia

Fonte: O autor (2021).

Cabe destacar que a maior probabilidade de exposição estava entre a população de trabalhadores e voluntários que atuaram na remoção do petróleo. Todo contato com o produto só deveria ocorrer com a utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPI), evitando o contato direto com a pele ou mucosa (Secretaria de Vigilância em Saúde, 2019), o que a princípio não aconteceu.

Neste material coletado, o composto de maior potencial de toxicidade à saúde humana, numa eventual exposição, foi o Benzeno. No entanto, sua concentração no petróleo pode variar de menos 0,5% a 4% do total, dependendo da origem do petróleo. Portanto, para uma exposição ao benzeno, como nesse desastre, considera-se que o risco seja baixo para a saúde humana. No entanto, segundo a literatura, caso ocorra intoxicação, a excreção da substância deverá ocorrer entre 24 a 48 horas pela urina (Boletim Epidemiológico – SVS, 2019).

Segundo dados preliminares coletados junto ao Centro de Informações Estratégicas em Vigilância em Saúde (CIEVS), as Vigilâncias municipais realizaram busca ativa junto às unidades de atendimento de saúde. Destas, somente a Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco (SES-PE) registrou notificações. Até a Semana Epidemiológica 43 (20 a 26 de outubro de 2019) foram notificados 19 casos suspeitos de intoxicação. Destes, 89% foram registrados em São José da Coroa Grande e dois em Ipojuca, municípios localizados no litoral sul do estado. Segundo o gênero, 59% são do sexo masculino, e os sintomas mais frequentemente relatados são cefaleia, náuseas e dispneia.

As vias de exposição mais frequentes foram as cutâneas e respiratórias. A maior parte dos casos relatam que utilizaram removedores não recomendados para a retirada do produto do corpo, como querosene, gasolina e outros removedores de graxa (Boletim Epidemiológico – SVS, 2019).

À medida em que as manchas e ondas impactantes e inesperadas de óleo bruto chegavam à costa do Nordeste, muitos voluntários locais se mobilizavam espontaneamente, tanto individual quanto coletivamente, movidos por forças humanitárias e ambientais para limpar as praias (Figura 6). Eram pescadores, residentes locais, estudantes, comerciantes, turistas e surfistas, todos expostos ao óleo, colocando em risco sua própria saúde.

Figura 6 - Participação de voluntários locais na remoção do óleo da praia de Itapuama, Pernambuco, Brasil



Fonte: Adaptado de ARAÚJO; RAMALHO e MELO (2020).

Nos primeiros dias, quando os poluentes começaram a chegar ao litoral, a maioria desses voluntários não tinha conhecimento sobre como lidar com o desastre, nenhuma orientação dos brigadistas, nem acesso a equipamentos de proteção individual (EPI). Para auxiliar os voluntários, diversos centros de doação de EPI, água e alimentos foram montados nas universidades e nas comunidades afetadas. Os métodos profissionais de limpeza de manchas de petróleo utilizados no litoral da Galícia, na Espanha (WHITFIELD, 2003), são radicalmente contrários ao verificado no desastre brasileiro.

Todas as pessoas que tiveram contato com essas substâncias químicas deveriam ter sido monitoradas, conforme orientação do Laboratório de Saúde, Ambiente e Trabalho, Fundação Oswaldo Cruz (Lasat-Fiocruz) (PACHECO *et al.*, 2014). De acordo com esta orientação, a maioria dessas substâncias é carcinogênica, seja por inalação, ingestão ou por contato direto, podendo provocar aborto espontâneo e alterações neurológicas, hepáticas, renais, dermatológicas, pulmonares e hematológicas (como leucemias) e até óbito.

Segundo o relatório da Secretaria Executiva de Vigilância Sanitária do Estado de Pernambuco, até a presente data, houve 149 casos suspeitos de intoxicação por petróleo (ARAÚJO; RAMALHO; MELO, 2020). Os casos sintomáticos foram principalmente neurológicos (cefaleia, náuseas, tonteira), cutâneos (irritação e manchas), respiratórios (dispneia, faringite) e digestivos (vômitos, diarreia, dor abdominal). Houve uma forte recomendação contra o uso das praias contaminadas ou o consumo de pescados e mariscos provenientes dessas regiões. Sobre as pessoas afetadas, o comunicado do Lasat alertava: “é muito importante que o Sistema Único de Saúde garanta o direito à atenção integral à saúde e a informação para sua proteção” (PACHECO *et al.*, 2014).

No que diz respeito à exposição de grande contingente de pessoas que trabalharam na tentativa de contenção ou remoção das manchas e resíduos do óleo no mar e na limpeza das praias, muitas das quais mantendo contato direto e sem qualquer proteção, o registro de casos humanos com manifestações clínicas agudas relacionadas a este tipo de exposição é relativamente pequeno. Entretanto, esses registros somente se referem aos casos que foram notificados ao Ministério da Saúde, o que pode não representar a totalidade de pessoas expostas que apresentaram alguma sintomatologia.

O Estado de Pernambuco reportou em torno de 90% das notificações, enquanto outros estados seriamente afetados pelo desastre não notificaram casos de intoxicação aguda (Boletim Epidemiológico – SVS, 2019). Embora não constem nos informes do setor saúde, de acordo com informações disponíveis nas mídias, os principais indivíduos expostos podem ser classificados em dois grupos: pessoas que trabalharam nas ações de contenção/remoção do óleo e limpeza das praias (voluntários, ONGs, profissionais de órgãos de meio ambiente e defesa civil) e os trabalhadores envolvidos na pesca artesanal (pescadores, marisqueiras e seus familiares).

Deve-se considerar também a exposição devido ao consumo de peixes e mariscos contaminados, assim como a exposição eventual de turistas e banhistas, embora o contato direto com os produtos das manchas de óleo tende a ser menor que para os demais grupos (CARMO; TEIXEIRA, 2020).

Tendo em vista as características do produto ao qual milhares de pessoas foram expostas, que é constituído de uma mistura complexa de hidrocarbonetos, associada a componentes extremamente tóxicos como Benzeno, Tolueno e Xileno (UFBA, 2019; ABRASCO, 2019), é necessário se considerar o risco de ocorrência de efeitos crônicos, especialmente em grupos populacionais mais vulneráveis (gestantes, idosos e crianças), conforme já descrito em estudos (CARMO; TEIXEIRA, 2020) sobre os efeitos dos desastres relacionados a derramamento de petróleo, de grandes dimensões, ocorridos em outros países, como no Golfo do México em 2010 e no Alasca, Estados Unidos, em 1989 (GOLDSTEIN *et al.*, 2011; MARTIN; PICOU, 2007), dos quais destacam-se os efeitos teratogênicos, neurológicos, carcinogênicos, psicológicos, entre outros.

Entretanto, uma estimativa mais precisa desse risco é de difícil mensuração no atual momento e depende de uma série de fatores, como a composição específica do óleo, eventuais modificações que ocorrem nesses produtos devido à exposição às condições atmosféricas e marítimas, a interação com outros elementos, o tempo de permanência do óleo no ambiente, as características e o período de tempo da exposição das populações, entre outros (Boletim Epidemiológico – SVS, 2019; GOLDSTEIN *et al.*, 2011).

### 3.4 BIOMONITORAMENTO

Os efeitos nocivos do petróleo cru em várias espécies da flora e fauna foram estudados extensivamente. No entanto, poucos estudaram os efeitos da exposição a este óleo na saúde humana.

Segundo Ramirez et al. (2017), indivíduos que moram próximos a campos ou poços de petróleo e ou participam de atividades de limpeza de derramamentos de óleo apresentam problemas de saúde, como irritação na pele, olhos, mucosas, danos renais, hepáticos, reprodutivos, entre outros. Outros estudos como os de Laffon *et al.* (2006) e Perez-Cadahía *et al.* (2006) sugerem ainda uma relação direta entre o dano ao DNA, por causa da exposição ao óleo, resultando em uma instabilidade genética das principais enzimas do metabolismo celular, bem como uma relação com alguns tipos de câncer, como a leucemia.

Os derramamentos de óleo cru afetam a saúde humana por meio da exposição a produtos químicos perigosos inerentes, incluindo parafenóis e benzeno volátil (URUM *et al.*, 2006; MERHI *et al.*, 2010). As principais consequências para a saúde da exposição ao derramamento de óleo cru incluem as anormalidades nas funções hematológicas, hepáticas, respiratórias, renais e neurológicas, assim, os indivíduos expostos ao óleo derramado experimentam frequentemente crises asmáticas, dor de cabeça, diarreia, tontura, dor abdominal, dor nas costas, entre outros sintomas (GOLDSTEIN *et al.*, 2011; LYONS *et al.*, 1999; JANJUA *et al.*, 2012).

Além dos sintomas adversos associados ao contato com o petróleo bruto já citados, outros estudos incluem alterações no humor e funções cognitivas (ISMAIL; LEWIS, 2006), problemas psicológicos (GILL; PICOU; RITCHIE, 2011), danos à saúde reprodutiva (TABACOVA; BALABAEVA, 1993a), comprometimento do trato respiratório (CAMPBELL *et al.*, 1993; LYONS *et al.*, 1999; ORDINIOHA; BRISIBE, 2013), câncer (YANG *et al.*, 2000), e problemas gerais de saúde (AGUILERA *et al.*, 2010; D'ANDREA; REDDY, 2013, 2014a).

Estudos epidemiológicos examinaram a associação entre a exposição aos poluentes do óleo e os impactos na gravidez, particularmente entre mulheres que vivem perto de indústrias petroquímicas. O benzeno, por exemplo, atravessa a placenta e pode prejudicar um feto em desenvolvimento (GOLDSTEIN *et al.*, 2011). A exposição a hidrocarbonetos de petróleo ou produtos petroquímicos pode induzir

aberrações cromossômicas em humanos (D'ANDREA; REDDY, 2014; PEREZ-CADAHÍA *et al.*, 2008a, b).

Atualmente, existem vários estudos sobre derramamentos de petróleo bruto em áreas costeiras (CAMPBELL *et al.*, 1993; LYONS *et al.*, 1999), mas na maioria desses estudos, as avaliações pós-impacto não destacam os efeitos de longo prazo na saúde humana sobre comunidades impactadas (ORDINIOHA; BRISIBE, 2013).

### **3.4.1 Contaminação por metais pesados**

Os metais pesados constituem um grupo amplo de agentes químicos: enquanto muitos deles são essenciais para o desenvolvimento de uma variedade de funções fisiológicas, outros, como o cádmio e o chumbo, não têm papéis bem reconhecidos ou são tóxicos, mesmo em baixas concentrações (THOMPSON; FURNESS; BARRETT, 1992; MERZENICH *et al.*, 2001). Além disso, muitos metais pesados se acumulam em vários compartimentos do corpo humano e têm taxas de excreção lentas (ELINDER *et al.*, 1994; HAYES, 1997). Portanto, em algumas circunstâncias, a exposição pode ser um problema de saúde pública.

Dentre o grande número de metais pesados presentes no meio ambiente e humano, vários se destacam por sua conhecida toxicidade e efeitos nocivos sobre os organismos vivos. Dentre eles, se destacam alumínio, cádmio e níquel, que são classificados como carcinógenos humanos (grupo 1) pela Agência Internacional para Pesquisa sobre Câncer (IARC); e chumbo, também classificado como possível carcinógeno humano (grupo 2B).

O alumínio e seus compostos são contaminantes comuns em alimentos e água. Embora nenhuma função biológica deste elemento tenha sido identificada, alguns aspectos da toxicidade do alumínio estão bem descritos (BERTHON, 1996; CORAIN *et al.*, 1996; REINKE; BREITKREUTZ; LEUENBERGER, 2003). Inclusive, foram avaliadas suas relações com alguns distúrbios hematológicos, como anemia microcítica, e distúrbios neurodegenerativos, como doenças de Alzheimer e Parkinson (BERTHON, 1996; CORAIN *et al.*, 1996; YOKEL, 2002). Também foi relatado que quantidades fisiologicamente relevantes de alumínio são capazes de induzir alterações nos processos de expressão gênica que podem favorecer respostas patogênicas e disfunção das células cerebrais (ALEXANDROV *et al.*, 2005).

O cádmio é um dos metais pesados mais tóxicos, capaz de gerar eventos mutagênicos e genotóxicos (WAALKES, 2003). A carcinogenicidade do cádmio e do níquel há muito foi reconhecida e os mecanismos de interação incluem a indução de danos oxidativos ao DNA (KASPRZAK, 1995; BAL; KOZIOWSKI; KASPRZAK, 2000) e alterações epigenéticas, como silenciamento de genes por mudanças nos padrões de metilação do DNA (KLEIN; COSTA, 1997; LUCH, 2005).

Devido a sua persistência no meio ambiente e aos efeitos sobre os humanos, a exposição ao chumbo há muito tempo é uma preocupação para a saúde pública. Em células eucarióticas, esse metal é geralmente genotóxico, embora os mecanismos sejam apenas parcialmente conhecidos; eles possivelmente envolvem danos indiretos ao DNA afetando a estabilização da cromatina, ou interação com processos de reparo (VAGLENOV *et al.*, 2001).

O zinco se destaca por ter alguns efeitos opostos aos outros metais: é liberado juntamente com neurotransmissores pelos neurônios, e os suplementos de zinco podem retardar a progressão da doença de Alzheimer (POTOCNIK *et al.*, 1997). Os efeitos protetores do zinco contra a toxicidade do cádmio e do chumbo também foram descritos (LEBLOND; HONTELA, 1999; NAMPOOTHIRI *et al.*, 2007).

Segundo Andreini *et al.*, 2008 e LI *et al.*, 2019, o cobre é um elemento químico traço metálico essencial para quase todas as formas de vida, desde os procariontes até os organismos eucariontes complexos, como mamíferos. Ele é usado como um cofator estrutural que impulsiona mudanças conformacionais nos fatores de transcrição para modular diferencialmente a expressão gênica (LI *et al.*, 2019). A desregulação da sua homeostase pode contribuir para o desenvolvimento de diversas patologias, como doenças metabólicas, cardiovasculares, neurodegenerativas e cancerosas, uma vez que as concentrações séricas de cobre estão estritamente relacionadas ao estresse oxidativo (BALSANO *et al.*, 2018).

Limbergerl *et al.*, 2020 afirma que o Fe é um elemento imprescindível ao cérebro humano, participando do transporte de oxigênio, da síntese de DNA e RNA, bem como da formação de mielina. No entanto, o acúmulo ou excesso desse elemento químico é extremamente danoso aos tecidos, uma vez que Fe livre promove a síntese de espécies reativas de oxigênio que são tóxicas e lesam proteínas, lipídeos e DNA (JOSEPH, 2019).

O Arsênio é um agente carcinogênico e causador de diversos efeitos múltiplos negativos na saúde humana por sua alta toxicidade, levando a casos graves de

intoxicação, principalmente a partir de água naturalmente enriquecida por minerais. (MEDINA-PIZZALI *et al.*, 2018).

Segundo Mehri, 2013 o Vanádio é um elemento provavelmente essencial para a saúde humana. Suas principais rotas de absorção são respiração e ingestão. A maior parte da ingestão desse elemento é excretada nas fezes, indicando que a acumulação desse elemento químico no organismo não é altamente prejudicial. Entretanto, efeitos tóxicos podem ocorrer como resultado de exposição em atividades industriais, tornando necessário o estudo dos seus efeitos na saúde humana.

As análises multielementares de oligoelementos em amostras biológicas são normalmente realizadas usando métodos espectrofotométricos de emissão. As técnicas mais comumente usadas incluem espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) (LEWEN; SCHENKENBERGER, 1999).

### **3.4.2 Análise de elementos traços**

A espectroscopia atômica tem como princípio analítico a propriedade dos átomos de emitirem ou absorverem radiação eletromagnética específica de cada elemento sob certas condições físicas. Para esta finalidade, é necessário liberar os elementos a serem investigados em uma amostra a partir dos seus compostos, geralmente pelo aumento de energia e torná-los disponíveis como partículas livres (SILVA, 2010).

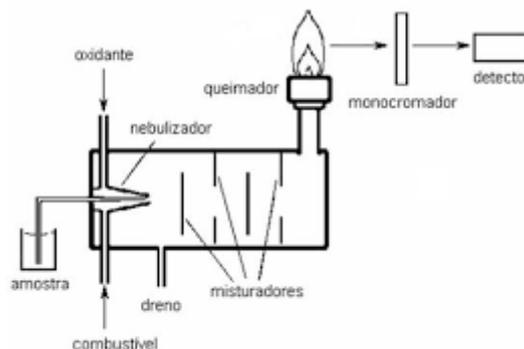
A técnica de F AAS aplica-se a uma grande faixa de metais, e é indicada para vários níveis de concentração (desde partes por milhão até porcentagem). Pode-se utilizar dois tipos de chama para atomização: uma mistura de ar e acetileno, para metais que se atomizam facilmente, ou uma mistura de acetileno e óxido nítrico, para metais mais refratários (SILVA, 2010).

Após a digestão da amostra, a solução analítica é aspirada para uma câmara de nebulização, e em seguida, para a chama de um queimador. Os átomos do elemento a ser analisado, presentes na névoa da solução amostral, absorvem a radiação monocromática fornecida por uma lâmpada de cátodo oco do metal de interesse. O detector mede a intensidade da radiação transmitida. O inverso da transmitância é então convertido logaritmicamente para absorbância, que é diretamente proporcional à densidade numérica de átomos no vapor. Através da

comparação do sinal obtido na leitura da amostra com uma curva analítica, é possível quantificar o metal (SILVA, 2010).

A espectrometria de absorção atômica de chama (FAAS), uma técnica popular com uma longa história, foi até recentemente amplamente utilizada para análise de traços de metais. O analito, geralmente presente em solução, primeiro deve ser atomizado em uma chama. As chamas de combustão pré-misturadas, uma mistura de combustível e gás oxidante, e as chamas de difusão, onde o combustível é também o gás carreador que queima em contato com o ar, são os tipos de chamas mais utilizados. A solução da amostra é aspirada através de um pequeno tubo e transportada para o nebulizador, onde é quebrada em um aerossol fino. Em seguida, o aerossol é levado à chama, por um gás carreador e decomposto em seus átomos individuais (Figura 7). O FAAS pode ser usado para a análise de um grande número de traços de metais em uma variedade de matrizes de amostra. A análise prévia, a preparação correta da amostra e o controle de interferências químicas, ionizantes e espectrais são considerações importantes sobre o método (LEWEN; SCHENKENBERGER, 1999).

Figura 7 – Esquema de funcionamento do espectrômetro de absorção em chama



Fonte: Lacerda (2016).

A Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (do inglês Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry, GFAAS), baseia-se no mesmo princípio que a FAAS, mas a atomização se faz por aquecimento eletrotérmico. Esta técnica é indicada quando se deseja quantificar baixíssimas concentrações (inferiores a  $100\mu\text{g/L}$ ) (WELZ; SPERLING, 1999). Apesar de oferecer limites de detecção muito baixos, sofre interferência de matriz, que pode ser minimizada com o ajuste das temperaturas e modificadores químicos (SANTOS, 2016).

Um pequeno volume da amostra pré-digerida (cerca de 20  $\mu\text{L}$ ) é transportado para dentro do tubo de grafite e a atomização ocorre com o aquecimento elétrico do tubo, em 3 estágios: dessolvatação (secagem da amostra, geralmente entre 90-120°C), pirólise (decomposição da matéria orgânica e moléculas inorgânicas – temperaturas superiores a 500°C) e atomização (etapa na qual os elementos são vaporizados, gerando átomos livres no estado gasoso) (SANTOS, 2016).

O vapor atômico resultante da atomização absorve a radiação monocromática, fornecida por uma lâmpada do metal. O detector fotoelétrico mede a intensidade da radiação transmitida. O inverso da transmitância é convertido logaritmicamente para absorbância, que é diretamente proporcional à densidade numérica de átomos no vapor, até uma faixa de concentração limite. A quantificação do metal se dá, com a comparação do sinal analítico obtido na leitura da amostra, com uma curva analítica (SANTOS, 2016).

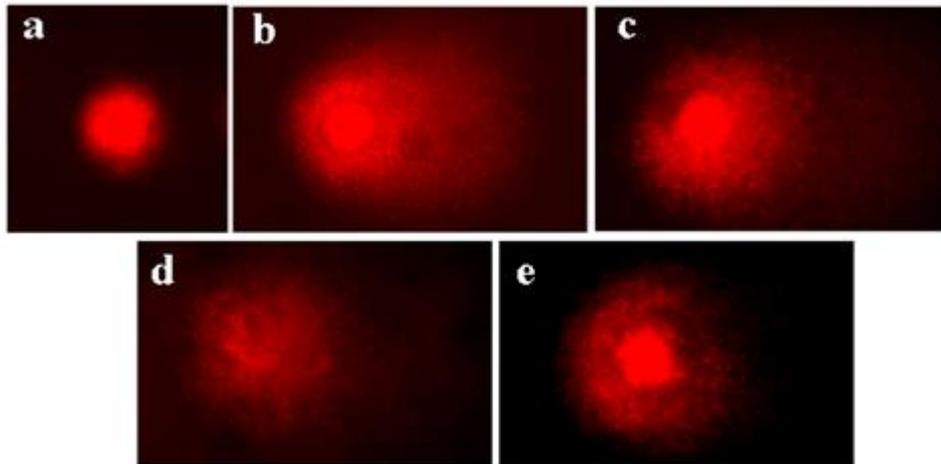
O gás de purga utilizado é o argônio, que além de servir como gás de arraste, mantém a atmosfera interna inerte, evitando a oxidação do forno (BEATY & KERBER, 1993; STM, 1998).

A técnica de GFAAS apresenta maior sensibilidade que a FAAS. Utiliza-se um forno de grafite para atomizar amostras quando seu tamanho é limitado ou se o analito estiver presente em pequenas quantidades. Alguns microlitros (tipicamente 20) da amostra são confinados em um forno de grafite, que é aquecido e a amostra é então submetida a alguns processos, tais como secagem, pirólise e atomização. Juntamente com a amostra podem ser adicionados modificadores químicos cuja finalidade é reduzir o efeito de possíveis interferentes (LEWEN; SCHENKENBERGER, 1999).

### **3.4.3 Análise de genotoxicidade**

O material genético pode ser um dos principais alvos dessa exposição ao óleo cru e seus derivados. Assim, é necessário realizar um estudo de genotoxicidade para identificar e definir a repercussão da exposição na saúde humana. Dentre os diferentes testes de genotoxicidade, o ensaio cometa (Figura 8) é relatado na literatura e selecionado para caracterizar o tipo de dano causado.

Figura 8– Cometas com diferentes classes de dano



Fonte: Aviello et al. (2011)

O ensaio do cometa é hoje um dos testes de genotoxicidade mais utilizados. Esta técnica é caracterizada por ser um método rápido, simples e sensível para detectar quebras de fita de DNA em células individuais. Sua versão alcalina permite a detecção de quebras de fita simples e dupla geradas por agentes genotóxicos e processos de reparo por excisão incompleta. Assim, o ensaio do cometa representa um complemento adequado ao teste citogenético MN, pois reflete um tipo de dano mais recente que poderia ser reparado.

## 4 METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Radiobiologia do Departamento de Biofísica e Radiobiologia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, em conjunto com os laboratórios de Dosimetria Biológica e de Análises Ambientais do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste – CRCN-NE. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE, sob o número de CAAE 43124621.0.0000.5208 e do parecer consubstanciado 4.598.131. (Anexo C)

### 4.1 SELEÇÃO DE DOADORES E COLETA DAS AMOSTRAS

Foram selecionados 29 indivíduos, incluindo, pescadores, marisqueiras e residentes, de ambos os sexos, maiores de 18 anos de idade, residentes da região da praia da Barra de Sirinhaém em Pernambuco. Foi realizada a busca dos indivíduos participantes do biomonitoramento por meio do contato com o presidente da Colônia de Pescadores de Pernambuco. A ajuda com o contato foi efetivada através de participantes do Conselho Pastoral da Pesca (CPP)<sup>1</sup> que mantém o cadastro de todas as Colônias.

Foi realizada uma reunião com os pescadores para esclarecer sobre o objetivo da pesquisa, sua metodologia e dos resultados esperados. Segundo o membro local da Colônia de Pescadores da zona 06 (Z06) - Barra de Sirinhaém. Após o contato e a apresentação foi realizado um questionário (Anexo A) com os principais dados sociodemográficos e epidemiológicos de cada indivíduo, bem como perguntas relacionadas à natureza do contato com o óleo, se por inalação, contato com a pele ou até mesmo ingestão. No questionário foi abordado também a frequência de ingestão de pescados, crustáceos e mariscos, após o aparecimento de resíduos, bem como se os pescadores mantiveram contato assíduo com ambiente marinho e no manguezal.

Após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo B) pelo voluntário (a), foi realizada uma coleta de 3,0 ml de sangue periférico de cada indivíduo, com a utilização de seringa. Em seguida foi colocado 1 ml em tubos heparinizados para o ensaio cometa e os 2 ml restantes divididos por igual em dois

---

<sup>1</sup> Disponível em: <<http://www.cppnacional.org.br/>>

tubos Falcon de 50 ml, contendo cada um 4 ml de ácido nítrico. As amostras de sangue, após a coleta, foram mantidas sob 4°C de refrigeração e encaminhadas para realização do ensaio cometa e para a quantificação dos elementos químicos.

## 4.2 ENSAIO COMETA

O ensaio cometa foi realizado como descrito por Singh et al. (1988), com modificações. Linfócitos obtidos de sangue periférico humano foram avaliados quantos aos efeitos genotóxicos após exposição ao petróleo e seus constituintes.

### 4.2.1 Montagem das lâminas

Cerca 100 µl de sangue periférico foi homogeneizado em 100 µl de agarose de baixo ponto de fusão 0,5% (Sigma-aldrich) dissolvida em tampão fosfato alcalino (PBS) a pH 7,4. Imediatamente, este homogenato foi colocado sobre uma lâmina de microscópio, previamente coberta com uma camada de agarose de ponto de fusão normal 1,5% (Sigma-aldrich) dissolvida em PBS (pH 7,4), coberto com lamínula e mantido a 4 °C (10 minutos). Em seguida, as lamínulas foram retiradas e as lâminas incubadas em solução de lise (NaCl 2,5 M, EDTA 100 mM, Tris 10 mM, Triton-X 100 1% e DMSO 10%, pH 10,0) por 12 horas a 4 °C.

Após o processo de lise, as lâminas foram colocadas em uma cuba de eletroforese horizontal contendo solução de tampão alcalino, pH 13,0 (EDTA 1 mM e NaOH 300 mM), por 20 minutos. Posteriormente, a eletroforese foi iniciada durante 20 min (4 °C) a 0,74 V/cm e 300 mA. Ao final, as lâminas foram neutralizadas com tampão Tris 0,4 M (pH 7,5) por 15 minutos e fixadas com álcool absoluto por 10 minutos.

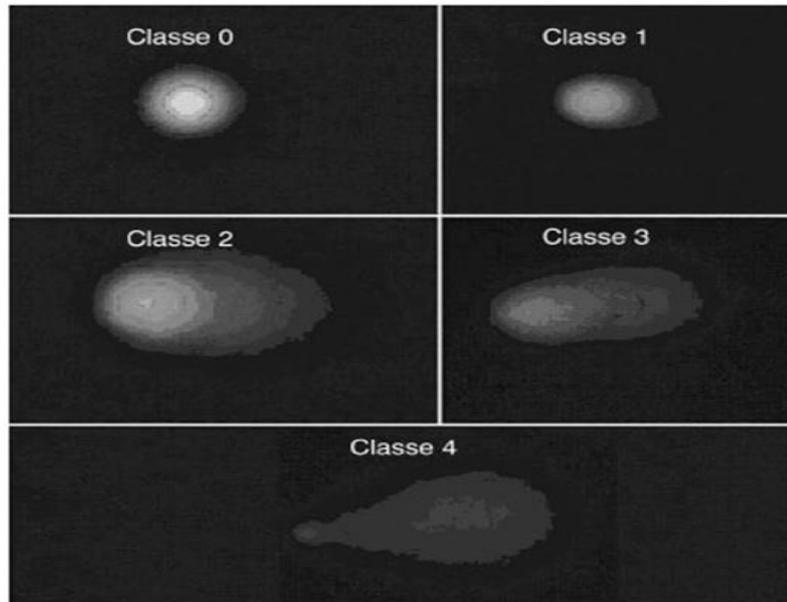
### 4.2.2 Análise microscópica

As lâminas foram coradas com 50 µl de uma solução de SYBR safe (Invitrogen) (1:500). Foram analisados 100 cometas por indivíduo, em microscópio de fluorescência (Nikon H550L), em aumento de 400x, com um filtro de excitação de 450-490 nm, filtro de emissão de 500-550 nm e um filtro de barreira de 495 nm.

A análise visual dos danos ao DNA foi realizada por um examinador de acordo com a metodologia de Collins et al. (2008). Os nucleóides foram divididos em 5 classes de dano ao DNA (0 a 4), dependendo da extensão do dano, como

demonstrado na figura 9. A classe 0 indica que não ocorreu danos, já as classes de 1 a 4 indicam danos em níveis crescentes sobre o material genético.

Figura 9 – Imagens classificadas de acordo com a intensidade de fluorescência na cauda do cometa



Fonte: Collins et al. (2008)

#### 4.2.3 Análises dos resultados

Para avaliar o grau de dano ao DNA, foram utilizados o Índice de Dano (ID) (1) e a Frequência de Dano (FD) (2), para calcular a porcentagem de todos os cometas danificados (classe 1 a classe 4) em relação ao total de cometas contados como parâmetro.

$$ID = 0. (n_0) + 1. (n_1) + 2. (n_2) + 3. (n_3) + 4. (n_4) \quad (1)$$

Onde:

n = Número de cometas quanto a classe (0, 1, 2, 3 e 4)

$$FD (\%) = \frac{[(N_T - N_0).100]}{N_T} \quad (2)$$

Onde:

FD (%) = Frequência de danos.

$N_T$  = Número de cometas total.

$N_0$  = Número de cometas na classe 0.

### 4.3 QUANTIFICAÇÃO DOS ELEMENTOS TRAÇOS

#### 4.3.1 Preparação das amostras

Para a análise dos elementos traço, 2ml de sangue foram adicionados a 8ml de  $\text{HNO}_3$  a 2% para liberação do elemento químico que esteja ligado à proteína com a finalidade de eliminar e/ou reduzir interferências, visto que o sangue é rico em material orgânico (PLOMBLUM, 1997). As amostras foram preparadas no Serviço de Análises Ambientais do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste (CRCN-NE).

Posterior ao tratamento químico com  $\text{HNO}_3$  a 2%, as amostras de sangue passaram por um banho térmico (banho maria ultrassônico Elma Elmasonic P 180H) com temperatura constante de  $80^\circ\text{C}$  e ultrassom na frequência de 37 kHz e 80 kHz por 3 horas (Figura 10).

Figura 10 – Banho térmico utilizando banho maria ultrassônico Elma Elmasonic P 180H



Fonte: O autor (2021).

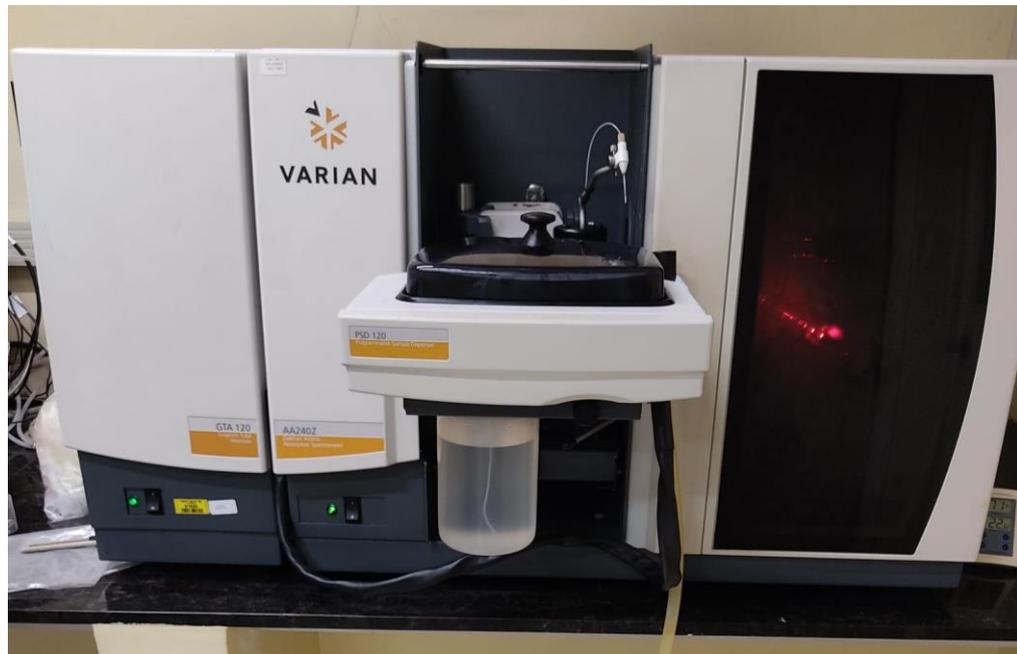
Quando atingiram o equilíbrio térmico, as amostras permaneceram em temperatura ambiente até o esfriamento. Em seguida, os dois tubos com a amostra de um doador foram unidos em um único tubo Falcon, adicionando-se 2 ml de água ultrapura (Milli-Q; resistividade maior que  $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$  à  $25^\circ\text{C}$ ).

Todo o conjunto foi pesado novamente e armazenado sob refrigeração até a análise.

#### 4.3.2 Análise por Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite (GFAAS)

Para a quantificação dos elementos químicos Al, As, Cd, Cu e V nas amostras de sangue, utilizou-se o espectrômetro de absorção atômica VARIAN AA240Z com forno de grafite GTA 120 (Figura 11). As leituras foram realizadas em triplicata, utilizando solução-padrão multielementar feita no laboratório para a obtenção de curva analítica, de acordo com elemento químico a ser analisado. Soluções independentes dos elementos químicos foram preparadas para avaliar a exatidão e a precisão da curva analítica.

Figura 11 - Espectrofotômetro de absorção atômica VARIAN AA240Z (Zeeman) com forno de grafite GTA 120.



Fonte: O autor (2021).

A solução de verificação de cada elemento foi feita a partir da pipetagem dos materiais de referência para tubos Falcon de 15ml, seguindo a ordem: prata, alumínio, arsênio, cádmio, cobalto, manganês, molibdênio, níquel, chumbo e vanádio. Foram aliqüotados cerca de 100  $\mu$ l de cada material de referência para seus respectivos tubos (exceto para alumínio que requer 400  $\mu$ l

do material de referência), seguindo para pesagem. Posteriormente, adicionou-se o ácido destilado a 33% até a marca de 14 ml de cada tubo, pois o ácido nítrico aumenta a densidade completando o volume final de 15 ml.

A solução-padrão multielementar foi obtida por meio da junção das soluções de verificação criadas para cada elemento nas seguintes quantidades: prata (200 µl) / alumínio (2ml) / arsênio (600 µl) / cádmio (200 µl) / Cobalto (100 µl) / manganês (300 µl) / molibdênio (1ml e 200 µl) / níquel (1 ml) / chumbo (2ml e 200 µl) e vanádio (1ml). Em seguida foi adicionado o ácido destilado a 33% para completar o tubo até 15 ml.

O aparelho foi calibrado através de curvas de calibrações criadas para cada elemento por meio de uma solução Spike. Essa solução consiste em uma mistura de sangue humano com um padrão analítico criado para cada elemento por meio de material de referência com concentração conhecida.

Após a análise consecutiva de cada 10 amostras, foi feita a leitura do padrão analítico para validar a análise. O equipamento possui uma filtração abaixo de 10% de HNO<sub>3</sub> (ácido nítrico) para a limpeza da agulha que realiza a sucção dos analitos, levando ao forno de grafite. Alguns erros estão associados ao processo de leitura, como: interrupção do percurso da agulha, gotejamento fora do forno de grafite, variação da pressão do gás e variação de temperatura da água.

As análises das amostras sanguíneas foram realizadas conforme às condições recomendadas pelo fabricante. Os parâmetros referente ao comprimento de onda (nm), modificador de matriz, volume das amostras e a temperatura de atomização são explicitados na Tabela 1.

Tabela 1 - Parâmetros utilizados nas análises por GFAAS.

Analito	Comprimento de onda (nm)	Modificador de matriz	Amostra (µL)	Temperatura (°C)
Ag	328,1	-	16	2000
Al	396,2	-	16	2500
As	193,7	Ácido ascórbico; solução de Pd	16	2600
Cd	228,8	-	16	1800
Cr	357,9	Ácido ascórbico; solução de Pd	16	2600
Cu	327,4	-	16	2300
Mg	285,2	-	16	2200
Mn	279,5	-	16	2400
Ni	352,5	-	16	2400
Pb	283,3	-	16	2100

Fonte: Agilent Technologies (2019).

#### 4.3.3 Análise por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (FAAS)

A quantificação de Fe e Zn nas amostras de sangue foi realizada por meio do equipamento VARIAN AAS 220 FS (Figura 12). As leituras foram executadas em triplicata, utilizando solução-padrão construída no laboratório para a obtenção de curva analítica. Assim como ocorreu para GFAAS, foram utilizadas soluções independentes para avaliar a precisão e a exatidão do método analítico.

Figura 12 – Equipamento SpectrAA 220 da Varian/Agilent



Fonte: O autor (2021).

Para a realização da análise, foram utilizadas as condições analíticas referentes a corrente da lâmpada de cátodo de 10 mA, comprimentos de onda de 372 e 360,1 nm para Fe e Zn, respectivamente, diâmetro da janela de 0,2 nm e o gás combustível acetileno e combustível ar.

Após as quantificações dos analitos, os resultados de concentração de elementos químicos foram compilados em planilha Excel da Microsoft para o cálculo das concentrações e estimativa das incertezas analíticas associadas aos resultados.

#### 4.3.4 Análise dos resultados

A incerteza analítica é o parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que podem ser atribuídos ao mensurando. As incertezas analíticas das medições por FAAS e GFAAS foram combinadas as incertezas individuais relativas à precisão (repetições analíticas) e à exatidão (desvio com relação ao valor obtido no material de referência desenvolvido) conforme Magalhães (2019), sendo expandidas em um nível de 95% de confiança.

Para validação do procedimento analítico, foram empregados os cálculos referentes ao Número En, definido como a diferença entre o valor obtido na análise da amostra e o valor certificado, dividido pela raiz quadrada da soma quadrática das incertezas analíticas expandidas conforme a equação 3. Em nível de confiança de 95%, a faixa adequada para os resultados de Número En dos materiais de referência foi entre -1 e 1, conforme recomendação da ISO 13528:2005 (ISO, 2005).

$$E_n = \frac{X_{obs} - X_{ref}}{\sqrt{U_{obs}^2 + U_{ref}^2}} \quad (3)$$

Onde:

$X_{obs}$  = valor observado

$X_{ref}$  = valor certificado para o material de referência

$U_{obs}$  = incerteza analítica expandida em nível de 95% de confiança para o valor observado

$U_{ref}$  = incerteza analítica expandida em nível de 95% de confiança do valor certificado para cada material de referência

A média aritmética, mediana, máximo e mínimo, assim como desvio padrão e coeficiente de variação dos analitos em amostras de sangue foram calculadas usando Microsoft Excel 365®. Foi aplicada a inferência bayesiana para o cálculo dos intervalos de credibilidade em nível de 95% para média e variância, buscando-se a definição do perfil de elementos químicos (FRANÇA, 2006).

Os testes estatísticos foram realizados, utilizando-se o programa R, para determinar possíveis diferenças significativas entre as médias das concentrações dos elementos. A comparação entre os elementos não pareados, cujos requisitos para aplicação do teste T-Student não foram cumpridos, foi realizada por meio do Teste de Mann-Whitney. O teste Qui-Quadrado também foi utilizado para comparar duas variáveis categóricas independentes entre si. A significância global do modelo de regressão linear múltipla foi obtida por meio do Teste F e o teste de Shapiro-Wilk foi empregado para avaliar a normalidade das correlações entre as variáveis dependentes e independentes. O estudo das possíveis correlações entre os elementos traços e os marcadores biológicos foi realizado por meio da análise multivariada, utilizando-se os testes F e de Shapiro-Wilk para a medida simultânea das variáveis.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 2 mostra a caracterização da população estudada, que consiste em 29 indivíduos voluntários da colônia de pescadores e marisqueiras da Z06 (Praia da Barra de Sirinhaém), bem como residentes da área.

Indivíduos de ambos os sexos, com idade entre 26 e 63 anos, que tiveram algum tipo de contato com o óleo e/ou consumiram pescados após o acometimento da região. Observa-se que houve uma predominância de voluntários do sexo feminino (82,8%) e dentro da faixa etária de 36 a 45 anos (31,0%). A prevalência foi de contato com o óleo na areia (48,3%) e de consumo de pescados de uma a duas vezes por semana (50%). Considerou-se como contato direto o que ocorreu diretamente na pele ou por inalação, sem uso de equipamentos de proteção individual (EPI's). O contato indireto foi definido como qualquer tipo de contato efetuado com o uso de EPI's.

Tabela 2 – Características da população de voluntários da Z06 (Praia Barra de Sirinhaém)

<b>Identificação</b>	<b>Indivíduos (n=29)</b>		<b>%</b>
<b>Sexo</b>			
Feminino	24		82,8
Masculino	05		17,2
<b>Faixa etária (10 anos)</b>			
26 – 35	06		20,7
36 – 45	09		31,0
46 – 50	08		27,6
>51	06		20,7
<b>Contato com o óleo</b>			
	Direto	Indireto	
Mar	05	01	20,7
Mangue	01	01	6,9
Areia	10	04	48,3
Rio	01	04	17,2
Não teve contato	02		6,9
<b>Consumiu pescados</b>			
Sim	20		69
Não	09		31
<b>Frequência (n=20)</b>			
1-2 vezes por semana	10		50
3-5 vezes por semana	05		25
Diariamente	02		10
1-2 vezes por mês	02		10
3-4 vezes por mês	01		5

Os dados analíticos da amostra populacional quanto ao gênero são apresentados na tabela 3. Os indivíduos foram separados de acordo com o gênero e avaliados quanto as variáveis, idade, contato com o óleo (direto, indireto, direto e

indireto (D/I) ou sem contato), consumo de pescados, hábito de fumar e consumo de álcool. Apesar do grupo amostral apresentar um n reduzido, não houve diferença entre as variáveis. A média da idade foi de 44 anos e a diferença em relação a essa variável foi analisada através dos testes estatísticos T-Student e Mann-Whitney. Ambos os testes apresentaram um p-value acima de 0,05, o que mostra que não houve uma diferença estatisticamente significativa entre a média das idades. A avaliação das demais variáveis foi feita através do Teste exato de Fisher e para todas elas não houve diferença estatística relevante (p-value > 0,05).

Tabela 3 – Comparação frente ao gênero

	Total	Gênero		p-value
		Feminino N (%)	Masculino N (%)	
<b>Total de indivíduos</b>	29	24 (83)	5 (17)	
<b>Idade</b>				
Média ± DP	44,38 ± 8,7	44,25 ± 9,28	45,00 ± 5,25	0,82 <sup>b</sup>
Mediana	45,00	45,50	44,00	0,98 <sup>c</sup>
<b>Contato</b>				
Direto	9	9 (31)	0 (0)	0,11 <sup>d</sup>
Indireto	5	3 (10)	2 (7)	
D/I	2	1 (3)	1 (3)	
Sem contato	13	11 (38)	2 (7)	
<b>Consumo de pescado</b>				1 <sup>d</sup>
Sim	20	16 (55)	4 (14)	
Não	9	8 (28)	1 (3)	
<b>Fumante</b>				
Sim	2	2 (7)	0 (0)	1 <sup>d</sup>
Não	27	22 (76)	5 (17)	
<b>Álcool</b>				
Sim	12	10 (34)	2 (7)	1 <sup>d</sup>
Não	17	14 (48)	3(3)	1 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Feminino versus Masculino

<sup>b</sup>Teste de T-Student

<sup>c</sup>Teste de Mann–Whitney

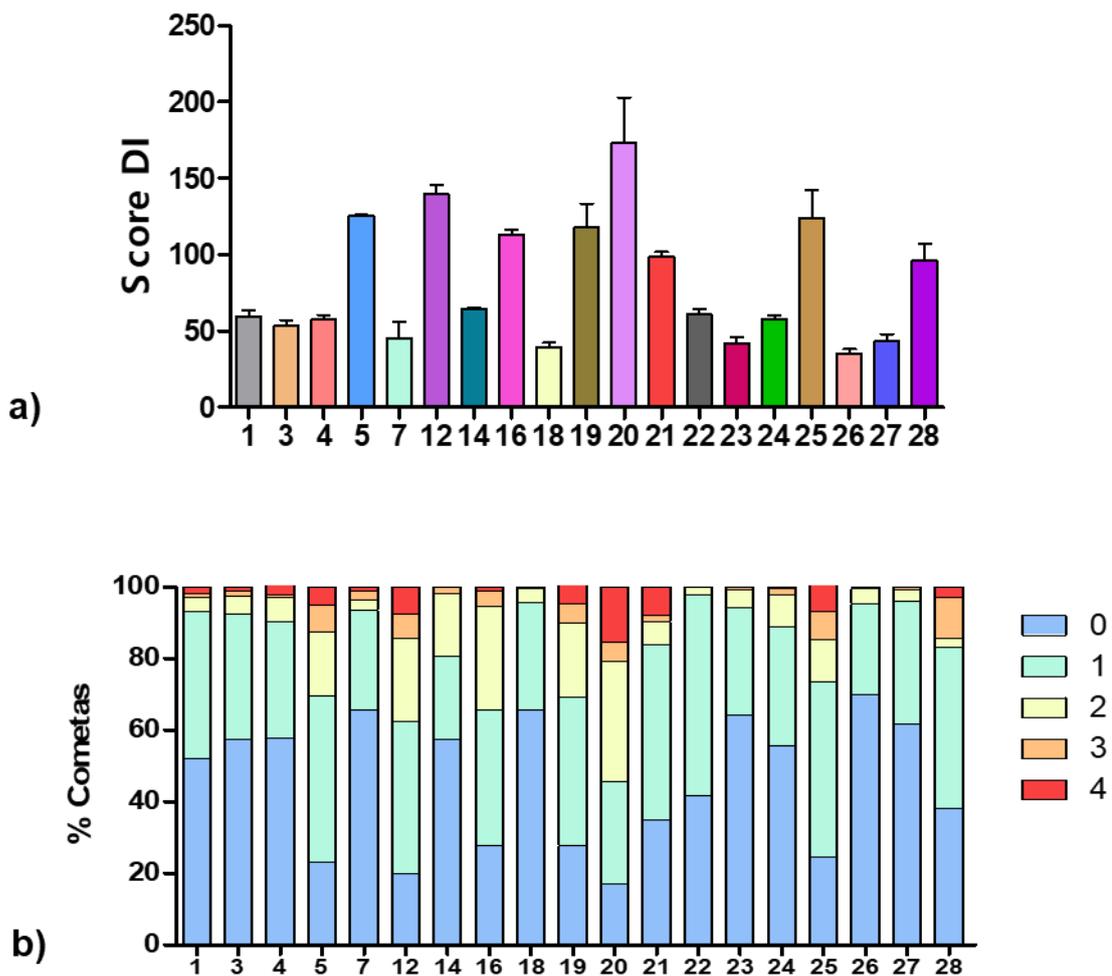
<sup>d</sup>Teste exato de Fisher

## 5.1 ENSAIO COMETA

As análises dos danos ao DNA de linfócitos das amostras de sangue dos indivíduos expostos ao óleo presentes nas praias de Barra de Sirinhaém podem ser observadas na figura 13a e b. Na figura 13a os indivíduos 5, 12, 16, 19, 20, 21, 25 e 28 apresentaram maiores índices de danos das amostras estudadas. O indivíduo que apresentou maior índice de dano foi o de número 20. De acordo com os dados do questionário, o mesmo não teve contato com o óleo, mas consumiu pescados na frequência de 1-2 vezes por semana. Levando em consideração que o indivíduo não

apresenta doenças crônicas, não consome bebidas alcoólicas e não é fumante, o aumento no índice de dano pode ser justificado pelo consumo de pescados contaminados. Entretanto, o mesmo comportamento não se replica para todos os outros participantes da pesquisa.

Figura 13 – Índice de danos no DNA de linfócitos dos voluntários (a) e Frequência de graus de danos no DNA de linfócitos dos voluntários (b)



Fonte: O autor (2022).

Ao analisar o gráfico da figura 13b observa-se diferentes níveis de danos (0, 1, 2, 3 e 4). Os graus 0 e 1 foram encontrados em todas as amostras estudadas e foram as de maior frequência. Estes graus representam uma predominância de nucleóides dos níveis 0 e 1, constatando nenhuma ou pouca fragmentação nuclear causada por agentes genotóxicos.

Nas amostras dos indivíduos 5, 12, 19, 20, 21, 25 e 28 e, principalmente na amostra do indivíduo 20, observou-se uma elevação no percentual de danos níveis 3 e 4 no DNA, sugerindo uma maior exposição a agentes genotóxicos. No entanto, entre esses sete indivíduos, apenas o 20 e o 28 não tiveram contato com o óleo e não fumam, tendo apenas o consumo dos pescados em comum. Os de número 19 e 21 não tiveram contato, mas fumam e 5, 12 e 25 tiveram contato com o óleo e consumiram os pescados, mas não fumam.

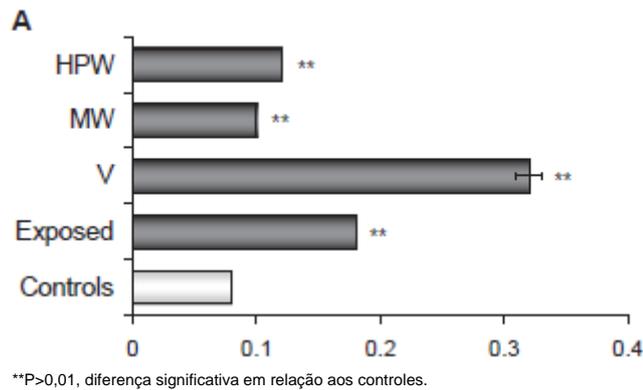
Pérez-Cadahfa *et al.* (2008b) fizeram o biomonitoramento da exposição humana ao óleo vazado do acidente envolvendo o navio Prestige. Neste estudo, foram avaliadas 100 células por doador (50 por lâmina replicada), utilizando o software QWIN Comet (Leica Imaging Systems, Cambridge, Reino Unido). A porcentagem de DNA na cauda do cometa (%TDNA) foi usada como parâmetro de dano ao DNA.

No entanto, os pesquisadores examinaram três grupos diferentes de indivíduos expostos ao óleo. Os grupos foram divididos em voluntários (V) n= 61 indivíduos envolvidos na coleta manual de óleo em março de 2003 durante 5 dias por 4 h/dia, 59 trabalhadores contratados (MW) que coletaram óleo de dezembro de 2002 a abril de 2003 por 6,5 h/dia e 60 trabalhadores contratados que empregaram máquinas de alta pressão (HPW) para limpar rochas de fevereiro a maio de 2003 por 6,5 h/dia (PÉREZ-CADAHFA *et al.*, 2008b).

O estudo apresentou níveis de dano de DNA significativamente aumentados para todos os indivíduos. Especialmente, o grupo V experimentou a variação mais perceptível, seguido pelo HPW (Figura 14).

Vale ressaltar que no referido trabalho a coleta das amostras foi realizada após cinco meses após o ocorrido. Enquanto que neste trabalho a coleta só pôde ser efetuada após dois anos e dois meses do acidente, devido ao advento da pandemia da COVID-19 que levou ao estado de quarentena, impossibilitando a realização da coleta imediata. Este atraso interfere na efetividade da detecção do dano pela técnica do cometa, visto que análise leva em consideração as quebras presentes na cauda das células e essas quebras podem se perder ao longo do tempo (COLIINS *et al.*, 2008).

Figura 14 – Efeito da exposição no dano ao DNA expresso como %TDNA (A)



Fonte: Adaptado de Pérez-Cadahfa *et al.* (2008b).

## 5.2 QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS E ANÁLISE DE GENOTOXICIDADE

As concentrações sanguíneas dos elementos que foram quantificados no sangue dos indivíduos e os marcadores biológicos analisados foram resumidos na tabela 4. A média e a mediana dos valores de ID e FD foram estabelecidas, bem como das concentrações obtidas de cada elemento para os 29 indivíduos.

Tabela 4– Concentrações de metais e marcadores biológicos

	Total	Gênero		p-value <sup>a</sup>
		Masculino (n=5)	Feminino (n=24)	
<b>ID</b>				
Média ± DP	85,19 ± 43,69	84,25 ± 55,22	85,39 ± 42,72	0,97 <sup>b</sup>
Mediana	64,00	58,33	79,00	0,97 <sup>c</sup>
<b>FD</b>				
Média ± DP	56,22 ± 18,71	53,50 ± 18,52	56,79 ± 19,20	0,76 <sup>b</sup>
Mediana	58,33	45,34	62,00	0,97 <sup>c</sup>
<b>Al (0,9-952µg/L)</b>				
Média ± DP	5139,72 ± 4717,33	8803,96 ± 6493,28	4343,15 ± 3991,23	0,97 <sup>b</sup>
Mediana	3151,18	6663,43	3064,31	0,26 <sup>c</sup>
<b>As (0-13,7µg/L)</b>				
Média ± DP	27,74 ± 15,31	31,31 ± 10,93	26,90 ± 16,33	0,54 <sup>b</sup>
Mediana	27,07	29,30	27,07	0,50 <sup>c</sup>
<b>Cd (0,5-2ng/mL)</b>				
Média ± DP	1,26 ± 0,48	1,15 ± 0,48	1,28 ± 0,48	0,59 <sup>b</sup>
Mediana	1,24	1,10	1,28	0,49 <sup>c</sup>
<b>Cu (70-155µg/dL)</b>				
Média ± DP	184,93 ± 22,50	171,58 ± 20,18	187,71 ± 22,33	0,16 <sup>b</sup>
Mediana	190,45	173,66	193,20	0,17 <sup>c</sup>
<b>Fe (60-180µg/dL)</b>				
Média ± DP	35,90 ± 4,42	40,97 ± 5,95	34,84 ± 3,30	0,08 <sup>b</sup>
Mediana	35,58	41,14	34,53	0,03 <sup>c</sup>
<b>V (0,02-0,1µg/L)</b>				
Média ± DP	9,04 ± 7,17	14,81 ± 13,28	7,39 ± 3,64	0,35 <sup>b</sup>
Mediana	7,05	9,08	6,22	0,15 <sup>c</sup>
<b>Zn (462,6-712,3 µg/100ml)</b>				
Média ± DP	679,03 ± 209,91	590,86 ± 145,66	697,39 ± 218,88	0,21 <sup>b</sup>

Mediana	672,64	640,64	687,32	0,29 <sup>c2</sup>
<sup>a</sup> Feminino versus Masculino				
<sup>b</sup> Teste de T-Student				
<sup>c</sup> Teste de Mann-Whitney				

As médias foram submetidas aos testes estatísticos de T-Student e Mann-Whitney. Nota-se que em alguns dos itens analisados, as médias e as medianas apresentaram valores discrepantes constatando que não houve uma homogeneidade da amostra, pois tiveram indivíduos com valores muito acima e muito abaixo.

Observou-se que não há influência do gênero para nenhum dos parâmetros analisados, confirmando que não há diferença estatística significativa (p-value >0,05). A única exceção é o p-value obtido pelo segundo teste para a concentração do Fe para o gênero feminino, no entanto, não se pode considerar apenas esse valor de forma isolada com a divergência do primeiro teste. Sabe-se que, pessoas do sexo feminino tendem a apresentar menores reservas de ferro em relação as do sexo masculino, devido ao fluxo menstrual (RODRIGUES; JORGE, 2010).

As concentrações de alumínio (Al) e vanádio (V) se apresentaram elevadas para todos, porém, embora a diferença entre os sexos não tenha sido acusada, o nível de ambos se encontra aproximadamente duas vezes mais elevado para os homens. As concentrações de cádmio e zinco apresentaram valores dentro dos limites de normalidade para todos.

Pérez-Cadahía *et al.* (2008a) relata concentrações de alumínio semelhantes entre homens e mulheres. Entretanto, a amostra populacional avaliada pela autora foi maior e mais homogênea. O estudo foi realizado com 179 indivíduos, sendo 92 homens e 87 mulheres.

Apesar da estatística não mostrar influência do sexo para os biomarcadores ID e FD na avaliação da amostra populacional deste estudo, Pérez-Cadahía *et al.* (2008b) encontrou influência do sexo nos seus resultados do ensaio cometa (p-value significativos). É possível que essa discrepância entre os resultados tenha ocorrido devido a diferença na amostra de estudo, visto que 38,7% dos indivíduos expostos avaliados pela autora eram do sexo masculino. Em contrapartida, neste

---

<sup>2</sup> Entre parênteses encontra-se valor da faixa de concentração esperada para cada elemento segundo Portugal (2022).

estudo, os indivíduos do sexo masculino representam apenas 10% daqueles que foram expostos.

A tabela 5 apresenta as possíveis correlações das concentrações dos metais quantificadas no sangue dos indivíduos, além dos valores obtidos para os marcadores biológicos, frente ao consumo de álcool, pescados e o contato com o óleo. Foi calculada a média e a mediana, utilizando-se a primeira para o estudo dessas correlações através dos testes estatísticos T-Student e Mann-Whitney.

Tabela 5– Concentrações dos metais pesados frente ao consumo de álcool, pescados e contato com o óleo

	Consumo de álcool			Consumo do pescado			Contato com o óleo		
	Sim (n=12)	Não (n=17)	p-value	Sim (n=20)	Não (n=9)	p-value	Sim (n=16)	Não (n=13)	p-value
<b>ID (36,25)</b>									
Média ± DP	95,57 ± 40,55	77,20 ± 45,91	0.32 <sup>a</sup>	92,70 ± 57,64	80,36 ± 33,49	0.86 <sup>a</sup>	97,46 ± 40,22	66,09 ± 44,12	0.10 <sup>a</sup>
Mediana	96,33	58,00	0.28 <sup>b</sup>	57,33	71,50	0.62 <sup>b</sup>	105,67	53,33	0.047 <sup>b</sup>
<b>FD (22,57)</b>									
Média ± DP	61,48 ± 16,85	52,17 ± 19,69	0.24 <sup>a</sup>	56,20 ± 23,16	56,23 ± 16,19	0.61 <sup>a</sup>	62,99 ± 16,86	45,69 ± 17,18	0.023 <sup>a</sup>
Mediana	64,50	42,67	0.28 <sup>b</sup>	42,67	60,17	0.66 <sup>b</sup>	68,67	42,67	0.06 <sup>b</sup>
<b>Al (0,9-952µg/L)</b>									
Média ± DP	5439,17 ± 4877,64	4915,14 ± 4741,64	0.78 <sup>a</sup>	5518,92 ± 5271,66	4894,36 ± 4474,42	0.56 <sup>a</sup>	4901,23 ± 3109,98	5414,90 ± 6215,51	0.79 <sup>a</sup>
Mediana	4014,85	2909,43	0.37 <sup>b</sup>	3224,93	3077,42	0.26 <sup>b</sup>	4638,10	2754,54	0.55 <sup>b</sup>
<b>As (0-13,7µg/L)</b>									
Média ± DP	25,81 ± 14,97	29,50 ± 16,12	0.59 <sup>a</sup>	30,00 ± 18,42	26,35 ± 13,68	0.43 <sup>a</sup>	25,22 ± 14,48	31,83 ± 16,71	0.37 <sup>a</sup>
Mediana	21,95	27,13	0.46 <sup>b</sup>	27,01	27,07	0.33 <sup>b</sup>	25,76	36,41	0.37 <sup>b</sup>
<b>Cd (0,5-2ng/mL)</b>									
Média ± DP	1,24 ± 0,61	1,28 ± 0,38	0.87 <sup>a</sup>	1,20 ± 0,44	1,31 ± 0,51	0.78 <sup>a</sup>	1,37 ± 0,47	1,13 ± 0,47	0.18 <sup>a</sup>
Mediana	1,06	1,28	0.66 <sup>b</sup>	1,19	1,24	0.85 <sup>b</sup>	1,28	1,06	0.18 <sup>b</sup>
<b>Cu (70-155µg/dL)</b>									
Média ± DP	190,84 ± 19,85	180,75 ± 23,88	0.23 <sup>a</sup>	188,60 ± 21,79	182,33 ± 23,29	0.88 <sup>a</sup>	178,35 ± 21,19	193,02 ± 22,18	0.08 <sup>a</sup>
Mediana	191,77	190,45	0.21 <sup>b</sup>	193,49	183,10	0.76 <sup>b</sup>	177,06	193,71	0.11 <sup>b</sup>
<b>Fe (60-180µg/dL)</b>									
Média ± DP	36,95 ± 5,14	35,16 ± 3,83	0.32 <sup>a</sup>	37,59 ± 5,05	34,71 ± 3,61	0.98 <sup>a</sup>	35,52 ± 5,05	36,37 ± 3,64	0.60 <sup>a</sup>
Mediana	35,89	34,53	0.44 <sup>b</sup>	37,06	34,34	0.94 <sup>b</sup>	35,37	35,58	0.52 <sup>b</sup>
<b>V (0,02-0,1µg/L)</b>									
Média ± DP	8,47 ± 4,86	9,33 ± 8,27	0.78 <sup>a</sup>	10,15 ± 9,37	7,93 ± 4,30	0.95 <sup>a</sup>	10,05 ± 9,69	8,03 ± 3,60	0.57 <sup>a</sup>
Mediana	6,94	7,38	1 <sup>b</sup>	7,57	6,14	0.96 <sup>b</sup>	7,57	6,31	0.93 <sup>b</sup>
<b>Zn (462,6-712,3 µg/100ml)</b>									
Média ± DP	677,10 ± 153,75	680,38 ± 246,68	0.97 <sup>a</sup>	633,06 ± 185,47	711,47 ± 225,28	0.13 <sup>a</sup>	706,96 ± 215,23	644,64 ± 206,35	0.43 <sup>a</sup>
Mediana	707,23	654,46	0.69 <sup>b</sup>	599,57	702,00	0.056 <sup>b</sup>	658,12	702,00	0.73 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Teste de T-Student<sup>b</sup>Teste de Mann–Whitney

Apesar do álcool ser um agente genotóxico (REIS *et al.*, 2002), não foi observada diferença estatisticamente relevante entre os grupos, demonstrando que não houve interferência deste agente nos resultados encontrados.

No geral, observa-se que não houve influência, entre os grupos, do consumo de pescados possivelmente contaminados na concentração dos elementos químicos quantificados. A única exceção foi o Zn, que apresentou um valor de p significativo. A diferença foi constatada pelo teste devido ao grupo que não consumiu os pescados apresentarem níveis maiores de concentração. Embora esta análise seja em relação ao consumo, uma associação com a exposição pode ser feita, visto que Pérez-Cadahía *et al.* (2008b) relata menores concentrações de zinco em indivíduos que foram expostos ao óleo derramado pelo navio Prestige. Estes dados permitem inferir uma correlação inversamente proporcional entre a exposição ao óleo e a concentração de Zn no sangue dos indivíduos. Esse fato pode estar relacionado ao aumento de outros metais tóxicos, por interferências no processo de absorção ou pelo papel protetor desempenhado por esse metal, por ser constituinte essencial de estruturas muito importantes como os dedos de zinco. Essa estrutura consiste em domínios proteicos caracterizados pela coordenação de um ou mais íons de zinco para estabilizar dobras na molécula de DNA (WAALKES, 2003).

Houve uma diferença estatística significativa ( $p\text{-value} < 0,05$ ) entre indivíduos que tiveram contato com o óleo e os que não tiveram, em relação aos marcadores biológicos (ID e FD), sugerindo que este contato pode ter ocasionado os danos. No entanto, essa diferença é difícil de ser afirmada, pois foi detectada em um único teste para cada marcador analisado, sendo estes diferentes entre si. O teste de Mann-Whitney afirma a diferença para o ID, enquanto que o T-Student indica esta diferença para a FD.

A tabela 6 apresenta as comparações das concentrações dos metais e os valores obtidos para os marcadores biológicos, com as diferentes faixas etárias divididas a cada 10 anos. Foi calculada a média e a mediana, utilizando-se a primeira para o estudo dessas comparações através do Teste de Qui-quadrado.

Tabela 6– Concentrações de metais pesados comparadas as diferentes faixas etárias

	Faixa etária				p-value
	26-35 anos (n=6)	36-45 anos (n=9)	46-50 anos (n=8)	>51 anos (n=6)	
<b>ID (36,25)</b>					
Média ± DP	73,53 ± 40,23	79,39 ± 49,91	110,74 ± 42,17	66,13 ± 30,92	<0,001 <sup>a</sup>
Mediana	61,00	58,67	123,67	60,67	
<b>FD (22,57)</b>					
Média ± DP	52,89 ± 19,28	51,78 ± 18,28	65,95 ± 19,09	49,17 ± 16,39	0.38 <sup>a</sup>
Mediana	51,17	46,17	75,33	42,67	
<b>Al (0,9-952µg/L)</b>					
Média ± DP	2638,03 ± 1439,72	6890,25 ± 5576,27	4512,46 ± 2685,55	5738,24 ± 6169,06	<0,001 <sup>a</sup>
Mediana	2137,33	5940,15	4638,10	3064,31	
<b>As (0-13,7µg/L)</b>					
Média ± DP	30,23 ± 22,08	27,20 ± 13,76	30,57 ± 8,85	24,10 ± 14,43	0.81 <sup>a</sup>
Mediana	21,92	25,76	28,26	21,64	
<b>Cd (0,5-2ng/mL)</b>					
Média ± DP	1,61 ± 0,43	1,06 ± 0,47	1,09 ± 0,41	1,32 ± 0,49	0.81 <sup>a</sup>
Mediana	1,65	1,10	1,04	1,28	
<b>Cu (70-155µg/dL)</b>					
Média ± DP	176,71 ± 18,84	197,63 ± 22,31	178,13 ± 24,57	182,21 ± 18,18	0.68 <sup>a</sup>
Mediana	180,60	196,24	177,06	190,45	
<b>Fe (60-180µg/dL)</b>					
Média ± DP	34,40 ± 2,45	36,58 ± 4,12	37,63 ± 5,64	34,43 ± 4,13	0.97 <sup>a</sup>
Mediana	34,43	35,58	36,77	36,20	
<b>V (0,02-0,1µg/L)</b>					
Média ± DP	10,99 ± 4,08	11,80 ± 12,82	5,71 ± 1,79	7,99 ± 3,78	0.46 <sup>a</sup>
Mediana	9,07	6,53	5,97	8,07	
<b>Zn (462,6-712,3 µg/100ml)</b>					
Média ± DP	619,54 ± 128,53	670,98 ± 190,04	753,95 ± 301,93	751,71 ± 311,22	<0,001 <sup>a</sup>
Mediana	568,74	672,64	735,28 <sup>3</sup>	709,62	

<sup>a</sup>Teste de Qui-quadrado

A influência da idade no índice de dano (ID) pode ser afirmada devido ao p-value obtido ser inferior a 0,05 (<0,001), isto porque a faixa etária de 46-50 anos apresentou maior valor para o ID. Inclusive, essa faixa etária contém oito indivíduos (5, 6, 7, 8, 14, 15 e 25) e três deles (5, 16 e 25) apresentaram valores elevados de ID (figura 13). A faixa etária >51 anos contém seis indivíduos (3, 11, 19, 22, 26, 29), porém nenhum desse grupo apresentou um ID elevado.

O teste também identificou uma diferença estatisticamente significativa para as concentrações de Al e Zn (p-value < 0,001). Para o Al essa diferença foi constatada devido a grande diferença entre as médias encontradas para as faixas etárias de 26-35 anos e de 36-45 anos. Entre elas, a primeira apresenta seis indivíduos (9, 12, 18, 21, 23 e 27) e todos eles apresentaram níveis altos de Al e apenas o 23 não teve contato com o óleo, nem consumiu pescados contaminados. A

<sup>3</sup> Entre parênteses encontra-se valor da faixa de concentração esperada para cada elemento segundo Portugal (2022).

segunda faixa etária contempla nove indivíduos (1, 2, 4, 10, 13, 17, 20, 24 e 28) e todos apresentaram concentrações elevadas de Al, porém apenas os de número 4 e 17 tiveram contato com o óleo.

Para o Zn, as duas faixas etárias maiores (46-50 anos e <51 anos) mostraram níveis elevados, ao passo que as duas faixas de menor idade permaneceram com a concentração de Zn dentro do limite estabelecido, o que permite afirmar que a diferença afirmada pelo teste de Qui-Quadrado foi de fato pela diferença de idade. Todavia, dados que expliquem o aumento nos níveis de Zn em faixas etárias maiores não foram encontrados na literatura.

Os indivíduos foram separados em quatro grupos de acordo com o contato com o óleo: “Contato direto” (n=9), “Indireto” (n=5), “Direto e Indireto D/I” (n=2) e “Sem contato” (n=13). As comparações entre a concentração dos metais e os marcadores biológicos com as diferentes formas de contato com o óleo, foram feitas submetendo-se os valores das médias ao Teste de Qui-Quadrado e podem ser visualizadas na tabela 7.

Tabela 7– Concentrações de metais pesados comparados a diferentes formas de contato com o óleo.

	<b>Contato</b>				<b>p-value</b>
	<b>Direto (n=9)</b>	<b>Indireto (n=5)</b>	<b>D/I (n=2)</b>	<b>Sem contato (n=13)</b>	
<b>ID (36,25)</b>					
Média ± DP	93,98 ± 40,27	123,67 ± 35,94	59,00 ± 2,36	66,09 ± 44,12	<0,001 <sup>a</sup>
Mediana	105,67	124,34	59,00	53,33	
<b>FD (22,57)</b>					
Média ± DP	60,48 ± 18,99	74,33 ± 7,29	50,33 ± 11,31	45,69 ± 17,18	0.04 <sup>a</sup>
Mediana	68,67	76,17	50,33	42,67	
<b>Al (0,9-952µg/L)</b>					
Média ± DP	4137,39 ± 2533,34	5725,24 ± 2134,73	6690,52 ± 7484,94	5414,90 ± 6215,51	<0,001 <sup>a</sup>
Mediana	3064,31	5650,76	6690,52	2754,54	
<b>As (0-13,7µg/L)</b>					
Média ± DP	27,32 ± 19,13	21,96 ± 5,80	24,39 ± 11,96	31,83 ± 16,71	0.56 <sup>a</sup>
Mediana	27,13	23,24	24,39	36,41	
<b>Cd (0,5-2ng/mL)</b>					
Média ± DP	1,32 ± 0,43	1,45 ± 0,64	1,38 ± 0,40	1,13 ± 0,47	1 <sup>a</sup>
Mediana	1,28	1,61	1,38	1,06	
<b>Cu (70-155µg/dL)</b>					
Média ± DP	174,65 ± 18,48	187,75 ± 28,87	171,53 ± 3,01	193,02 ± 22,18	0.63 <sup>a</sup>
Mediana	176,63	201,03	171,53	193,71	
<b>Fe (60-180µg/dL)</b>					
Média ± DP	35,21 ± 3,18	36,67 ± 6,87	34,02 ± 10,07	36,37 ± 3,64	0.99 <sup>a</sup>
Mediana	36,28	34,14	34,02	35,58	
<b>V (0,02-0,1µg/L)</b>					
Média ± DP	7,42 ± 4,12	21,07 ± 19,09	5,62 ± 1,29	8,03 ± 3,60	0.002 <sup>a</sup>
Mediana	8,24	21,07	5,62	6,31	
<b>Zn (462,6-712,3 µg/100ml)</b>					
Média ± DP	727,49 ± 273,67	717,65 ± 116,32	587,88 ± 94,16	644,64 ± 206,35	<0,001 <sup>a</sup>

Mediana	661,77	712,46	587,88	702,00
---------	--------	--------	--------	--------

<sup>a</sup>Teste de Qui-quadrado

O teste apresentou diferenças estatísticas para ambos marcadores biológicos (ID e FD), com p-value de <0,001 e 0,04, respectivamente. Para os dois marcadores, os indivíduos que tiveram maior valor de média foram aqueles que tiveram contato indireto com o óleo (5, 8, 9, 17 e 25). Dentre estes, nenhum deles fuma e apenas o número 9 não consumiu pescados contaminados e tem menos de 40 anos, por isso é possível que a idade e o consumo justifiquem esse valor.

Os indivíduos que não tiveram contato (1, 2, 3, 7, 10, 13, 15, 20, 23, 24, 26, 28 e 29) são a maioria. Entre eles os de número 1, 2, 10 e 23 não consumiram pescados e os demais consumiam pelo menos 1-2 vezes na semana. Nenhum deles fuma e três deles tem menos de 40 anos (20, 23 e 1). Apenas dois (4 e 22) tiveram os dois tipos de contato (D/I). Estes consumiram pescados contaminados com uma frequência de 3-5 vezes por semana, não fumam e têm 41 e 54 anos, respectivamente. Diante disso, não é possível justificar esse resultado, pois os indivíduos que não tiveram contato apresentaram um valor maior em comparação com aqueles que tiveram os dois tipos de contato, são mais velhos e consumiram pescados contaminados com maior frequência.

Entre os elementos químicos, três deles apresentam diferenças estatísticas significantes entre os grupos: Alumínio (Al), Vanádio (V) e Zinco (Zn).

Na análise do alumínio, o grupo que apresentou maior concentração foi o dos indivíduos que tiveram contato direto e indireto (D/I). Este grupo além de ter tido mais contato com o óleo, consumiu pescados com maior frequência (3-5 vezes por semana). Entretanto, uma maior concentração foi encontrada para indivíduos que não tiveram contato com o óleo em relação aos que tiveram contato direto. Entre os que não tiveram contato 9 dos 13 consumiram com uma frequência de 1-2 vezes por semana. Todavia, dentre os que tiveram contato direto, 5 dos 9 consumiram mensalmente, em sua maioria. No grupo que teve contato indireto apenas um deles não consumiu os pescados e os demais consumiam semanalmente, o que pode justificar esse grupo ter uma concentração maior em relação ao de contato direto. Este resultado sugere que a frequência de consumo de pescado possivelmente contaminado pode ter influenciado nos níveis de Al para essa população.

Para o vanádio os grupos que apresentaram maior e menor concentração foram os dos indivíduos que tiveram contato indireto e D/I, respectivamente. Entre os que tiveram contato indireto, todos os que consumiram os pescados foi numa frequência semanal, apenas um deles não consumiu pescados. No grupo de contato D/I, todos consumiram semanalmente. Indivíduos que não tiveram contato obtiveram valores maiores que aqueles com os dois tipos de contato e apenas o direto, embora a maioria deles tenham consumido na mesma frequência. Neste caso, apesar do V ser um dos elementos encontrados no petróleo, não foi possível identificar essa relação. Assim também como não se pode atribuir a diferença entre os grupos ao consumo de pescados contaminados.

Para o zinco o grupo que apresentou maior concentração foi o de contato direto, enquanto que o de menor concentração foi o dos indivíduos que tiveram ambos contatos (D/I). A maioria do primeiro grupo consumiu os pescados mensalmente, porém, no segundo, todos consumiam semanalmente. Da mesma forma que o vanádio, apesar do zinco ser um dos elementos encontrados no petróleo, não foi possível identificar essa relação. Igualmente, não se pode atribuir a diferença entre os grupos ao consumo de pescados contaminados.

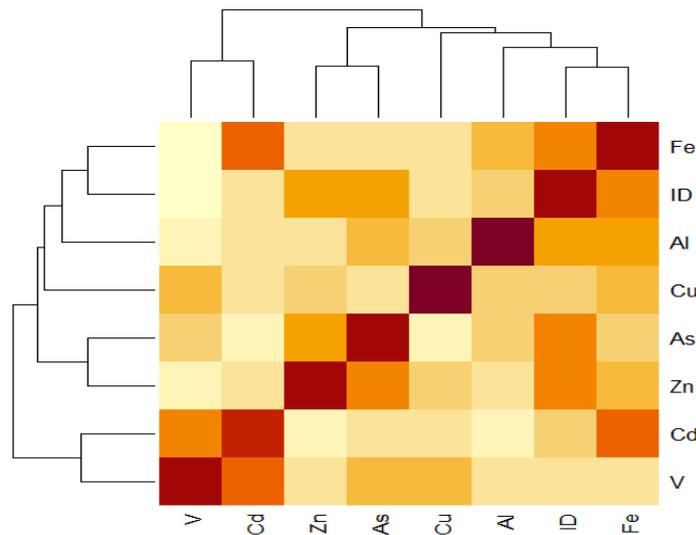
Foram feitos testes de multivariáveis para avaliar as possíveis correlações entre as concentrações dos elementos traços quantificados e seus possíveis efeitos genotóxicos, avaliados pelos marcadores biológicos índice de dano (ID) e frequência de dano (FD), obtidos através do ensaio cometa. Vale ressaltar que para um estudo adequado dessas correlações necessita-se dos resultados da análise de todas as variáveis, no entanto, só foi possível defini-las em nove indivíduos.

Os quadros 4 e 5 apresentam os dados da correlação entre o ID e todos os metais quantificados. Parece existir relação entre o ID e os elementos Fe e Al, permitindo inferir que concentrações elevadas desses elementos estão associadas a um aumento de dano no material genético.

Quadro 4– Correlação entre a variável dependente ID e as variáveis independentes (metais).

	ID	Al	As	Cd	Cu	Fe	V	Zn
ID	1	0,37	-0,57	-0,29	0,24	0,63	-0,007	0,50
Al	0,37	1	-0,28	-0,05	0,23	0,42	0,009	0,06
As	-0,57	-0,28	1	0,13	-0,06	-0,26	0,27	-0,50
Cd	-0,29	-0,05	0,13	1	0,12	-0,72	0,65	-0,06
Cu	0,24	0,23	-0,06	0,12	1	0,26	0,24	0,19
Fe	0,63	0,42	-0,26	-0,72	0,26	1	-0,07	0,27
V	-0,007	0,009	0,27	0,65	0,24	-0,07	1	0,03
Zn	0,50	0,06	-0,50	-0,06	0,19	0,27	0,03	1

Figura 15 – Mapa colorimétrico de correlação



Quadro 5– Teste a significância global do modelo de regressão linear múltipla

	Valores de p
Interceptação	0,204
Al	0,217
As	0,260
Cd	0,208
Cu	0,222
Fe	0,200
V	0,211
Zn	0,575
Teste F <sup>a</sup>	0,39
Shapiro-Wilk <sup>b</sup>	0,63

<sup>a</sup> Teste a significância global do modelo de regressão  
<sup>b</sup> teste de normalidade

Os valores de Fe e Al estão mais próximos de 1, indicando que existe uma possível relação diretamente proporcional com o ID. Esse resultado sugere que as concentrações elevadas de Fe e Al podem, juntas, estar influenciando no aumento

de danos causados ao material genético. No entanto, os resultados obtidos nos Teste F e Shapiro-Wilk provam que não houve uma correlação estatisticamente relevante, visto que os valores de p permaneceram acima de 0,05.

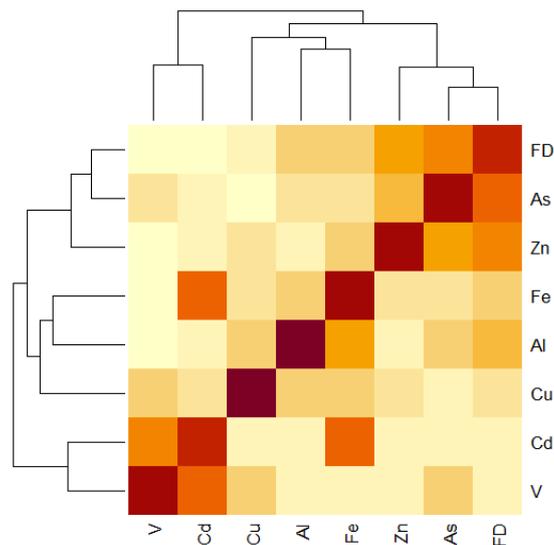
Os quadros 6 e 7 apresentam os dados da correlação entre a FD e todos os metais quantificados.

Parece existir relação entre a FD e os elementos As e Zn. As concentrações de As e Zn apresentam uma relação inversamente proporcional, visto que o As apresentou um valor negativo e o Zn, valor positivo. Este comportamento sugere um efeito compensador entre os elementos, no qual o aumento da concentração do As resultaria na diminuição da concentração do Zn. No entanto, não houve confirmação estatística, visto que os valores de p permaneceram acima de 0,05.

Quadro 6– Correlação entre a variável dependente FD e as variáveis independentes (metais)

	FD	Al	As	Cd	Cu	Fe	V	Zn
FD	1	0.36	-0.71	-0.11	0.18	0.39	-0.064	0.57
Al	0.36	1	-0.28	-0.05	0.23	0.42	0.009	0.06
As	-0.71	-0.28	1	0.13	-0.06	-0.26	0.27	-0.50
Cd	-0.11	-0.05	0.13	1	0.12	-0.72	0.65	-0.05
Cu	0.18	0.23	-0.06	0.12	1	0.26	0.24	0.19
Fe	0.39	0.42	-0.26	-0.72	0.26	1	-0.07	0.27
V	-0.06	0.009	0.27	0.65	0.24	-0.07	1	0.03
Zn	0.57	0.057	-0.50	-0.06	0.19	0.27	0.031	1

Figura 16 – Mapa colorimétrico de correlação



Quadro 7– Teste a significância global do modelo de regressão linear múltipla

	Valores de p
Interceptação	0,204
Al	0,217
As	0,260
Cd	0,208
Cu	0,222
Fe	0,200
V	0,211
Zn	0,575
Teste F <sup>a</sup>	0,39
Shapiro-Wilk <sup>b</sup>	0,63

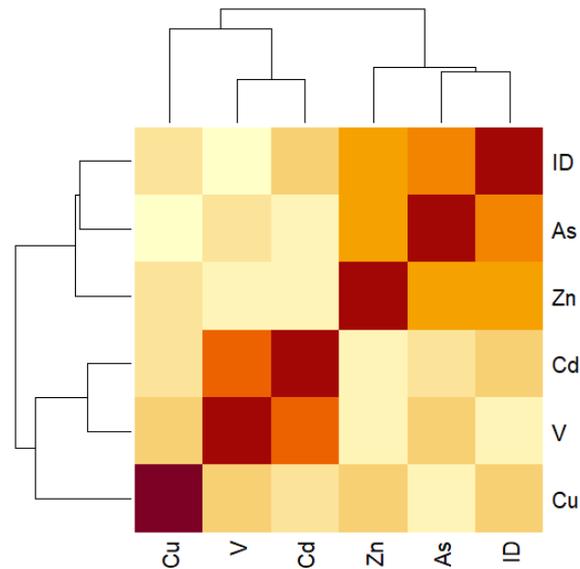
O mesmo estudo foi feito para avaliar as possíveis correlações entre o índice de dano (ID) (quadros 8 e 9) e frequência de dano (FD) (quadros 10 e 11) e os valores encontrados na quantificação dos elementos químicos relacionados ao petróleo (As, Cd, Cu, V e Zn).

Parece existir relação entre a ID e os elementos As e Zn. As concentrações de As e Zn apresentam uma relação inversamente proporcional, visto que o As apresentou um valor negativo e o Zn, valor positivo. Este comportamento sugere um efeito compensador entre os elementos, no qual o aumento da concentração do As resultaria na diminuição da concentração do Zn.

Quadro 8– Correlação entre a variável dependente ID e as variáveis independentes (metais)

	ID	As	Cd	Cu	V	Zn
ID	1	-0,57	-0,29	0,24	-0,007	0,50
As	-0,57	1	0,13	-0,06	0,27	-0,50
Cd	-0,29	0,13	1	0,12	0,65	-0,06
Cu	0,24	-0,06	0,12	1	0,24	0,19
V	-0,007	0,27	0,65	0,24	1	0,03
Zn	0,50	-0,50	-0,06	0,17	0,03	1

Figura 17 – Mapa colorimétrico de correlação



Quadro 9– Teste a significância global do modelo de regressão linear múltipla

	Valores de p
Interceptação	0,844
As	0,347
Cd	0,399
Cu	0,765
V	0,495
Zn	0,741
Teste F <sup>a</sup>	0,64
Shapiro-Wilk <sup>b</sup>	0,72

<sup>a</sup> Teste a significância global do modelo de regressão  
<sup>b</sup> teste de normalidade

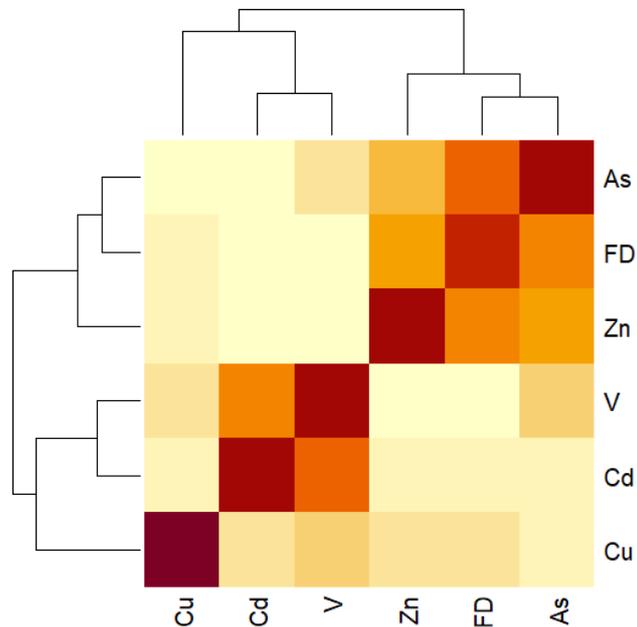
Apesar dos valores de As e Zn estarem mais próximos de 1, indicando que existe uma possível relação de proporcionalidade com o ID, os resultados obtidos nos Teste F e Shapiro-Wilk provam que não houve uma correlação estatisticamente relevante, visto que os valores de p permaneceram acima de 0,05.

Parece existir relação entre a FD e os elementos As e Zn. As concentrações de As e Zn apresentam uma relação inversamente proporcional, visto que o As apresentou um valor negativo e o Zn, valor positivo. Este comportamento sugere um efeito compensador entre os elementos, no qual o aumento da concentração do As resultaria na diminuição da concentração do Zn.

Quadro 10– Correlação entre a variável dependente FD e as variáveis independentes (metais)

	FD	As	Cd	Cu	V	Zn
FD	1	-0,71	-0,11	0,18	-0,06	0,57
As	-0,71	1	0,13	-0,06	0,27	-0,50
Cd	-0,11	0,13	1	0,12	0,65	-0,06
Cu	0,18	-0,06	0,12	1	0,24	0,19
V	-0,06	0,27	0,65	0,24	1	0,03
Zn	0,57	-0,50	-0,06	0,19	0,03	1

Figura 18 – Mapa colorimétrico de correlação



Quadro 11– Teste a significância global do modelo de regressão linear múltipla

	Valores de p
Interceptação	0,664
As	0,270
Cd	0,815
Cu	0,860
V	0,784
Zn	0,630
Teste F <sup>a</sup>	0,59
Shapiro-Wilk <sup>b</sup>	0,83

<sup>a</sup> Teste a significância global do modelo de regressão

<sup>b</sup> teste de normalidade

Apesar dos valores de As e Zn estarem mais próximos de 1, indicando que existe uma possível relação com o FD, os resultados obtidos nos Teste F e Shapiro-Wilk provam que não houve uma correlação estatisticamente relevante, visto que os valores de p permaneceram acima de 0,05.

Na tabela 8 observa-se os oito voluntários que apresentaram maiores índices de dano (ID) e concentrações elevadas de alumínio (Al) e zinco (Zn). Os indivíduos 16 e 19 apresentaram também concentrações elevadas de vanádio (V), sendo de 3,31309µg/L e 13,06493µg/L (níveis normais: 0,02-0,1µg/L). Não foi possível quantificar a concentração do Al para o indivíduo 5 mesmo após três tentativas de diluição do equipamento. Acredita-se que a concentração possivelmente estava fora do limite de detecção ou algum erro pré-analítico pode ter causado interferência na leitura.

Tabela 8– Voluntários com valores de índice de dano e concentrações de Al e Zn elevados.

<b>Voluntário</b>	<b>ID</b>	<b>Al (0,9-952µg/L)</b>	<b>Zn (462,6-712,3 µg/100ml)</b>
<b>5</b>	125	-	862,5535
<b>12</b>	139,5	5205,344	558,5027
<b>16</b>	113	7258,747	661,7701
<b>19</b>	117,67	8232,728	861,3257
<b>20</b>	173,33	2754,544	983,1996
<b>21</b>	98,33	2208,578	474,971
<b>25</b>	123,67	8207,83	574,053
<b>28</b>	94,33	5940,154	702,0016

<sup>1</sup>Entre parênteses são apresentados os níveis de concentração normais para cada um dos elementos.

Entre estes voluntários, apenas os indivíduos 20 e 28 não tiveram contato com o óleo e somente o 16 não consumiu pescados possivelmente contaminados. Esses resultados sugerem que tanto o contato com o óleo como o consumo dos pescados podem estar relacionados com danos genotóxicos, identificado pelo maior índice de dano ao DNA analisado por meio do Ensaio Cometa, que permite a visualização da fragmentação do material genético causada por agentes como o petróleo. Além disso, o aumento da concentração dos elementos Al e Zn pode estar associado também com o contato com o óleo e o consumo dos pescados, podendo estar relacionado com o aumento do dano.

## 6 CONCLUSÕES

- Os resultados sugerem uma possível relação entre o consumo de pescados contaminados, o aumento da concentração de Al e danos ao DNA;
- Em acidentes futuros, faz-se necessário um estudo com uma amostra populacional maior e mais homogênea, que seja avaliada em um menor intervalo de tempo após a exposição.
- Propõe-se um acompanhamento periódico dos indivíduos expostos, em acidentes futuros, realizando-se uma coleta inicial brevemente após o ocorrido e duas coletas posteriores, sendo uma ao longo de meses e outra após um ano da exposição.

## REFERÊNCIAS

- A LAFUENTE, et al. **Cadmium exposure differentially modifies the circadian patterns of norepinephrine at the median eminence and plasma LH, FSH and testosterone levels.** Toxicology Letters, v. 146, n. 2, p. 175-182, 15 jan. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2003.10.004>
- ABADIE, E. **Processos de Refinação.** Rio de Janeiro: Petrobras, 1999.
- AFSHAR-MOHAJER, N., FOX, M. A., KOEHLER, K. **The human health risk estimation of inhaled oil spill emissions with and without adding dispersant.** Science of the Total Environment, v. 654, p. 924–932, 2019.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Uranio natural y empobrecido,** 2013.
- AGUILERA, F. et al. **Review on the effects of exposure to spilled oils on human health.** Journal of Applied Toxicology, p. 24-36, 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jat.1521>.
- ALEXANDROV, P. N. et al. **Synergistic effects of iron and aluminum on stress-related gene expression in primary human neural cells.** Journal of Alzheimer'S Disease, v. 8, n. 2, p. 117-127, 17 nov. 2005. IOS Press. <http://dx.doi.org/10.3233/JAD-2005-8204>.
- ANDREINI, C.; BANCI, L.; BERTINI, I; ROSATO, A. **Occurrence of copper proteins through the three domains of life: A bioinformatic approach.** J. Proteome Res., v. 7, p. 209-16, 2008.
- ANP. **Agência Nacional de Petróleo, Gás e Biocombustíveis (ANPG).** 2019. Disponível em: <https://anpg.co.ao/>. Acesso em: 14 dez. 2020.
- ARAÚJO, M. E.; RAMALHO, C. W. N.; MELO, P. W. **Artisanal fishers, consumers and the environment: immediate consequences of the oil spill in pernambuco, northeast Brazil.** Cadernos de Saúde Pública, Recife, v. 36, n. 1, p. 1-6, FapUNIFESP (SciELO), 2020.
- BAL, W.; KOZIOWSKI, H.; KASPRZAK, K. S. **Molecular models in nickel carcinogenesis.** Journal of Inorganic Biochemistry, v. 79, n. 1-4, p. 213-218, abr. 2000. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0162-0134\(99\)00169-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0162-0134(99)00169-5).
- BALSANO, C.; PORCU, C.; SIDERI, S. **Is copper a new target to counteract the progression of chronic diseases?** Metallomics, v. 10, p. 1712-22, 2018.
- BERTHON, G. **Chemical speciation studies in relation to aluminium metabolism and toxicity.** Coordination Chemistry Reviews, v. 149, p. 241-280, maio 1996. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0010-8545\(96\)90030-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0010-8545(96)90030-2).

BOER, J. L. M. et al. **Practical and quality-control aspects of multi-element analysis with quadrupole ICP–MS with special attention to urine and whole blood.** Analytical and Bioanalytical Chemistry, v. 379, n. 5-6, p. 872-880, 22 jun. 2004. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-004-2654-6>.

BORAKOWSKI, H., 1955. Zanieczyszczenie morza produktami naftowymi. Technika i Gospodarka Morska 9:234–236.

BRASIL. Lei nº 9.966, de 28 de abril de 2000. Dispõe sobre a prevenção, o controle e a fiscalização da poluição causada por lançamento de óleo e outras substâncias nocivas ou perigosas em águas sob jurisdição nacional e dá outras providências.

BRAVO, E., 2007. **Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad.** Acción Ecológica.

British Petroleum Statistical Review of World Energy. Disponível em: <[http://www.bp.com/content/dam/bp-country/de\\_de/PDFs/brochures/BP-statistical-review-of-world-energy-2014-full-report.pdf](http://www.bp.com/content/dam/bp-country/de_de/PDFs/brochures/BP-statistical-review-of-world-energy-2014-full-report.pdf)>. Acesso em: 04 dez. 2020.

CALIXTO, E. **Contribuições para plano de contingência para derramamento de petróleo e derivados no Brasil.** 2011. 301 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia, Programa de Pós-Graduação em Planejamento Energético, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

CAMILA COSTA (Londres). BBC News Brazil. **A trajetória do navio Bouboulina, suspeito de ser o responsável pelo vazamento de óleo no litoral brasileiro.** 2019. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/brasil-50270037>. Acesso em: 15 dez. 2019.

CAMPBELL, D et al. **Initial effects of the grounding of the tanker Braer on health in Shetland.** The Shetland Health Study Group. Bmj, v. 307, n. 6914, p. 1251-1255, 13 nov. 1993. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.307.6914.1251>.

CARMO, E. H.; TEIXEIRA, M. G. **Desastres tecnológicos e emergências de saúde pública: o caso do derramamento de óleo no litoral do Brasil.** Cadernos de Saúde Pública, v. 36, n. 2, p. 1-7, 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0102-311x00234419>.

CARTER, S.; FISHER, A. S.; HINDS, M. W.; LANCASTER, S.; MARSHALL, J. Atomic spectrometry update. **Review of advances in the analysis of metals, chemicals and materials.** Journal of Analytical Atomic Spectrometry, v. 28, p. 1814-1869, 2013.

CETESB, 2016 – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Disponível em <[http://emergenciasquimicas.cetesb.sp.gov.br/wpcontent/uploads/sites/53/2013/12/P\\_rincipais-acidentes-internacionais.pdf](http://emergenciasquimicas.cetesb.sp.gov.br/wpcontent/uploads/sites/53/2013/12/P_rincipais-acidentes-internacionais.pdf)>. Acesso em 04 dez. 2020.

CHANG, S. E. et al. **Consequences of oil spills: a review and framework for informing planning.** Ecology and Society, Vancouver, v. 19, n. 2, p. 1-26, 2014. Resilience Alliance, Inc.

CORAIN, B. et al. **Aluminium toxicity and metal speciation: established data and open questions.** Coordination Chemistry Reviews, v. 149, p. 11-22, maio 1996. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0010-8545\(96\)90006-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0010-8545(96)90006-5).

CORREA, O. L. S. **Petróleo: noções sobre exploração, perfuração, produção e microbiologia.** Rio de Janeiro: Interciência, 2003. 90 p.

COSTA, D. M. B. **A valoração econômica como ferramenta para compensação de derramamentos de petróleo.** 2012. 217 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia, Programa Pós-Graduação em Planejamento Energético, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

D'ANDREA, M. A.; REDDY, G. K. **Health Consequences among Subjects Involved in Gulf Oil Spill Clean-up Activities.** The American Journal of Medicine, v. 126, n. 11, p. 966-974, nov. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2013.05.014>.

D'ANDREA, M. A.; REDDY, G. K. **Health Risks Associated with Crude Oil Spill Exposure.** The American Journal of Medicine, v. 127, n. 9, p. 872-899, set. 2014a. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2014.04.035>.

D'ANDREA, M. A.; REDDY, G. K. **Health Risks Associated with Crude Oil Spill Exposure.** The American Journal of Medicine, v. 127, n. 9, p. 886-899, set. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2014.04.035>.

Dantas, C. et al. **Óleo no Nordeste: veja a evolução das manchas e quando ocorreu o pico do desastre que completa 2 meses.** G1, 2019. Disponível em: <https://g1.globo.com/natureza/desastre-ambiental-petroleo/praias/noticia/2019/10/30/oleo-no-nordeste-veja-a-evolucao-das-manchas-e-quando-ocorreu-o-pico-do-desastre-que-completa-2-meses.ghtml>. Acesso em: 30 out. 2019.

Elinder, C.G., et al., 1994. **Biological monitoring of metals.** In: IPCS, International Programme on Chemical Safety. WHO, Geneva.

ELLISON, S. L. R.; WILLIAMS, A. (Eds). Eurachem/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, v. 3, 2012. Disponível em: [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org). Acesso em: 07 nov. 2019.

EMSA (2009) The world merchant fleet in 2007. Statistics from Equasis. EMSA (The European Maritime Safety Agency). Disponível em: [https://extranet.emsa.europa.eu/index.php?option=com\\_docman&task=cat\\_view&gid=133&Itemid=193](https://extranet.emsa.europa.eu/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=133&Itemid=193).

FADIGAS, A. B. M. **Vulnerability factors of shellfisherwomen in the face of oil spill events: An analysis of the Prestige case.** International Journal of Disaster Risk Reduction, v. 24, p. 560-567, 2017.

FERREIRA, A. P., WERMELINGER, E. D. **Serum metal concentrations and its implications for public health.** J Health Sci Inst. v.31, p.13-9, 2013.  
FINGAS, Mervin (Ed.). Oil Spill Science and Technology: Prevention, Response and Cleanup. Oxford: Elsevier, 2011.

FLAESCHEN, H. **Derramamento de petróleo é risco para saúde da população.** Abrasco Notícias, 2019. Disponível em: <https://www.abrasco.org.br/site/outras-noticias/saude-da-populacao/derramamento-de-petroleo-e-risco-para-saude-da-populacao/43706/>. Acesso em: 06 dez. 2019.

FONSECA, Sabrina Aparecida Ramos da. **Análise de estratégias de contingência ao derramamento de óleo: estudo de caso do Campo de Golfinho, Espírito Santo – Brasil.** 2009. 98 f. TCC (Graduação) - Curso de Oceanografia, Departamento de Oceanografia e Ecologia, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2009.

GERVASIO, Ana Paula G. et al. **Eletroforese capilar acoplada à espectrometria com plasma: uma ferramenta eficiente para a especificação.** Química Nova, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 65-74, jan. 2003. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422003000100013>.

GILL, D. A.; PICOU, J. S.; RITCHIE, L. A. **The Exxon Valdez and BP Oil Spills.** American Behavioral Scientist, v. 56, n. 1, p. 3-23, 5 ago. 2011. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0002764211408585>.

GOLDSTEIN, B. D. et al. **The Gulf Oil Spill.** New England Journal of Medicine, New England, v. 364, n. 14, p. 1334-1348, 7 abr. 2011. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmra1007197>.

GOLDSTEIN, B. D. et al. **The Gulf Oil Spill.** New England Journal of Medicine, v. 364, n. 14, p. 1334-1348, 7 abr. 2011. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmra1007197>.

GURGEL, C. A. V., de QUEIROZ, G. B., dos SANTOS, E. L. S. C., GALVÃO, M. L. M. **Impactos de extração do petróleo (óleo e gás) no Rio Grande do Norte, na região do Alto do Rodrigues.** HOLOS. v. 3, p 130-147, 2013.

HARTWIG, A.; SCHWERDTLE, T. **Interactions by carcinogenic metal compounds with DNA repair processes: toxicological implications.** Toxicology Letters, v. 127, n. 1-3, p. 47-54, fev. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4274\(01\)00482-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4274(01)00482-9).

HAYES, R. B. **The carcinogenicity of metals in humans.** Cancer Causes and Control, v. 8, n. 3, p. 371-385, 1997. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1018457305212>.

HOPENHAYN, C. Arsenic in drinking water: impact on human health. Elements. v. 2, p.103-107, 2006.

HURTIG, A., SEBASTIAN, M.S., 2002. **Geographical differences in cancer incidence in the Amazon basin of Ecuador in relation to residence near oil fields.** *Int. J. Epidemiol.* 31, 1021e1027.

IARC. International agency for research on cancer. Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Chemical agents and related occupations. *Eval. Carcinog. Risks Humans/World Health Organ. Int. Agency Res. Cancer.* v. 7, p. 9-562, 2012.

IMO (2014) – International Maritime Organization. Conventions. Disponível em: Acesso em: 5 de julho de 2014. Acesso em: 04 dez. 2020.

IMO (2016) – International Maritime Organization. Environment. Disponível em: <http://www.imo.org/en/OurWork/environment/pollutionprevention/oilpollution/pages/background.aspx>. Acesso em: 04/12/2020.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Áreas com localidades oleadas no Nordeste brasileiro.** Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis; 2019.

International agency for research on cancer. **List of Classifications by cancer sites with sufficient or limited evidence in humans.** Retrieved from. v. 1 to 113, 2015.

International Atomic Energy Agency (IAEA). **Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for, and response to radiation emergencies.** *EPR-Biodosimetry*, 2011.

ISMAIL, K.; LEWIS, G. **Multi-symptom illnesses, unexplained illness and Gulf War Syndrome.** *Philosophical Transactions of The Royal Society B: Biological Sciences*, v. 361, n. 1468, p. 543-551, 24 mar. 2006. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2006.1815>.

ITOPF, 2009 – International Tanker Owners Pollution Federation Limited. Disponível em: <http://www.itopf.com/knowledge-resources/data-statistics/statistics/>. Acesso em: 04 dez. 2020.

ITOPF, 2016 – International Tanker Owners Pollution Federation Limited. Disponível em: <http://www.itopf.com/knowledge-resources/data-statistics/statistics/>. Acesso em: 04 dez. 2020.

ITOPF, 2019 - International Tanker Owners Pollution Federation. TIP 02: fate of marine oil spills. <https://www.itopf.org/knowledge-resources/documents-guides/document/tip-02-fate-of-marine-oil-spills/>. Acesso em 13 nov. 2019.

JANJUA, N. Z. et al. **Tasman spirit oil spill in Pakistan: research response and lessons learned.** *American Journal of Industrial Medicine: AMERICAN JOURNAL OF INDUSTRIAL MEDICINE*, [s. l], v. 56, n. 1, p. 124-131, 2 abr. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ajim.22039>.

JOSEPH, J. **Acurácia diagnóstica de um painel de sinais e sintomas clínicos para a detecção da deficiência de ferro em doadoras de sangue.** Dissertação de mestrado (Ciências Aplicadas em Hematologia), Universidade do Estado do Amazonas, 2019. 66p.

KASPRZAK, K. S. **Oxidative DNA and protein damage in metal-induced toxicity and carcinogenesis**<sup>1,3</sup> **This article is part of a series of reviews on “Oxidative DNA Damage and Repair.”** The full list of papers may be found on the homepage of the journal. <sup>3</sup>Guest Editor: miral dizdaroglu. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 32, n. 10, p. 958-967, maio 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0891-5849\(02\)00809-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0891-5849(02)00809-2).

KASPRZAK, K. S. **Possible Role of Oxidative Damage in Metal-Induced Carcinogenesis.** *Cancer Investigation*, v. 13, n. 4, p. 411-430, jan. 1995. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/07357909509031921>.

KLEIN, C. B.; COSTA, M. **DNA methylation, heterochromatin and epigenetic carcinogens.** *Mutation Research/reviews In Mutation Research*, v. 386, n. 2, p. 163-180, abr. 1997. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1383-5742\(96\)00052-x](http://dx.doi.org/10.1016/s1383-5742(96)00052-x).

LACROIX, A.; HONTELA, A. **A comparative assessment of the adrenotoxic effects of cadmium in two teleost species, rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, and yellow perch, *Perca flavescens*.** *Aquatic Toxicology*, v. 67, n. 1, p. 13-21, mar. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.11.010>.

LAFFON, B. et al. **Follow-up study of genotoxic effects in individuals exposed to oil from the tanker Prestige, seven years after the accident.** *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v.760, p. 10-16, 2014.

LAFFON, B. et al. **Genotoxicity associated to exposure to Prestige oil during autopsies and cleaning of oil-contaminated birds.** *Food and Chemical Toxicology*, v. 44, n. 10, p. 1714-1723, out. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2006.05.010>.

LAFUENTE, A. et al. **Toxic effects of cadmium on the regulatory mechanism of dopamine and serotonin on prolactin secretion in adult male rats.** *Toxicology Letters*, v. 155, n. 1, p. 87-96, jan. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.08.011>.

LAFUENTE, A.; CANO, P.; ESQUIFINO, A. I. **Are cadmium effects on plasma gonadotropins, prolactin, ACTH, GH and TSH levels, dose-dependent?** *Biometals*, v. 16, n. 2, p. 243-250, 2003. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1020658128413>.

LEBLOND, V. S.; HONTELA, A. **Effects of in Vitro Exposures to Cadmium, Mercury, Zinc, and 1-(2-Chlorophenyl)-1-(4-chlorophenyl)-2,2-dichloroethane on Steroidogenesis by Dispersed Interrenal Cells of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*).** *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 157, n. 1, p. 16-22, maio 1999. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1006/taap.1999.8660>.

LEWEN, Nancy S.; SCHENKENBERGER, Martha M. Pharmaceutical Applications of Atomic Spectroscopy. **Encyclopedia Of Spectroscopy And Spectrometry**, p. 1791-1800, 1999. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1006/rwsp.2000.0229>.

LI, C.; LI, Y.; DING, C. The Role of Copper Homeostasis at the Host-Pathogen Axis: From Bacteria to Fungi. *Int. J. Mol. Sci.*, v. 20, p. 1-15, 2019.

LIMBERGER, J.; ZURAVSKI, L.; CHAVES, E. E. P.; MACHADO, M. M.; DA ROSA, E.; OLIVEIRA, L F. L. **Efeitos do Ferro (II) sobre a proliferação celular de leucócitos humanos em cultura**. Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, v. 9, p. 3, 2020.

LUCH, A. **Nature and nurture – lessons from chemical carcinogenesis**. *Nature Reviews Cancer*, v. 5, n. 2, p. 113-125, 20 jan. 2005. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrc1546>.

LUOMA, E. **Oil Spills and Safety Legislation**. Publications from the Centre for Maritime Studies. University of Turku, 2009.

LYONS, R. A. et al. **Acute health effects of the Sea Empress oil spill**. *Journal of Epidemiology & Community Health*, Gales, v. 53, n. 5, p. 306-310, 1 maio 1999. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/jech>.

MALDONADO, A., NARVAEZ, A., 2003. **Ecuador ni es ni será ya país amazónico Inventario de impactos petroleros**. Recorrido por familias campesinas e indígenas afectadas por pozos y estaciones. In: Ecologica, A. (Ed.), Quito-Ecuador: Acción Ecológica. Disponível em [www.accionecologica.org](http://www.accionecologica.org).

MARIANO, J. B. **Impactos ambientais do refino de petróleo**. 2001. 289 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia, Pós-Graduação em Planejamento Energético, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.

MARTÍNEZ, V. et al. **Micronuclei assessment in buccal cells of people environmentally exposed to arsenic in northern Chile**. *Toxicology Letters*, v. 155, n. 2, p. 319-327, fev. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.10.007>.

MEDINA-PIZZALI M, ROBLES P, MENDOZA M, TORRES C. **Ingesta de arsénico: el impacto en la alimentación y la salud humana** [Arsenic Intake: Impact in Human Nutrition and Health]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2018 Jan-Mar;35(1):93- 102. Spanish. doi: 10.17843/rpmesp.2018.351.3604. PMID: 29924286.

MEHRI, A; MARJAN, R. F. T. *Elements*, N. A. Review, “2013 Review article”, vol. 2, no. October, pp. 115–128, 2013.

MERHI, Z. O. et al. **Gulf Coast oil disaster: impact on human reproduction**. *Fertility and Sterility*, New York, v. 94, n. 5, p. 1575-1577, out. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert>.

MERLY, L. et al. **Blood plasma levels of heavy metals and trace elements in white sharks (*Carcharodon carcharias*) and potential health consequences.** Marine Pollution Bulletin, v. 142, p. 85–92, 2019.

Merzenich, H. et al. **Biomonitoring on carcinogenic metals and oxidative DNA damage in a cross-sectional study.** Cancer Epidemiol Biomarkers, v. 10, n. 5, p. 515-522, may. 2001. American Association for Cancer Research.

MORAES, J. M. **Petróleo em águas profundas: uma história tecnológica da petrobras na exploração e produção offshore.** Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, p 424, 2013.

MOREIRA, J. C.; SENE, Eustáquio de. **Geografia geral e do Brasil.** 6. ed. São Paulo: Scipione, p. 720, 2019.

NAMPOOTHIRI, L. P.; AGARWAL, A.; GUPTA, S. **Effect of co-exposure to lead and cadmium on antioxidant status in rat ovarian granulose cells.** Archives of Toxicology, v. 81, n. 3, p. 145-150, 3 ago. 2006. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-006-0133-x>.

NEIVA, Jucy. **Conheca O Petróleo:** e outras fontes de energia. 4. ed. Rio de Janeiro: Ao Livro Técnico, p. 327, 1983.

NORONHA, I. R.; FERREIRA, M. I. P.; PINTO, A. E. M. **Riscos e danos ambientais associados às atividades da cadeia produtiva do petróleo: instrumentos de comando e controle para mitigação dos impactos de vazamentos de óleo.** Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental, Florianópolis, v. 7, n. 1, p. 596-613, 19 fev. 2018. Universidade do Sul de Santa Catarina - UNISUL. <http://dx.doi.org/10.19177/rgsa.v7e12018596-613>.

ONWURAH, I. N. et al. **Crude oil spills in the environment, effects and some innovative.** Int. J. Environ, v. 1, p. 307-320, 2007.

ORDINIOHA, B.; BRISIBE, S. **The human health implications of crude oil spills in the Niger delta, Nigeria: an interpretation of published studies.** Nigerian Medical Journal, v. 54, n. 1, p. 10-16, 2013. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/0300-1652.108887>.

PACHECO, T. et al. **Combate Racismo Ambiental.** 2014. Disponível em: <https://racismoambiental.net.br/2019/10/29/cartaaberta-pela-declaracao-de-estado-de-emergencia-em-saude-publica/>. Acesso em: 14 dez. 2020.

PAPATERRA, G. E. Z. **Pré-Sal: conceituação geológica sobre uma nova fronteira exploratória de petróleo no Brasil.** 2010. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Geologia, Programa de Pós-Graduação em Geologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

PEDROSA, L. F. **Análise dos mecanismos de planejamento e resposta para incidentes com derramamento de óleo no mar: uma proposta de ação.** 2012. 132 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia, Programa de Pós-Graduação

em Planejamento Energético, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

PEREZ-CADAHÍA, B. et al. **Biomonitoring of human exposure to prestige oil: effects on DNA and endocrine parameters.** Environ. Health Insights, v. 2, p. 83-92, 2008b.

PEREZ-CADAHÍA, B. et al. **Relationship between blood concentrations of heavy metals and cytogenetic and endocrine parameters among subjects involved in cleaning coastal areas affected by the “Prestige” tanker oil spill.** Chemosphere, v. 71, 2008a.

PÉREZ-CADAHÍA, B. et al. **Genetic Damage Induced by Accidental Environmental Pollutants.** The Scientific World Journal, v. 6, p. 1221-1237, 2006. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1100/tsw.2006.206>

PERKINELMER SCIEX. **Do Things the way you want. NexION 300 ICP-MS.** Disponível em: <<http://www.drogallega.es/u/ficheros/representaciones/0x6E4F2EDE514911DF92BE9F8C96DD28F4.11.pdf>>. Acesso em 10/02/2021.

PICOU, J. S.; MARTIN, C. G. **Long-term community impacts of the Exxon Valdez oil spill: patterns of social disruption and psychological stress seventeen years after the disaster,** 2007. Disponível em: <https://www.arlis.org/docs/vol1/B/243478793.pdf>. Acesso em 06 dez. 2019.

PLOMBLUM, S. C. G. **Desproteção de soro sanguíneo pela ação conjunta ácido/micro-ondas e por filtração para determinação de Al por espectrometria de absorção atômica.** Dissertação. Universidade Federal de Santa Maria. Pós-graduação em Química. Santa Maria. 1997.

PORTUGAL, Wanuska Munique. **Biomonitorização de oligoelementos e elementos traços em sangue de pacientes infectados por COVID-19 internados em unidade de terapia intensiva.** 2022. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, Departamento de Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

POTOCNIK, F. C. et al. **Zinc and platelet membrane microviscosity in Alzheimer's disease. The in vivo effect of zinc on platelet membranes and cognition.** S Afr Med J. 1997 Sep;87(9):1116-9. PMID: 9358828.

Programa de Pós-Graduação em Saúde, Ambiente e Trabalho, Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia. Pela declaração do estado de emergência em saúde pública para controle dos riscos decorrentes da maior tragédia de contaminação pelo petróleo na costa do Brasil. Disponível em: <https://sat.ufba.br/pt-br/nota-do-ppg-sat-sobre-contaminacao-por-petroleo-na-costa-do-brasil>. Acesso em 06 dez. 2019.

RAMIREZ, M. I. et al. **Contamination by oil crude extraction e Refinement and their effects on human health.** Environmental Pollution, v. 231, p. 415-425, 2017.

REINKE, C. M.; BREITKREUTZ, J.; LEUENBERGER, H. **Aluminium in Over-the-Counter Drugs**. *Drug Safety*, v. 26, n. 14, p. 1011-1025, 2003. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.2165/00002018-200326140-00003>.

RICO, G. et al. **Los Macroprocesos de la Industria Petrolera y sus Consecuencias Ambientales**. *Univ. Cienc. Y Tecnol.* 11, 91-97, 2007.

RODRIGUES, Lilian P.; JORGE, Silvia Regina P. F. **Deficiência de ferro na mulher adulta**. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 32, p. 49-52, jun. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842010005000059>.

ROGOWSKA, J.; NAMIEŚNIK, J. **Environmental Implications of Oil Spills from Shipping Accidents**. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Gdansk, p. 95-114, 2010. Springer New York.

SANTOS H. F. et al. **Contaminação de recifes de coral por petróleo e seus derivados**. In: Zilberberg, C., Abrantes, D. P., Marques, J. A., Machado, L. F., Marangoni, L. F. B, editores. *Conhecendo os recifes brasileiros: rede de pesquisas Coral Vivo*. Rio de Janeiro: Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro, p. 183-94, 2016.

SANTOS, Mariana Luiza de Oliveira. **Elementos químicos em invertebrados terrestres como indicadores de qualidade ambiental de áreas urbanas**. 2016. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

SANTOS, S. B. **Elementos traço em soro sanguíneo medidos pelos métodos PIXE e ICP-MS**. Dissertação de Mestrado, São Paulo, Instituto de Física, p. 1-157, 2007.

SARAVANABHAVAN, G. et al. **Human biomonitoring reference values for metals and trace elements in blood and urine derived from the Canadian Health Measures Survey 2007–2013**. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, p. 1-12, 2016.

Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde. **Vigilância em saúde: monitoramento das manchas de óleo no litoral do nordeste**. *Boletim Epidemiológico*, Brasília, v. 50, n. 32, p. 1-20, out. 2019.

SHCROEDER, R., DOMINGUEZ, V., GARCIA, L. **Bioremediation potential of oil impacted soil and water in the mexican tropics**. *Terra*, v. 17, 159-174, 1999.

SILVA, A. C. L. **A evolução do direito internacional do meio ambiente e a construção de um regime jurídico internacional para o mar através do direito marítimo: os incidentes marítimos que provocaram mudanças significativas nas normas de proteção do meio ambiente marítimo**. 2008. 48 f. Monografia (Especialização) - Curso de Relações Internacionais, Relações Internacionais, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

SILVA, Layla Bridi e. **Avaliação de metais traço e de algumas características geoquímicas em sedimentos superficiais e testemunhos da Baía de Vitória, ES.** 2010. 172 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Química, Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2010.

SINGH, N. P. et al. **A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells.** *Experimental Cell Research*, v. 175, n. 1, p. 184-191, mar. 1988. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](http://dx.doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0).

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental.** 5ª ed, Bookman, Porto Alegre, Brasil, 2002.

STEJSKAL, V. et al. **Diagnosis and treatment of metal-induced side-effects.** *Neuro Endocrinol Lett.* 2006 Dec; 27 Suppl 1:7-16. Erratum in: *Neuro Endocrinol Lett.* 2007 Oct;28(5): iii. PMID: 17261999.

TABACOVA, S; BALABAEVA, L. **Environmental pollutants in relation to complications of pregnancy.** *Environmental Health Perspectives*, v. 101, n. 2, p. 27-31, jul. 1993. *Environmental Health Perspectives*. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.93101s227>.

THOMPSON, D.R.; FURNESS, R.W.; BARRETT, R.T. **Mercury concentrations in seabirds from colonies in the northeast Atlantic.** *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 23, n. 3, p. 383-389, out. 1992. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00216249>.

TUCKER, J. D.; PRESTON, R. J. **Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges, and cancer risk assessment.** *Mutation Research/reviews In Genetic Toxicology*, v. 365, n. 1-3, p. 147-159, set. 1996. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0165-1110\(96\)90018-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0165-1110(96)90018-4).

URUM, K. et al. **A comparison of the efficiency of different surfactants for removal of crude oil from contaminated soils.** *Chemosphere*, Edinburgh, v. 62, n. 9, p. 1403-1410, mar. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere>.

VAGLENOV, A. et al. **Occupational exposure to lead and induction of genetic damage.** *Environmental Health Perspectives*, v. 109, n. 3, p. 295-298, mar. 2001. *Environmental Health Perspectives*. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.01109295>.

VLADIMIR PLATONOW (Rio de Janeiro). Agência Brasil. **Geral Óleo que atingiu praias do Nordeste veio de petroleiro grego.** 2021. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2021-12/oleo-que-atingiu-praias-do-nordeste-veio-de-petroleiro-grego-diz-pf>. Acesso em: 15 jan. 2022.

WAALKES, M. **Cadmium carcinogenesis.** *Mutation Research/fundamental And Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, v. 533, n. 1-2, p. 107-120, 10 dez. 2003. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2003.07.011>.

WHITFIELD, J. **How to clean a beach.** *Nature*, v. 422, n. 6931, p. 464-466, abr. 2003. Springer Science and Business Media LLC.

WIEWIÓRA, A., WESOŁEK, Z., PUCHALSKI, J. **Ropa naftowa w transporcie morskim.** TRADEMAR, Gdynia, p 6–10, 2007.

YANG, C. et al. **Female Lung Cancer Mortality and Sex Ratios at Birth near a Petroleum Refinery Plant.** Environmental Research, v. 83, n. 1, p. 33-40, maio 2000. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1006/enrs.2000.4038>.

YOKEL, R. A. **Brain uptake, retention, and efflux of aluminum and manganese.** Environmental Health Perspectives, v. 110, n. 5, p. 699-704, out. 2002. Environmental Health Perspectives. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.02110s5699>.

## APÊNDICE A – TABELA GERAL

Voluntário	Sexo	Idade	Contato com o óleo	Consumo de pescados	Frequência de consumo	ID C. (0,6,25)	FD C. (22,57)	Al (0,9-951µg/L)	As (0-13,7µg/L)	Cd (0,5-2µg/mL)	Cu (0-155µg/dL)	Fe (66-180µg/dL)	V (0,02-0,1µg/L)	Zn (462,5-712,3 µg/100ml)	Fuma
1	M	39	NÃO	NÃO	-	59,33	48,00	2252,211	45,91798	1,19393	156,0514	42,86271	3,1	370,2754	NÃO
2	F	44	NÃO	NÃO	-	-	-	3077,422	5	0,431397	214,3427	37,51056	4,872184	805,1251	NÃO
3	M	54	NÃO	SIM	1-2x /SEMANA	53,33	42,67	18482,89	5	0,954409	149,6483	39,58265	10,58513	709,6181	NÃO
4	M	41	DIRETO/INDIRETO	SIM	3-5x /SEMANA	57,33	42,33	11983,17	32,84585	1,097575	173,6591	41,14431	6,528792	521,303	NÃO
5	F	49	INDIRETO	SIM	1-2x /SEMANA	125,00	77,00	-	5	1,609614	215,6437	34,53129	3,1	862,5535	NÃO
6	F	46	DIRETO	NÃO	-	137,00	79,00	2627,121	5	1,236997	152,1683	39,42989	3,1	814,8938	NÃO
7	F	49	NÃO	SIM	DIARIAMENTE	45,50	34,50	1648,324	44,55972	0,856995	200,5933	40,70769	6,306407	758,0897	NÃO
8	M	47	INDIRETO	SIM	3-5x /SEMANA	167,00	81,00	4638,1	20,72472	0,613882	177,4971	48,87532	7,570935	712,4624	NÃO
9	F	32	INDIRETO	NÃO	-	79,00	64,00	3391,601	14,29357	2,127786	202,2494	33,39153	3,1	798,5365	NÃO
10	F	44	NÃO	NÃO	-	-	-	19350,71	23,16888	1,006202	225,5488	32,39685	3,1	843,1761	NÃO
11	F	54	DIRETO	SIM	1-2x/MÊS	-	-	3064,306	11,68979	1,279935	194,0593	36,27939	3,433904	511,8502	NÃO
12	F	35	DIRETO	SIM	1-2x/MÊS	139,50	80,00	5205,344	9,931121	1,019	187,3432	37,20602	3,1	558,5027	NÃO
13	F	40	NÃO	SIM	DIARIAMENTE	34,00	31,00	3224,931	5	1,396627	193,7102	32,44254	8,51868	500,445	NÃO
14	F	50	DIRETO	NÃO	-	64,00	42,50	5683,137	32,24209	0,625251	176,6294	36,62241	3,1	1357,854	NÃO
15	F	48	NÃO	SIM	1-2x /SEMANA	-	-	1523,951	28,26211	1,724047	193,2788	36,91333	5,631647	289,9407	NÃO
16	F	47	DIRETO	NÃO	-	113,00	72,33	7258,747	5	1,101943	166,9098	29,85482	3,31309	661,7701	NÃO
17	M	44	INDIRETO	SIM	3-5x /SEMANA	-	-	6663,427	25,75777	1,906512	201,0301	32,39138	34,56598	640,6356	NÃO
18	F	26	DIRETO	SIM	3-4x/MÊS	39,33	34,33	1519,114	66,20858	1,444963	154,8634	30,35756	8,240221	548,1478	NÃO
19	F	63	DIRETO	NÃO	-	117,67	72,33	8232,728	27,35567	2,076924	202,1988	36,20424	13,06493	861,3257	SIM
20	F	38	NÃO	SIM	1-2x /SEMANA	173,33	83,00	2754,544	5	0,502077	221,9281	40,61642	3,1	983,1996	NÃO
21	F	31	DIRETO	SIM	1-2x /SEMANA	98,33	65,00	2208,578	16,69796	1,850842	183,0966	34,34071	3,1	474,971	SIM
22	F	54	DIRETO/INDIRETO	SIM	3-5x /SEMANA	60,67	58,33	1397,871	15,93036	1,669903	169,4001	26,90407	4,70998	654,4629	NÃO
23	F	32	NÃO	NÃO	-	42,00	35,67	2066,085	47,09537	1,963861	178,1099	34,52386	15,67845	578,9783	NÃO
24	F	43	NÃO	SIM	1-2x /SEMANA	58,00	44,33	6765,716	5	1,323596	196,2391	34,28033	4,5265	672,6401	NÃO
25	F	49	INDIRETO	SIM	1-2x /SEMANA	123,67	75,33	8207,83	27,06597	0,975764	142,3111	34,14192	3,1	574,053	NÃO
26	F	56	NÃO	SIM	1-2x /SEMANA	35,00	30,00	2060,42	47,40911	1,597156	193,1131	33,69901	10,0008	388,079	NÃO
27	F	33	DIRETO	SIM	3-5x /SEMANA	43,00	38,33	1437,441	27,13343	1,282019	154,594	36,58681	9,065093	758,0897	NÃO
28	F	45	NÃO	SIM	1-2x /SEMANA	94,33	62,00	5940,154	8,320426	0,670616	196,198	35,57595	3,1	702,0016	NÃO
29	F	54	NÃO	SIM	1-2x /SEMANA	-	-	1246,323	9,943937	1,060923	190,451	31,71968	6,137513	778,7645	NÃO

## ANEXO A - QUESTIONÁRIO

### DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS

(Identificar as características sociais, demográficas e econômicas da população)

1. Sexo

1  Masculino 2  Feminino 0  IGN

2. Raça/cor

1  Branca 2  Preta 3  Amarela 4  Parda 5  Indígena 0  IGN

3. Idade ( ) anos

4. Estado civil

1  Solteiro(a) 2  Casado(a) 3  União estável 4  Divorciado(a) 5  Viúvo(a)  
0  IGN

5. Possui filhos?

1  Sim – Quantos? ( ) 0  Não  IGN

6. Habitação

1  Própria 2  Alugada 3  Cedida 0  IGN

7. Quantas pessoas moram na casa?

1  1 2  2 3  3 4  4 5  5 ou mais

8. Grau de escolaridade

1  Analfabeto 2  Ler e escrever 3  2º ao 5º ano (1ª a 4ª série)  
4  6º ao 9º ano (5ª a 8ª série) 5  Ensino médio 6  Ensino superior  
0  IGN

### SANEAMENTO BÁSICO

(Identificar o acesso à água e esgoto da população estudada – possível exposição indireta)

9. Abastecimento de água

1  Encanada 2  Poço 3  Carro pipa 0  IGN

10. Saneamento

1  Esgoto 2  Fossa séptica 3  Aberto 0  IGN

### CONDIÇÃO LABORAL

(Identificar qual a profissão da população estudada e avaliar o risco de exposição laboral)

11. Condição laboral atual

1  Estudante 2  Pescador(a) 3  Marisqueiro(a) 4

Aposentado/pensionista

5  Desempregado (*Pular para questão 16*) 6  Outra – Qual? \_\_\_\_\_ (*Pular para questão 13*) 7  IGN

12. Local de trabalho (*Preencher apenas se respondeu Pescador(a) ou Marisqueiro(a)*)

1  Alto mar    2  Mar raso    3  Mangue    4  Rio

13. Tempo de profissão

1  Menos de 1 ano    2  1-2 anos    3  2-5 anos    4  5-10 anos  
5  10-20 anos    6  20-30 anos    7  Acima de 30 anos

14. Horas de trabalho diárias

1  4 horas    2  6 horas    3  8 horas    4  10 horas    5  12 horas    6  Acima de 12 horas

15. Dias trabalhados na semana

1  1-3 dias    2  3-5 dias    3  6-7 dias

16. Renda mensal (SM = R\$ 1.045,00)

1  Menos de 1 SM    2  1-2 SM    3  2-3 SM    4  3-5 SM    5  Mais de 5 SM

### EXPOSIÇÃO ÀS MANCHAS DE ÓLEO

(Identificar o tipo e o tempo de exposição às manchas de óleo)

17. Teve contato com a mancha de óleo no mar?

Sim    1  Direto    2  Indireto    0  Não (*pular para a questão 21*)

18. Usou algum equipamento de proteção na primeira semana de exposição no mar?

Sim    1  Luva    – Qual? \_\_\_\_\_    2  Máscara    – Qual?

3  Bota – Qual? \_\_\_\_\_    4  Bata/jaleco    – Qual?

5  Outro – Qual? \_\_\_\_\_    0  Não

19. Por quantas horas esteve exposto à mancha de óleo por dia no mar?

1  < 1 hora    2  1-2 horas    3  2-3 horas    4  3-4 horas    5  4-5 horas    6  5-6 horas  
7  > 6 horas

20. Por quantos dias esteve exposto à mancha de óleo no mar?

1  1 dias    2  2-3 dias    3  3-4 dias    4  4-5 dias    5  5-6 dias    6  6-7 dias  
7  Acima de 7 dias

21. Teve contato com a mancha de óleo na areia?

Sim    1  Direto    2  Indireto    0  Não (*pular para a questão 25*)

22. Usou algum equipamento de proteção na primeira semana de exposição na areia?

Sim    1  Luva    – Qual? \_\_\_\_\_    2  Máscara    – Qual?

3  Bota – Qual? \_\_\_\_\_    4  Bata/jaleco    – Qual?

5  Outro – Qual? \_\_\_\_\_    0  Não

23. Por quantas horas esteve exposto à mancha de óleo por dia na areia?

1  < 1 hora    2  1-2 horas    3  2-3 horas    4  3-4 horas    5  4-5 horas    6  5-6 horas  
7  > 6 horas

---

24. Por quantos dias esteve exposto à mancha de óleo na areia?

1  1 dias    2  2-3 dias    3  3-4 dias    4  4-5 dias    5  5-6 dias    6  6-7 dias  
7  Acima de 7 dias

---

25. Teve contato com a mancha de óleo no mangue?

Sim    1  Direto    2  Indireto    0  Não (*pular para a questão 29*)

---

26. Usou algum equipamento de proteção na primeira semana de exposição no mangue?

Sim    1  Luva    – Qual? \_\_\_\_\_    2  Máscara    – Qual?

\_\_\_\_\_    3  Bota – Qual? \_\_\_\_\_    4  Bata/jaleco    – Qual?

\_\_\_\_\_    5  Outro – Qual? \_\_\_\_\_    0  Não

---

27. Por quantas horas esteve exposto à mancha de óleo por dia no mangue?

1  < 1 hora    2  1-2 horas    3  2-3 horas    4  3-4 horas    5  4-5 horas    6  5-6 horas  
7  > 6 horas

---

28. Por quantos dias esteve exposto à mancha de óleo no mangue?

1  1 dias    2  2-3 dias    3  3-4 dias    4  4-5 dias    5  5-6 dias    6  6-7 dias  
7  Acima de 7 dias

---

29. Teve contato com a mancha de óleo no rio?

Sim    1  Direto    2  Indireto    0  Não (*pular para a questão 33*)

---

30. Usou algum equipamento de proteção na primeira semana de exposição no rio?

Sim    1  Luva    – Qual? \_\_\_\_\_    2  Máscara    – Qual?

\_\_\_\_\_    3  Bota – Qual? \_\_\_\_\_    4  Bata/jaleco    – Qual?

\_\_\_\_\_    5  Outro – Qual? \_\_\_\_\_    0  Não

---

31. Por quantas horas esteve exposto à mancha de óleo por dia no rio?

1  < 1 hora    2  1-2 horas    3  2-3 horas    4  3-4 horas    5  4-5 horas    6  5-6 horas  
7  > 6 horas

---

32. Por quantos dias esteve exposto à mancha de óleo no rio

1  1 dias    2  2-3 dias    3  3-4 dias    4  4-5 dias    5  5-6 dias    6  6-7 dias  
7  Acima de 7 dias

---

33. Fez uso de protetor solar?

1  Sim    0  Não

---

34. Recebeu alguma orientação sobre o manejo da mancha de óleo?

Sim    1  Governo    2  ONG    3  Associação    4  Imprensa    0

Não

---

35. Mora próximo do local onde as manchas de óleo apareceram?

- Sim   1  Aprox. 100 m                      2  Aprox. 200 m                      3  Aprox. 300 m  
 4  Aprox. 400 m                      5  Aprox. 500 m                      6  Acima de 500 m      0

Não

### CONSUMO DE ALIMENTOS

(Identificar se a população estudada fazia ou faz uso de alimentos possivelmente contaminados)

36. Costumava se alimentar com algum tipo de pescado antes do aparecimento das manchas de óleo?

- 1  Sim                      0  Não (*pular para a questão 39*)

37. Qual tipo?

- 1  Peixe de rio              2  Peixe de mar              3  Crustáceo de rio      4  Crustáceo de mar  
 5  Marisco      6  Ostra

38. Com que frequência?

- 1-2/mês       3-4/mês       1-2/semana               3-5 vezes/semana

Diariamente

39. Consumiu algum tipo de pescado na época que as manchas de óleo surgiram?

- Sim                       Não (*pular para a questão 42*)

40. Qual tipo?

- Peixe de rio     Peixe de mar               Crustáceo de rio       Crustáceo de mar

Marisco  Ostra

41. Com que frequência?

- 1-2/mês       3-4/mês       1-2/semana               3-5 vezes/semana

Diariamente

42. Consumiu algum tipo de pescado nos últimos 3 meses?

- Sim                       Não (*pular para a questão 45*)

43. Qual tipo?

- Peixe de rio     Peixe de mar               Crustáceo de rio       Crustáceo de mar

Marisco  Ostra

44. Com que frequência?

- 1-2/mês       3-4/mês       1-2/semana               3-5 vezes/semana

Diariamente

### HISTÓRICO DE DOENÇAS PRÉVIAS

(Identificar se a população estudada possui alguma doença prévia)

45. Antes do aparecimento das manchas de óleo possuía alguma dessas doenças

- Hipertensão     Insuficiência cardíaca     Arritmia               Bronquite       Enfisema

Cirrose  Asma

- Anemia               Insuficiência renal       Diabetes               Obesidade       TG elevados

Colesterol elevado

- Câncer – Qual? \_\_\_\_\_  Outro – Qual? \_\_\_\_\_

Nenhuma

46. Já teve Hepatite?

- Sim  Não

47. Durante o manejo da mancha de óleo sentiu algum desses sintomas?

(Se não teve contato com as manchas, pular para a questão 52)

- Dor de cabeça  Febre  Coceira  Feridas na pele  Náuseas  
 Vômito  
 Tontura  Vertigem  Visão turva  Confusão  Falta de ar  
 Boca seca  
 Falta de apetite  Salivação  Cansaço  Agitação  Dificuldade

de urinar

- Dor no estômago  Outro – Qual? \_\_\_\_\_  Nenhum

48. Após as manchas sentiu algum desses sintomas?

- Dor de cabeça  Febre  Coceira  Feridas na pele  Náuseas  
 Vômito  
 Tontura  Vertigem  Visão turva  Confusão  Falta de ar  
 Boca seca  
 Falta de apetite  Salivação  Cansaço  Agitação  Dificuldade

de urinar

- Dor no estômago  Outro – Qual? \_\_\_\_\_  Nenhum

49. Procurou o serviço de saúde?

- Sim  No município  Fora do município – Onde? \_\_\_\_\_  
 Posto de saúde  Policlínica  Hospital público  
 Clínica privada  Hospital privado  Não

50. Fez algum exame de laboratório antes de exposição ao óleo?

- Sim  Sangue  Urina  Fezes  Não

51. Fez algum exame de laboratório após de exposição ao óleo?

- Sim  Sangue  Urina  Fezes  Não

### USO DE MEDICAMENTOS

(Identificar o padrão de uso de medicamentos que podem ocasionar alterações nos resultados dos exames)

52. Fazia uso de algum tipo de medicamento antes da exposição ao óleo?

- Sim  Não (pular para a questão 50)

53. Qual tipo?

- Antihipertensivo  Insulina  Antidiabético  Sedativo/hipnótico  
 Ansiolítico  
 Antidepressivo  Antipsicótico  Antilipidêmico  Analgésico  
 Antiinflamatório

Antitrombótico       Outro – Qual? \_\_\_\_\_

---

54. Começou a fazer uso de algum tipo de medicamento após a exposição ao óleo?

Sim       Não (*pular para a questão 56*)

---

55. Qual tipo?

Antihipertensivo       Insulina       Antidiabético       Sedativo/hipnótico  
 Ansiolítico  
 Antidepressivo       Antipsicótico       Antilipidêmico       Analgésico  
 Antiinflamatório  
 Antitrombótico       Outro – Qual? \_\_\_\_\_

---

### USO DE ÁLCOOL E OUTRAS SUBSTÂNCIAS

(Identificar o uso de álcool e outras substâncias e o padrão de uso como possíveis interferentes dos exames realizados)

---

56. Faz uso de bebida alcoólica?

Sim       Não (*pular para a questão 58*)

---

57. Com qual frequência?

Diário       3 vezes/semana       2 vezes/semana       1 vez/semana  
 Esporádico

---

58. Faz uso de cigarro?

Sim       Não (*pular para a questão 61*)

---

59. Com qual frequência?

Diário       3 vezes/semana       2 vezes/semana       1 vez/semana  
 Esporádico

---

60. Quantos cigarros fuma por dia?

1-2       2-5       5-10       10-20       Mais de 20

---

61. Faz uso de algum tipo de droga?

Sim       Não

---

*Legenda:*

*IGN = Ignorado; SM = Salário Mínimo; ONG = Organização Não-Governamental; TG = Triglicerídeos*

## ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa (Identificação de elementos traços e biomonitoração de danos genotóxicos na população exposta ao óleo contaminante no litoral pernambucano) que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) (Julianne Caroline Freires de Lima), Departamento de Biofísica e Radiobiologia (UFPE), Primeiro andar no prédio do Centro de Ciências da Saúde, Av. da Engenharia, s/n - Cidade Universitária, Recife - PE, 52171-011, (81) 2126-8535 / (81) 99807-8247 e-mail: julianne.caroline@outlook.com. Também participa desta pesquisa a pesquisadora: Fabiana Farias de Lima Guimarães, e-mail: fflima@cnen.gov.br Telefone para contato: (81) 3797-8024 e está sob a orientação de Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo. Telefone para contato (81) 2126-8535, e-mail: ana.mameloufpe.br.

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

O (a) senhor (a) estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade.

### INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

**Descrição da pesquisa e esclarecimento da participação:** O presente estudo tem o objetivo de avaliar os efeitos genotóxicos e mutagênicos e aferir os elementos traços na população de voluntários, pescadores e marisqueiras residentes de áreas atingidas pelo óleo derramado, que foram expostos ao óleo derramado no litoral pernambucano.

Tal pesquisa é necessária, pois, pesquisas demonstram que indivíduos que trabalham em campos de petróleo ou que participaram ativamente na limpeza de derramamentos de óleo, desenvolveram problemas de saúde, como irritação na pele, olhos, mucosas, danos nos rins, fígado, entre outros, além de sugerirem danos ao DNA e relação com a leucemia.

Sua participação nessa pesquisa consistirá em fornecer amostras de sangue (7 ml), por punção venosa, com a utilização de seringa e a amostra será distribuída para um tubo de 3,5 ml com o anticoagulante EDTA e para um tubo de 3,5 ml com o anticoagulante heparina., após assinatura deste termo. Seu material será usado exclusivamente para efeito desta pesquisa. O(a) Sr(a). também responderá um questionário para verificação do seu estado geral de saúde, apontando se nos últimos seis meses antes da coleta houve alguma exposição à radiação terapêutica ou raios X diagnóstico; aplicação de vacinas; ou consumo de drogas ilícitas. Essas informações são necessárias, pois os fatores citados podem alterar os resultados. Vale ressaltar que esse questionário será respondido de forma individual e particular para evitar qualquer tipo de constrangimento.

- **RISCOS:** Os riscos inerentes à participação podem ser: (1) o constrangimento em não saber ou não querer responder a algum item do questionário, caso a amostra seja considerada apta para pesquisa (2) durante a coleta, que obedecerá aos requisitos de segurança e assepsia, os voluntários poderão sentir uma ardência local e, eventualmente, após coleta, poderá se formar um hematoma, que desaparecerá em poucos dias. Esses riscos podem ser minimizados (1) realizando o questionário de forma individual e privada; e (2) utilizando compressa de gelo logo após a coleta. Há também a possibilidade de desistência de participação na pesquisa a qualquer momento. Ressaltamos que, em momento algum, o(a) senhor(a) será exposto(a) a quaisquer fontes radioativas.
- **BENEFÍCIOS diretos/indiretos** para os voluntários: O benefício direto ao voluntário será de fornecer a informação dos possíveis danos causados aos voluntários que entraram em contato com o óleo derramado no litoral nordestino. Essa informação será enviada pós análise aos doadores por meio de um documento/carta padrão via correio ou e-mail. No caso dos indiretos, os laboratórios de dosimetria biológica do CRCN/NE e de Radiobiologia do DBR/UFPE localizado no Estado, com a obtenção dessas informações, poderão contribuir com dados científicos para a criação de novas políticas de saúde pública e protocolos de resposta para acidentes futuros de mesma natureza.

Esclarecemos que os participantes dessa pesquisa têm plena liberdade de se recusar a participar do estudo e que esta decisão não acarretará penalização por parte dos pesquisadores. Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa tais como os questionários e os resultados das análises citogenéticas, ficarão armazenados em pastas de arquivos do próprio centro de pesquisa –Departamento de Biofísica e Radiobiologia da UFPE, sob a responsabilidade da pesquisadora Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo, no endereço acima informado, pelo período de mínimo 5 anos. Após o término da pesquisa.

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extrajudicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação).

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, o (a) senhor (a) poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (**Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cephumanos.ufpe@ufpe.br**).

\_\_\_\_\_  
(assinatura do pesquisador)

#### CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do “Identificação de elementos traços e biomonitoração de danos genotóxicos na população exposta ao óleo contaminante no litoral pernambucano”, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Local e data \_\_\_\_\_

Assinatura do participante: \_\_\_\_\_

Impressão  
digital  
(opcional)

**Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar.** (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

## **ANEXO C - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Identificação de elementos traços e biomonitoração de danos genotóxicos na população exposta ao óleo contaminante no litoral pernambucano

Pesquisador: GAEL FREIRES DE LIMA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 43124621.0.0000.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.598.131

Apresentação do Projeto:

O Projeto tem como título "Identificação de elementos traços e biomonitoração de danos genotóxicos na população exposta ao óleo contaminante no litoral pernambucano", o qual será desenvolvido como pesquisa da mestrandia Julianne Caroline Freires de Lima do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares PROTEN. A equipe tem a participação da Professora Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo do Departamento de Biofísica da Universidade Federal de Pernambuco e co-orientação da Dr<sup>a</sup>. Fabiana Farias de Lima Guimarães, pesquisadora do Centro Regional de Ciências Nucleares-CRCN.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar os efeitos genotóxicos e mutagênicos e aferir os elementos traços na população de voluntários, pescadores e marisqueiras residentes de áreas atingidas pelo óleo derramado, que foram expostos ao óleo derramado no litoral pernambucano.

Objetivo Secundário:

Analisar os efeitos genotóxicos em sangue humano dos indivíduos expostos ao óleo contaminante por meio do ensaio cometa e do ensaio de micronúcleo; Comparar o perfil da concentração de elementos traços no sangue humano dos indivíduos expostos ao óleo

contaminante e os indivíduos não expostos; Associar os danos genotóxicos dos indivíduos expostos ao óleo contaminante a presença dos elementos traços.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

##### Riscos:

Os riscos inerentes à participação podem ser: (1) o constrangimento em não saber ou não querer responder a algum item do questionário, caso a amostra seja considerada apta para pesquisa (2) durante a coleta, que obedecerá aos requisitos de segurança e assepsia, os voluntários poderão sentir uma ardência local e, eventualmente, após coleta, poderá se formar um hematoma, que desaparecerá em poucos dias. Esses riscos podem ser minimizados (1) realizando o questionário de forma individual e privada; e (2) utilizando compressa de gelo logo após a coleta. Há também a possibilidade de desistência de participação na esquisa a qualquer momento. Ressaltamos que, em momento algum, o(a) senhor(a) será exposto(a) a quaisquer fontes radioativas.

##### Benefícios:

O benefício direto ao voluntário será de fornecer a informação dos possíveis danos causados aos voluntários que entraram em contato com o óleo derramado no litoral nordestino. Essa informação será enviada pós análise aos doadores por meio de um documento/carta padrão via correio ou email. No caso dos indiretos, os laboratórios de dosimetria biológica do CRCN/NE e de Radiobiologia do DBR/UFPE localizado no Estado, com a obtenção dessas informações, poderão contribuir com dados científicos para a criação de novas políticas de saúde pública e protocolos de resposta para acidentes futuros de mesma natureza.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A hipótese do projeto é que existe a presença de danos genotóxicos na população contaminada pelo óleo vazado no litoral nordestino. Nesse contexto, a pesquisa terá a participação de 50 voluntários (incluindo pescadores e marisqueiras), de ambos os sexos, maiores de 18 anos de idade, residentes em áreas atingidas pelo derramamento de óleo ocorrido em outubro de 2019 no Estado de Pernambuco.

Inicialmente será realizada assembléia nas Colônias de pescadores para esclarecer sobre o objetivo da pesquisa, sua metodologia e dos resultados esperados. O contato será possibilitado pelo Conselho Pastoral da Pesca que mantém o cadastro de todas as Colônias. Após o contato e a apresentação será realizado um questionário com os principais dados biográficos de cada indivíduo, bem como perguntas relacionadas à natureza do contato com o óleo, se por inalação, contato com a pele ou até mesmo

ingestão. No questionário será abordada também a frequência de ingestão de pescados, crustáceos e mariscos, após o aparecimento de resíduos, bem como se os pescadores mantiveram contato assíduo com ambiente marinho e no manguezal.

Em se tratando dos experimentos, para obtenção dos linfócitos, os ensaios laboratoriais serão conduzidos com coleta de sangue periférico, 7 mL sendo 3,5 ml em um tubo com EDTA (anticoagulante) e 3,5 ml em um tubo com heparina (anticoagulante). As amostras de sangue, serão mantidas sob 4°C de refrigeração.

O grupo controle será de indivíduos que não tiveram contato com o óleo, nem ingeriram pescados, crustáceos e mariscos de áreas afetadas, nem com a água do mar ou de rios, mesmo sem a presença visível do óleo.

Para a técnica de micronúcleos, o sangue controle será analisado para verificação do nível de background da frequência de micronúcleos derivados dos agentes clastogênicos. Serão adotadas as recomendações da International Agency Atomic Energy-IAEA, onde o número de micronúcleos deve estar na faixa de 0 a 40 em mil células. Para o ensaio cometa haverá um controle positivo, onde será adicionado um indutor de danos ao DNA, sendo 3ml de ciclofosfamida a 1mg/ml.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória foram devidamente apresentados.

Recomendações:

Não há recomendações, mas há pendências.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/CCS/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1691337.pdf	15/03/2021 16:46:02		Aceito
Outros	CartaPendencias.pdf	15/03/2021 16:45:37	JULIANNE CAROLINE FREIRES DE LIMA	Aceito
Outros	Questionario.docx	15/03/2021 16:44:02	JULIANNE CAROLINE FREIRES DE LIMA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCEPJulianne.doc	15/03/2021 16:41:36	JULIANNE CAROLINE FREIRES DE LIMA	Aceito
Outros	Matricula.pdf	11/02/2021 10:26:03	JULIANNE CAROLINE FREIRES DE LIMA	Aceito
Outros	CurriculoFabi.pdf	11/02/2021 10:25:39	JULIANNE CAROLINE FREIRES DE LIMA	Aceito
Outros	CurriculoAna.pdf	11/02/2021 10:24:57	JULIANNE CAROLINE FREIRES DE LIMA	Aceito
Outros	Curriculo.pdf	11/02/2021 10:24:18	JULIANNE CAROLINE FREIRES DE LIMA	Aceito
Outros	TermoConfidencialidadeAssinado.pdf	11/02/2021 10:23:46	JULIANNE CAROLINE FREIRES DE LIMA	Aceito
Outros	CartaAnuenciaFabiana.pdf	11/02/2021 10:23:16	JULIANNE CAROLINE	Aceito
Outros	CartaAnuenciaFabiana.pdf	11/02/2021 10:23:16	DE LIMA	Aceito

Outros	CartaAnuenciaAna.pdf	11/02/2021 10:19:15	JULIANNE CAROLINE FREIRES DE LIMA	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	11/02/2021 10:18:38	JULIANNE CAROLINE FREIRES DE LIMA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	19/01/2021 13:29:02	JULIANNE CAROLINE FREIRES DE LIMA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 18 de Março de 2021

---

Assinado por:

Gisele Cristina Sena da Silva (Coordenador(a))