

**MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO  
SECRETARIA DE INSPEÇÃO DO TRABALHO  
DEPARTAMENTO DE SEGURANÇA E SAÚDE NO  
TRABALHO**

**PORTARIA N.º34, DE 20 DE DEZEMBRO DE 2001**

**A SECRETÁRIA DE INSPEÇÃO DO TRABALHO e o DIRETOR DO DEPARTAMENTO DE SEGURANÇA E SAÚDE NO TRABALHO**, no uso de suas atribuições legais, e, considerando os estudos desenvolvidos para definição de um indicador biológico de exposição, proposto no item 8.1.4 do Acordo do Benzeno; considerando que o item 5.4 do Anexo 13 A, com redação dada pela Portaria N.º 14, de 20 de dezembro de 1995, estabelece que as ações de vigilância à saúde dos trabalhadores próprios e de terceiros previstas no conteúdo do PPEOB devem ser realizadas segundo a Instrução Normativa – IN N.º 02, de 20 de dezembro de 1995; considerando que o item 2.1.5 do anexo da IN N.º 02 supracitada estabelece que os dados toxicológicos dos grupos de risco obtidos pela avaliação de indicadores biológicos de exposição devem ser instrumentos utilizados para o propósito de vigilância da saúde; e, considerando ainda que a Comissão Nacional Permanente do Benzeno – CNPBz aprovou o protocolo atendendo ao disposto no item 2.1.5 do anexo da IN N.º 02, desenvolvido sob coordenação do Ministério da Saúde/FIOCRUZ – CESTEJ e do Ministério do Trabalho/FUNDACENTRO, resolvem:

Art. 1º - Publicar o protocolo anexo a esta Portaria, visando determinar os procedimentos para a utilização de indicador biológico de exposição ocupacional ao benzeno.

Art. 2º - Esta portaria entra em vigor na data de sua publicação.

**VERA OLÍMPIA GONÇALVES**  
Secretária de Inspeção do Trabalho

**JUAREZ CORREIA BARROS JÚNIOR**  
Diretor do Departamento de Segurança e Saúde no Trabalho

**ANEXO**

**PROTOCOLO PARA A UTILIZAÇÃO DE INDICADOR BIOLÓGICO DA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL AO BENZENO**

**1. Histórico**

Com as medidas previstas e em alguns casos já estabelecidas, para a diminuição da concentração do benzeno nos ambientes de trabalho e, por conseguinte, o controle da exposição ocupacional a este agente, o fenol urinário, como Indicador Biológico de Exposição ao Benzeno (IBE-Bz), teve sua aplicação restringida, quando não ultrapassada, no gerenciamento deste controle.

Desta forma foi retirada à obrigatoriedade da determinação de fenol urinário em trabalhadores potencialmente expostos a benzeno. A Comissão Nacional Permanente do Benzeno (CNP-Bz), vem desde sua criação, discutindo a implantação de outros indicadores para avaliação da exposição ocupacional a este agente.

Com este objetivo foram já realizados:

- a. Protocolo de estudos para implantação do indicador biológico de exposição ao benzeno;
- b. Seminário informativo IBE-Bz, realizado na FUNDACENTRO, em São Paulo, no dia 12.08.96, que contou com cerca de 70 participantes;

- c. Oficina de Trabalho realizada em 13.08.96, com pesquisadores convidados, além dos integrantes do Grupo de Trabalho indicado na época, pela CNP-Bz. Nesta oportunidade foram apresentados projetos de pesquisa visando estudar alguns dos indicadores propostos na literatura;
- d. Oficina de Trabalho sobre IBE-Bz, em 26/10/98, na qual os participantes resolveram encaminhar para a CNP-Bz uma recomendação de que fosse elaborado um protocolo indicativo sobre possíveis IBEs a serem utilizados para a avaliação da exposição ocupacional ao benzeno;
- e. Acompanhamento das teses de doutorado de Maurício Xavier Contrim, sobre: “Desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação de indicador biológico de exposição ao benzeno” e de Maria de Fátima Barrozo da Costa sobre: “Estudo da aplicabilidade do ácido trans,trans-mucônico urinário como indicador biológico de exposição ao benzeno”, assim como a dissertação de mestrado de Eduardo Macedo Barbosa sobre “Exposição Ocupacional ao Benzeno: o ácido trans,trans-mucônico como indicador biológico de exposição na indústria de refino de petróleo” e de Isarita Martins sobre “Determinação do ácido t-t-mucônico urinário por cromatografia líquida de alta eficiência visando a biomonitorização de trabalhadores expostos ao benzeno”; e,
- f. Decisão da CNP-Bz em dar encaminhamento à elaboração do presente protocolo, com a indicação do ácido trans,trans-mucônico urinário (AttM - U) como IBE-Bz.

## **2. Do objetivo**

Estabelecer a utilização de indicadores biológicos para detecção de possível exposição ocupacional ao benzeno, que possuam características de aplicabilidade, especificidade e sensibilidade para exposição a baixas concentrações de benzeno em ambiente de trabalho compatíveis com o valor de referência tecnológico preconizado no Brasil, podendo portanto ser utilizado como ferramenta de acompanhamento de Higiene do Trabalho e da Vigilância da Saúde do Trabalhador, conforme item 2.1.5 da Instrução Normativa Nº 2.

## **3. Do indicador biológico de exposição**

### **3.1 Conceito**

Indicador biológico de exposição é uma substância química, elemento químico, atividade enzimática ou constituintes do organismo cuja concentração (ou atividade) em fluido biológico (sangue, urina, ar exalado) ou em tecidos, possui relação com a exposição ambiental a determinado agente tóxico. A substância ou elemento químico determinado pode ser produto de uma biotransformação ou alteração bioquímica precoce decorrente da introdução deste agente tóxico, no organismo. Para os agentes químicos preconizados na NR7, é definido o índice biológico máximo permitido (IBMP) que é “o valor máximo do indicador biológico para o qual se supõe que a maioria das pessoas ocupacionalmente expostas não corre risco de dano à saúde. A ultrapassagem deste valor significa exposição excessiva”. Este valor (IBMP) deve ter correlação com a concentração do agente químico no ambiente de trabalho, definida como limite de tolerância ou limite de exposição ocupacional.

A adoção do VRT (Valor de Referência Tecnológico) traz a necessidade de reavaliar o conceito de IBMP para o IBE ao benzeno. O VRT é baseado principalmente na exequibilidade tecnológica e foram estabelecidos valores distintos para diferentes ramos industriais. O cumprimento do VRT é obrigatório, mas NÃO EXCLUI RISCO À SAÚDE. Por isso, para o benzeno não faz sentido o estabelecimento de índice biológico máximo permitido.

Na Alemanha, onde se utiliza TRK, valor técnico de concentração ambiental para substâncias carcinógenas, base conceitual do VRT, não se estabelecem valores limite para IBEs de substâncias carcinógenas ou mutagênicas. São apresentadas no entanto, listas de concentrações dos IBEs em fluidos biológicos equivalentes a

diferentes valores de concentração ambiental, para que sirvam de guia na investigação da exposição do trabalhador a esses agentes.

No Brasil, também está sendo adotado este conceito. Deverão ser estabelecidas concentrações equivalentes dos IBEs com a concentração ambiental do benzeno.

Portanto, este protocolo não trata somente da introdução de um novo IBE para o benzeno, mas também da modificação da maneira de se interpretar os resultados obtidos.

### **3.2 Objetivo**

O IBE deve ser utilizado como ferramenta de higiene do trabalho e como instrumento auxiliar de vigilância à saúde. Poderá, portanto, ser utilizado para:

(1) correlação com os resultados de avaliações da exposição ocupacional na zona respiratória do trabalhador, obtidas pela higiene ocupacional;

(2) dedução, a partir dos resultados obtidos, da parcela de benzeno absorvida após exposição do trabalhador;

(3) verificação de mudanças qualitativas do perfil de exposição do grupo homogêneo estudado (mudanças de processo, de procedimentos ou de equipamentos);

(4) verificação de outras vias de penetração do benzeno no organismo, que não a inalatória; pela pele, por exemplo; e,

(5) verificação indireta da eficácia dos dispositivos de proteção usados.

### **3.3 Metodologia de aplicação**

O IBE só deve ser utilizado quando se têm bem definidos os objetivos de sua determinação e estabelecidos os critérios de interpretação dos resultados. Pode ter pouco significado a determinação do IBE em datas pré-agendadas, como nos exames periódicos, por exemplo, que podem coincidir com períodos em que o trabalhador não executou nenhuma atividade relacionada com o benzeno.

Quando se pretende atingir qualquer um dos três primeiros objetivos relacionados no item 3.2 deve-se de preferência avaliar o IBE em grupos de no mínimo 20 trabalhadores (Buschinelli & Kato, 1989) ou em todo o grupo homogêneo de exposição, se este for em número menor do que 20, em conjunto com as avaliações da exposição ocupacional na zona respiratória do trabalhador.

Para os dois últimos objetivos, a análise deve ser realizada em grupos de quaisquer número de trabalhadores que estiveram em situações de exposições aguda e sujeitos a outras vias de penetração.

A interpretação dos resultados do grupo homogêneo de exposição deve ser feita levando-se em consideração os dados de todo o grupo avaliado, segundo Buschinelli & Kato. Esta forma de interpretação permite avaliar o nível de exposição e fazer inferência do potencial de agravo à saúde ou eficácia dos dispositivos de proteção respiratória.

Resultados individuais do grupo homogêneo muito discrepantes do conjunto não devem ser tratados como provável dano à saúde e devem ser expurgados estatisticamente da análise grupal, procedimento de rotina em estudos estatísticos. Devem, no entanto, ser investigados visando desencadear ações corretivas de higiene industrial e de vigilância à saúde individual, específicas para a ocorrência.

Em casos de investigação de exposições potencialmente excessivas ou não rotineiras tais como emergências ou vazamentos, qualquer valor deve ser avaliado individualmente para verificação de possível sobre-exposição.

## **4. Da indicação do ácido trans, trans-mucônico**

A monitorização biológica da exposição ao benzeno pode ser realizada através de diferentes indicadores, que vão desde aqueles com meia vida biológica curta como o benzeno no ar exalado ou seus metabólitos urinários, até os adutores formados a partir de proteínas do sangue e moléculas de DNA que podem persistir por meses no organismo humano.

O desenvolvimento de metodologias analíticas vem oferecendo a possibilidade de avaliar uma série de indicadores biológicos de exposição. Dentre os mais estudados, podemos destacar: os ácidos trans,trans-mucônico e fenil mercaptúrico urinários, e o benzeno inalterado no ar exalado, na urina e no sangue.

A concentração do metabólito urinário corresponde a um valor médio ponderado, em relação ao período da exposição, ao momento da coleta e ao tempo de biotransformação da substância. Sendo a urina um fluido biológico que pode ser coletado através de processo não invasivo, e recomendada neste protocolo.

Entre os indicadores biológicos urinários preconizados para avaliar a exposição ocupacional ao benzeno em baixos níveis de concentração no ar, o AttM-U é o de mais fácil determinação analítica, e por isto foi decidido pela CNP-Bz recomendá-lo como IBE ao benzeno.

#### **4.1 Características do Ácido trans,trans-mucônico**

A primeira etapa no processo de biotransformação do benzeno ocorre com a formação do epóxido de benzeno, através de uma oxidase microsomal de função mista, mediada pelo citocromo P-450. A partir daí, duas vias metabólicas se apresentam: a hidroxilação do anel aromático ou a sua abertura com a formação do ácido trans,trans-mucônico (AttM) (Barbosa, 1997).

Para a avaliação da exposição ocupacional de indivíduos com turnos de trabalho de seis a oito horas, a biotransformação do benzeno em ácido trans,trans-mucônico fornece uma concentração máxima do produto a partir de aproximadamente 5,1 horas após o início da exposição, sendo que cerca de 2 a 3,9% do benzeno absorvido é excretado pela urina na forma de AttM (Coutrim et al., 2000; Boogaard & Sittert, 1995)

#### **4.2 Procedimentos de coleta**

As amostras de urina devem ser coletadas em coletores universais de plástico, de 50 ml, no término da jornada de trabalho. Para jornadas de seis a oito horas diárias de trabalho, coletar a urina a partir do terceiro dia seguido de exposição. Os frascos devem ser imediatamente fechados e mantidos sob refrigeração (4°C) até no máximo uma semana.

Em situações de jornadas diferentes das anteriores ou situações de acidentes, deverão ser definidos critérios específicos de coleta, tecnicamente justificados.

#### **4.3 Transporte das amostras**

As amostras devem ser mantidas refrigeradas e devem ser enviadas o mais rápido possível ao laboratório.

#### **4.4 Armazenagem**

Barbosa (1997) mostrou a estabilidade das amostras refrigeradas a -20°C (menos vinte graus celsius) por um período de até dez semanas. Costa (2001) indicou que a amostra não sofre alteração por um mês, a esta temperatura. De acordo com os achados de Martins, I. (1999) em estudos de estabilidade do AttM -U, os resultados mostraram que no intervalo analisado (0,2 – 2,0 mg/L) a concentração de 0,2 mg/L mostrou-se estável somente por seis semanas; a partir da sétima semana, o valor já se encontrava fora do gráfico de controle. Já para a concentração de 2,0 mg/L, a estabilidade foi de quinze semanas, permanecendo o analito estável. Este autor também examinou a estabilidade por um período de dez dias em amostras conservadas a 4°C e os resultados mostraram que o analito permaneceu estável durante este período para as concentrações estudadas. Destes fatos, julgamos prudente que se armazene a amostra de urina a 4°C por um período de no máximo sete dias antes da análise. Se não for possível a análise das amostras, no prazo de uma semana, elas devem ser refrigeradas a -20°C (menos vinte graus celsius), por no máximo um mês.

#### **4.5 Análise química**

Recomenda-se a determinação do AttM-U segundo metodologia cromatográfica baseada nos procedimentos metodológicos desenvolvidos por Ducos et al. (1990), podendo se introduzir modificações, como apresentado por Costa (2001).

O laboratório deve ter um método padronizado, validado e participar de programa de controle de qualidade interlaboratorial e intralaboratorial para garantia da confiabilidade analítica de seus resultados.

#### **4.6 Interferentes**

O AttM-U é um indicador sensível, mas de especificidade média. A sua concentração é influenciada pelo hábito de fumar, quando ocorre exposição simultânea ao tolueno ou pela ingestão de ácido sórbico e seus sais presentes na alimentação (Ducos et al., 1990; Inoue et al., 1989; Ruppert et al., 1997; Maestri et al., 1996; Kok & Ong, 1994). Há suspeitas que hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

(HPAs) também interferem nesta avaliação (Kivistö et al., 1997). Em trabalhadores não ocupacionalmente expostos ao benzeno, a concentração do AttM-U está abaixo de 0,5 mg/g creatinina. A presença do AttM-U (abaixo de 0,5 mg/g creatinina) em pessoas não ocupacionalmente expostas é atribuída geralmente a ampla poluição ambiental pelo benzeno que surge de fontes tais como hábito de fumar e outros processos de combustão, poluição urbana pelos automóveis e provavelmente contaminação de alimentos pelo ácido sórbico um preservativo e agente fungistático muito comum em alimentos (queijo, carnes, peixe desidratado, vegetais em conserva, bebidas, etc) que é também convertido ao AttM, embora em quantidades traços. Nesta situação sugere-se a coleta de urina muitas horas após a última refeição o que permitiria ignorar um possível efeito aditivo do AttM-U decorrente da ingestão do ácido sórbico.

#### 4.7 Correção de resultados

Os resultados deverão ser ajustados pela concentração de creatinina na urina, e expressos em miligramas por grama de creatinina.

### 5. Interpretação dos resultados

Os valores de AttM-U acima dos valores de referência obtidos a partir de uma amostragem de uma população sadia, não ocupacionalmente exposta ao benzeno, podem indicar provável exposição do trabalhador a esta substância. Desta forma deve-se investigar o local de trabalho e como estão sendo realizadas as tarefas, para identificar as possíveis causas de sobre exposição. Valores acima dos correspondentes aos VRT indicam que o ambiente de trabalho não está em conformidade com o preconizado no Anexo 13A.

Os resultados de muitos trabalhos realizados em ambientes onde não há exposição ocupacional ao benzeno, têm mostrado dados bastante variados de AttM-U em populações de fumantes e não fumantes. A tabela abaixo demonstra esta situação:

Tabela – Dados encontrados na literatura para concentração de AttM-U, em fumantes e não fumantes de população não exposta ao benzeno

Ácido trans,trans-mucônico		Referência bibliográfica
Fumantes	Não Fumantes	
0,075 mg/g* (0,025-0,175)	0,025 mg/g*	Javelaud et al. (1998)
0,09 mg/g*	0,05 mg/g*	Ruppert et al. (1995)
0,25 mg/l** (0,06-0,43)	0,13 mg/l** (0,03-0,33)	Lee et al. (1993)
0,207 mg/g* (média 20 cigarros)	0,067 mg/g*	Maestri et al. (1995)
0,19 mg/g*	0,14 mg/g*	Ong et al. (1994a)

\* mg/g = miligrama de ácido trans,trans mucônico por grama de creatinina

\*\* mg/l = miligrama de ácido trans,trans mucônico por litro de urina

Para se fazer as correlações dos resultados das análises de AttM-U com a concentração de benzeno no ar, deverão ser utilizados os valores de correlação abaixo, estabelecidos pelo DFG (1996), com alteração dos resultados em mg/l para mg/gramas de creatinina, que foram feitas admitindo-se uma concentração média de 1,2 grama de creatinina por litro de urina.

Tabela – Correlação das concentrações de AttM-U com benzeno no ar, obtidas a partir dos valores estabelecidos pelo DFG (1996), corrigidos para grama/grama de creatinina (admitida concentração média de 1,2 grama de creatinina por litro de urina)

Benzeno no Ar (ppm)	Benzeno no Ar (mg/m3)	Ac. t,t mucônico (urina) (mg/l)	Ac. t,t mucônico (urina) (mg/grama creatinina)
0,3	1,0	-	-
0,6	2,0	1,6	1,3
0,9	3,0	-	-
1,0	3,3	2	1,6
2	6,5	3	2,5
4	13	5	4,2
6	19,5	7	5,8

### 6. Comissão Nacional Permanente do Benzeno

À Comissão Nacional Permanente do Benzeno (CNPBz) caberá acompanhar, na medida do possível, a aplicação destes indicadores biológicos, através de informações dos agentes de inspeção, das empresas e dos trabalhadores.

Poderá ainda, estabelecer o uso de novos indicadores ou reformulação de metodologias de análise, de acordo com a evolução do estado da arte sobre o assunto.

## 7. Reavaliação do protocolo

Este protocolo poderá ser revisto no prazo de dois anos de sua publicação, se assim for considerado relevante pela CNP-Bz.

## 8. Bibliografia

- Barbosa, E. M.,- **1997**, “Exposição Ocupacional ao Benzeno: o ácido trans-trans mucônico como indicador biológico de exposição na indústria de refino de petróleo”, *Dissertação de Mestrado*. CESTEH, Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz..
- Boogaard, P.J.; Van Sittert, N.J.; **1995**, “Biological monitoring of exposure to benzene: a comparison between s-phenylmercapturic acid, trans,trans-muconic acid and phenol”, *Occup. Environ. Med.*, 52: 611.
- Brugnone, F.; Perbellini, L.; Romeo, L.; Cerpelloni, M.; Cecco, A.; Leopard Barra, E.; Moro, G.; Marchiori, L.; Ferracin, A.; **1997**; “Environmental exposure and blood levels of benzene in gas station attendants. Comparison with the general population”; *Med. Lav.* 88(2): 131-147
- Buschinelli, J. T. P.; Kato, M., **1989**, “ Monitoramento biológico de exposição a agentes químicos”, São Paulo, *FUNDACENTRO*.
- Carvalho, A.B.; Arcuri, A.S.A.; Bedrikow, B.; Augusto, L.G.S.; Oliveira, L.C.C.; Bonciani, M.; Kato, M.; Gramacho, M.I.P.; Freitas, N.B.B.; & Novaes, T.C.P, **1995**, - BENZENO Subsídios Técnicos à Secretaria de Segurança e Saúde no Trabalho (SSST/MTb); 2. ed. - São Paulo: *FUNDACENTRO: FUNDUNESP*, , 86p..
- Costa, M. F. B.; Machado, J. M. H.; Moreira, J. C.; Brickus, L. S. R., **2000**, “Aplicabilidade do ácido trans,trans-mucônico urinário como indicador biológico na avaliação da exposição ocupacional ao benzeno”, *Revista Brasileira de toxicologia*,13:63-68.
- Costa. M.F.B. **2001**. “Estudo da Aplicabilidade do ácido trans,trans-mucônico urinário como Indicador Biológico de Exposição ao Benzeno”, *Tese de Doutorado*, Rio de Janeiro, Escola Nacional de Saúde Pública.
- Coutrim, M.X.; Carvalho, L.R.F.; Arcuri, A. S. A ; **2000**, “Avaliação dos métodos analíticos para a determinação de metabólitos do benzeno como potenciais biomarcadores de exposição humana ao benzeno no ar”, *Química Nova*, 23(5): 653.
- Coutrim, M.X.; Jager, A.V.; Carvalho, L.R.F.; Tavares, M.F.M.; **1997**, “Capillary electrophoresis determination of urinary muconic acid as a biological marker for benzene in cigarette smoke”, *J. Capillary Electrophor.* 44:39.
- Coutrim, M.X.; **1998**, “Desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação de indicador biológico de exposição ao benzeno”, *Tese de doutorado*. Instituto de Química, USP.
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft), **1996**, "List of MAK and BAT Values, do, Report nº 32", página 156, item IX Carcinogenic Substances
- Drummond, L. R.; Luck, R.; Afacan, A.S.; Wilson, H. K. **1988**, “Biological monitoring of workers exposure to benzene in the coke oven industry”; *Br. J. Ind. Med.* 45:256-261
- Ducos, P.; Gaudin, R.; Robert, A.; Francin, J.M.; Maire, C.; **1990**, Improvement in HPLC Analysis of Urinary trans,trans-Muconic Acid, a Promising Substitute for Phenol in the Assessment of Benzene Exposure., *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 62: 529-534.
- Ducos, P.; Gaudin, R.; Bel, C.; Maire, C.; Francin, J.M.; Robert, A.; Wild, P.; **1992**, “trans,trans-muconic acid, a reliable biological indicator for the detection of individual benzene

exposure down to the ppm level”, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 64: 309-313.

- Freitas, N. B. B., Arcuri, A. S. A., **1997**, “Valor de referência tecnológico (VRT) – a nova abordagem de controle da concentração de benzeno nos ambientes de trabalho”, *Rev. Bras. Saúde Ocup.*, 89-90: 71-85.
- FUNDACENTRO, – **1996**, Acordo e Legislação sobre o Benzeno”, *FUNDACENTRO*, São Paulo, 60p.
- Ghittori, S.; Maestri, L.; Fiorentino, M.L.; Imbriani, M.; **1995**, “Evaluation of occupational exposure to benzene by urinalysis”, *Int. Arch. Occup. Health*, 67: 195-200.
- Ghittori, G.; Fiorentino, M.L.; Maestri, L.; Zadra, P.; Imbriani, M. **1995a**; In *Il Benzene – Tossicologia, Ambienti di Vita e di Lavoro*; Minoia et al., Eds. Morgan Edizioni Tecniche; Milano, p 347.
- Ghittori, S.; Maestri, L.; Rolandi, L.; Lodola, L.; Fiorentino, M.L.; Imbriani, M.; **1996**, “The determination of trans,trans-muconic acid in urine as an indicator of occupational exposure to benzene”, *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 11: 187-191.
- Inoue, O.; Seiji, K.; Kasahara, M.; Nakatsuka, H.; Watanabe, T.; Yin, S-G; Li, G-L; Cai, S-X; Jin, C.; Ikeda, M.; **1988**, “Determination of catechol and quinol in urine of workers exposed to benzene”, *Br. J. Ind. Med.* 45, 487-492.
- Inoue, O.; Seiji, K.; Nakatsuka, H.; Wantable, T.; Yin, S.N.; Li, G.L.; Cai, S.X.; Jin, C.; Ikeda, M.; **1989**, “Urinary t,t-muconic acid as a indicator of exposure to benzene”, *Br. J. Ind. Med.* 46: 122-127
- Javelaud, B.; Vian, L.; Molle, R.; Allain, P.; Allemand, B.; André, B.; Barbier, F.; Churet, A.M.; Dupuis, J.; Galand, M.; Millet, F.; Talmon, J.; Touron, C.; Vaissière, D.; Vechambre, D.; Vieules, M.; Viver, D.; **1998**, “Benzene exposure in car mechanics and road tanker drivers”, *Int. Arch. Environ. Health* 71:277-283.
- Kivistö, H.; Pekari, K.; Peltonen, K.; Svinhufvud, J.; Veidebaum, T.; Sorsa, M.; Aitio, A.; **1997**, “Biological monitoring of exposure to benzene in the production of benzene and in a cokery”; *Sci. Total Environ.* 199: 49-63.
- Lauwerys, R.R.; Buchet, J.P.; Andrien, F.; **1994**, “Muconic Acid in urine: a reliable indicator of occupational exposure to benzene”, *Am. J. Ind. Med.*, 25:297-300.
- Lee, B.; New, A.; Kok, P.; Ong, H.; Shi, C.; Ong, C. **1993**, “Urinary trans,trans-muconic acid determined by liquid chromatography: application in biological monitoring to benzene exposure”, *Clinical Chemistry*, 39: 1788-1792.
- Maestri, L.; Ghittori, S.; Fiorentino, M. L. ; Imbriani, M.; **1995**, “Il dosaggio dell’acido trans,trans-muconico urinario a basse concentrazioni”, *Med. Lav.* 86: 40-49
- Maestri, L.; Coccini, T.; Imbriani, M.; Ghittori, S.; Manzo, L.; Bin, L.; Pezzagno, **1996**, G. *Toxicol. Lett.* 88 (Supl.1): 43.
- Martins, I., **1999**, Determinação do ácido t-t-mucônico urinário por cromatografia líquida de alta eficiência visando a biomonitorização de trabalhadores expostos ao benzeno, *Dissertação de mestrado*, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.
- Melikian, A.A.; Prahalad, A.K.; Hoffmann, D.; **1993**, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2: 47.
- Melikin, A. A. ; Prahalad, A. K.; Secker Walker, R. H.; “Comparison of the levels of the urinary benzene metabolite trans-trans muconic acid in smokers and nonsmokers, and the effects of pregnancy”; **1996**, “*Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 3(3), 239-244
- Medeiros, A. M.; Bird, M. G.; Witz, G. **1991**, “ Potencial biomarkers of benzene exposure”, *J. Tox. Environ. Health*, 51: 519-539.
- Morgan, M. S.; Schaller, K. H.; **1999**, “An analysis of criteria for biological limit values developed in Germany and in the United States”, *Intern. Arch. Occup. Environ. Health*, 72:195-204.
- Ong, C.N.; Lee, B.L.; **1994**, “Determination of benzene and its metabolites: application in biological monitoring of

environmental and occupational exposure to benzene”, *J. Chromatogr. B: Biomed. Appl.* 660: 1-22.

- Ong, C.N.; Lee, B.L.; Shi, C.Y.; Ong, H.Y.; Lee, H.P.; **1994(a)**, “Elevated levels of benzene-related compounds in the urine of cigarette smokers”, *Int. J. Cancer* 59: 177-180.
- Ong, C. N.; Kok, P. W.; Lee, B. L.; Shi, C. Y.; Ong, H. Y.; Chia, K. S.; Lee, C. S.; Luo, X. W.; **1995**, “Evaluation of biomarkers for occupational exposure to benzene”; *Occup. Environ. Med.*, 52: 528-533.
- Ong, C. N.; Kok, P. W.; Ong, H. Y.; Shi, C. Y.; Lee, B. L.; Phoon, W. H.; Tan, K.T.; **1996**, “Biomarkers of exposure to low concentrations of benzene: a field assessment”, *Occup. Environ. Med.*, 53: 328-333.
- Paula, F. C. S., **2001**, “Validação do ácido trans,trans-mucônico urinário como biomarcador de exposição ao benzeno”, Dissertação de mestrado, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal, Minas Gerais.
- Popp, W.; Rauscher, D.; Muller, G.; Angerer, J.; Norpoth, K. **1994**, “Concentration of benzene in blood and S-phenylmercapturic acid and t,t-muonic acid in urine in car mechanics”, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 66: 1-6
- Rocha, C. A.; Leite, E. M. A.; **2001**; “Biomarcadores propostos para monitorar a exposição ocupacional ao benzeno, em substituição ao fenol urinário”, *Ver. Bras. Saúde Ocup.*, 26(97/98): 99-107
- Ruppert, T.; Scherer, G.; Tricker, A.R.; Rauscher, D.; Adlkofer, F.; **1995**, “Determination of urinary trans,trans-muonic acid by gas chromatography-mass spectrometry”, *J. Chromatogr. B: Biomed. Appl.* 666: 71.
- Ruppert, T.; Scherer, G.; Tricker, A.R.; Adlkofer, F.; **1997**, “trans, trans-muonic acid as a biomarker of non-occupational environmental exposure to benzene”, *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 69: 247.
- Salgado, P. E. T.; Pezzagno, G.; **1991**, “Indicadores biológicos de exposição ao benzeno”, *Rev. Bras. Saúde Ocup.* 19: 25-31