

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO TECNOLÓGICO

Projeto de Pesquisa

Título:

**Modelagem e monitoramento dos poluentes atmosféricos na
Região Metropolitana da Grande Vitória para fins da associação
entre a qualidade do ar e sintomas de asma em crianças e
adolescentes**

Equipe:

Prof. Dr. José Geraldo Mill – Coordenador - saúde, Depto. Ciências Fisiológicas/UFES

Profa. Dra. Jane Meri Santos – Coordenadora – qualidade do ar, Depto. Engenharia Ambiental/UFES

Prof. Dr. Neyval Costa Reis Jr – Coordenador Adjunto, Depto. Engenharia Ambiental/UFES

Profa. Dra. Taciana Toledo de Almeida Albuquerque – Pesquisadora, Depto. Engenharia Sanitária e Ambiental/UFMG

Profa. Dra. Elisa Valentim Goulart – Pesquisadora, Depto. Engenharia Ambiental/UFES

Profa. Dra. Ana Teresa Maças Lima – Pesquisadora, Depto. Engenharia Ambiental/UFES

Dra. Faradiba Sarquis Serpa – Pesquisadora, Depto. Clínica Médica/EMECSAM

Prof. Dr. Valdério Reisen – Pesquisador, Depto. Estatística/ UFES

SUMÁRIO

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROJETO | 3 |
| 2. <u>HISTÓRICO E JUSTIFICATIVA DO ESTUDO</u> | |
| 3. <u>OBJETIVOS DO ESTUDO</u> | |
| 4. METODOLOGIA | 8 |
| 4.1. População do estudo | 8 |
| 4.2. Tamanho Amostral | 9 |
| 4.3. Protocolo do Estudo: dados de saúde | 9 |
| 4.3.1. Seleção dos participantes/recrutamento | 9 |
| 4.3.2. Critérios de inclusão | 9 |
| 4.3.3. Critérios de exclusão | 10 |
| 4.3.4. Exames iniciais | 10 |
| 4.3.5. Medidas e dados a serem coletados em domicílio | 11 |
| 4.3.6. Obtenção de Dados Genéticos | 13 |
| 4.3.7. Análise de DNA de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) relevantes para asma e de metilação de todo o genoma | 14 |
| 4.3.8 Comunicação aos participantes do estudo sobre a análise genética e os resultados | 16 |
| 4.4. Protocolo do Estudo: dados de qualidade do ar | 16 |
| 4.4.1. Monitoramento da qualidade do ar | 16 |
| 4.4.2. Modelagem da dispersão atmosférica na RMGV | 19 |
| 4.5. Protocolo do Estudo: correlação estatística entre qualidade do ar e saúde | 29 |
| 5. CRONOGRAMA | 29 |
| REFERÊNCIAS | 29 |

1. Contextualização do projeto

Este projeto é parte integrante do estudo sobre associação entre a qualidade do ar e sintomas de asma em crianças e adolescentes residentes na cidade de Vitória, no estado do Espírito Santo. O estudo é conduzido por dois grupos distintos e integradores: (1) grupo saúde e (2) grupo qualidade do ar.

O grupo saúde é constituído por professores do Centro de Ciências da Saúde e objetiva o acompanhamento da saúde de crianças e adolescentes com asma a fim de obter os dados longitudinais necessários para a pesquisa de possíveis associações causais. A coleta de dados da saúde será feita diretamente em contato com os indivíduos, bem com seus pais ou responsáveis. Será realizada também uma coleta abrangente de covariáveis, incluindo análise de genes que, em outras populações, mostraram associação com o aparecimento ou gravidade da doença.

O grupo qualidade do ar é constituído por professores do Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental do Centro Tecnológico e objetiva o acompanhamento da qualidade do ar nas regiões de interesse por meio do monitoramento de diversos poluentes (PM_{10} , $PM_{2.5}$, CO_2 , CO , O_3 , e NO_x) ao qual a população investigada está exposta e a modelagem da dispersão atmosférica desses poluentes na área urbana.

Deste modo, dois projetos distintos, mas complementares, estão sendo conduzidos paralelamente no Centro de Ciências da Saúde e no Centro Tecnológico. Esses dois projetos distintos estão registrados na PRPPG sob sua formatação integrada. Este é um exemplo de colaboração multidisciplinar na mesma Instituição com objetivo de interesse direto a comunidade da região.

2. Histórico e justificativa do estudo

A asma é problema de saúde pública em todo o mundo, sendo uma das mais importantes doenças não

O Estudo Internacional de Asma e Alergias na Infância (ISAAC) avaliou a prevalência de asma e de rinite alérgica em vários municípios do Brasil (Costa et al. 2013). Em crianças e adolescentes, a taxa média de prevalência de asma ativa foi de 24% e 19%, respectivamente (Costa et al. 2013). Serpa et al. (2014) realizaram um estudo de prevalência de asma e rinite em escolares do município de Vitória por meio da aplicação do questionário ISAAC. Foram avaliados 2.452 escolares e as prevalências de asma e rinite foram 26,5% e 46,7%, respectivamente. Esses percentuais corresponderam às mais altas prevalências observadas em diferentes cidades do Brasil que participaram do estudo ISAAC.

A asma é a terceira causa de internação hospitalar e a quarta causa de morte por doença respiratória no Brasil (Costa et al. 2013; Souza-Machado et al. 2012). Na última década, vários estudos foram conduzidos no Brasil para caracterizar possíveis associações entre a prevalência de asma e necessidade de internação hospitalar devido aos efeitos nocivos sobre o aparelho respiratório de substâncias presentes na atmosfera, incluindo material particulado (MP), ozônio (O_3), dióxido de enxofre (SO_2) e óxidos de nitrogênio (NO_x), incluindo dados da região da Grande Vitória (Castro et al. 2007, 2011; FFM 2003, 2007; Freitas et al. 2016; Pereira, 1999).

A Região Metropolitana da Grande Vitória (RMGV) possui fontes de poluição importantes e diversificadas: industriais, veiculares, ressuspensão de partículas depositadas em vias de tráfego, residenciais e comerciais (combustão de gás liquefeito de petróleo e natural, além da utilização de produtos contendo compostos orgânicos voláteis), aterros sanitários, estocagem, transporte e comercialização de combustíveis (distribuidoras e envasadoras de GLP, postos de combustíveis, etc), portos e aeroportos e emissões biogênicas. Segundo o inventário de emissões da RMGV (IEMA 2011), a principal fonte de partículas (finas e grossas) é a ressuspensão em vias de tráfego seguida pela indústria mísnero-siderúrgica, veículos (escapamento, evaporação e desgaste de pneus) e portos. O SO_2 é emitido primordialmente pela indústria mísnero-siderúrgica, seguida pelas emissões em portos. O NO_x é emitido principalmente pela indústria mísnero-siderúrgica, seguida por veículos automotores (escapamento e evaporação) e portos.

Confidencial: Não Distribuir

mensurado e apresentado ao público nas estações da RAMQAR. Segundo esse mesmo relatório, o SO₂ não ultrapassou o padrão indicado pelo CONAMA relativos a curta exposição (médias 24 horas), entretanto, houve ultrapassagem da diretriz de qualidade do ar da OMS em todas as estações de monitoramento da RAMQAR. Finalmente, para o NO₂ e O₃, naquele ano, não foram registradas ultrapassagens do padrão CONAMA ou das diretrizes da qualidade do ar da OMS. Novamente, entre 2011 e 2013, o relatório de qualidade do ar indica que as medias anuais dos poluentes apresentaram tendência aproximadamente estáveis.

Com base em dados coletados pela RAMQAR, foram conduzidos estudos na RMGV que reportaram associações significativas entre as internações hospitalares por doenças respiratórias, incluindo asma, e o grau de poluição do ar (Castro et al. 2007, 2011; FFM 2003, 2007; Freitas et al. 2016; Pereira, 1999). Os artigos científicos publicados até aqui sobre asma e poluição do ar no Brasil e na Grande Vitória são decorrentes de estudos ecológicos ou de estudos descritivos relativos à população geral ou a subgrupos populacionais específicos. Tais estudos não são ideais para avaliar com precisão a associação entre exposição e resposta e a relação causativa entre a asma e a exposição aos poluentes suspensos no ar (Castro et al. 2011). Os estudos ecológicos não são adequados para estabelecer relações causais, servindo mais especificamente para gerar hipóteses e não para testá-las. Inferências no nível da população não podem traduzir com confiança efeitos no nível do indivíduo (Rothman et al., 2008). Embora os estudos conduzidos no Brasil tenham utilizado métodos quantitativos, tais como modelos aditivos generalizados (MAG) e modelos de regressão de Poisson, não houve coleta de dados primários, apenas uso de bases de dados de registros de saúde disponibilizados pelo DATASUS. Portanto, é possível que tenha havido contaminação dos achados principais por variáveis de confusão e limitações no uso de variáveis de controle.

Castro e Cols (2007) calcularam as taxas de atendimento ambulatorial por asma em crianças de até 6 anos de idade nos bairros de Vitória. Verificaram que essas taxas se associaram significativamente com os níveis de poluição, mas foram também maiores nos bairros onde os moradores têm condição socioeconômica mais baixa e condições sociais e ambientais mais precárias, incluindo ruas não pavimentadas, trânsito de caminhões pesados ou ônibus, e queima de lixo (Castro et al. 2007).

Confidencial: Não Distribuir

metilação de DNA, que possam contribuir para a suscetibilidade à asma (Thomsen et al. 2014). Evidências preliminares indicam que perfis alterados de metilação de DNA em amostras do epitélio das vias respiratórias e de leucócitos possam estar associados à asma (Nicodemus-Johnson et al. 2016, Stefanowicz et al. 2012; Kumar et al. 2016, Perera et al. 2009). Uma parte dessas alterações também mostrou relações com exposição à poluição do ar (Perera et al. 2009). Entretanto, esses estudos foram conduzidos em populações da América do Norte e Europa, inexistindo dados desta natureza na população brasileira. Até onde sabemos, somente um estudo recente em Salvador, Bahia, (Costa et al. 2015) avaliou marcadores genéticos em crianças com asma. Os autores relataram que as regiões cromossômicas 14q11 (associadas com *SLC7A7*, *MMP14* e *DADI*) e 15q22 (associadas com *RORA*, *SMAD3* e *SCG3*) podem estar associadas com sintomas de asma na infância. Devido às informações limitadas relacionadas às alterações de SNP e metilação de DNA na susceptibilidade à asma em crianças brasileiras, estudos adicionais podem contribuir com informações valiosas para a compreensão da influência de fatores genéticos e epigenéticos na suscetibilidade à asma nessa população.

Assim, este estudo se divide em dois projetos complementares: (1) monitoramento e modelagem da qualidade do ar na RMGV e (2) monitoramento direto de dados individuais, de parâmetros funcionais do aparelho respiratório concomitantemente com medidas da concentração de poluentes no ar respirável nas proximidades do local onde a criança reside a fim de investigar, em uma abordagem longitudinal, o impacto da poluição atmosférica na frequência e gravidade dos sintomas de asma em crianças e adolescentes portadores de asma leve e moderada que residem em Vitória.

Cabe destacar que trabalho desta natureza é mais fácil de ser realizado em crianças e adolescentes pois estes se deslocam quase que exclusivamente nos dias de semana da casa para a escola e vice-versa. Os escolares que frequentam escolas públicas permanecem por mais tempo próximo ao seu domicílio, uma vez que a matrícula de alunos é feita, preferencialmente, em escolas públicas que situadas próximo ao domicílio. Portanto, a medida da poluição no mesmo bairro onde a criança/adolescente reside e estuda permite uma estimativa mais acurada da exposição a determinado poluente. Cabe destacar que o controle da asma é um desafio complexo e que a doença se estende por toda a vida de muitos indivíduos. Portanto, a identificação de fatores associados à piora do controle do asmático são importantes, não só

Confidencial: Não Distribuir

modelagem e monitoramento dos poluentes na Região Metropolitana da Grande Vitória. O projeto apresentado pelo Departamento de Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde se refere ao monitoramento direto de dados individuais, de parâmetros funcionais do aparelho respiratório, numa abordagem longitudinal.

O objetivo do monitoramento e modelagem da qualidade do ar consiste em mensurar a concentração dos poluentes SO₂, NO_x, CO, O₃ e material particulado (MP₁₀ e MP_{2,5}) no ambiente externo (outdoor) durante dois anos em períodos de inverno e verão sendo que cada campanha consiste de três experimentos em três localidades diferentes. Além do monitoramento no ambiente externo, será realizado também o monitoramento no ambiente interno (indoor) de um ou mais dos principais poluentes em cinco residências escolhidas em função da disponibilidade dos participantes para correlação com a poluição no ambiente externo. O material particulado (MP₁₀ e MP_{2,5}) será também analisado quanto a sua característica química a fim de investigar a presença de metais que possam ser diretamente relacionados ao impacto à saúde. Serão também coletadas ainda amostras para análise de fungos nas residências. E, para verificar a exposição a poluição do ar considerando a mobilidade do indivíduo, serão também utilizados monitores pessoais para medição de um dos principais poluentes. Será modelada a dispersão e transformação dos poluentes na atmosfera por meio de dois modelos matemáticos: CALPUFF a fim de permitir melhor resolução espacial e CMAQ a fim de verificar a importância dos compostos secundários tais como ozônio e a formação de partículas finas.

O objetivo do estudo longitudinal é determinar se, e em que extensão, os níveis de alguns poluentes suspensos no ar afetam os sintomas da asma em crianças e adolescentes moradores de Vitória. O estudo é projetado para obtenção de dados diretos em amostra robusta de sujeitos e inclui um número elevado de covariáveis relacionadas ao desencadeamento e à piora dos sintomas de asma de acordo com a literatura médica atual. Como a sazonalidade é um fator importante na modulação da exacerbão dos sintomas da asma, o estudo longitudinal está sendo proposto para ser feito com os mesmos sujeitos de pesquisa estudados nos períodos de inverno e verão. O acompanhamento da saúde de crianças e adolescentes com asma por um período de um ano, combinado com monitoramento abrangente dos poluentes na atmosfera de Vitória, irá fornecer os dados longitudinais necessários para a pesquisa de

Confidencial: Não Distribuir

inovação do estudo reside na obtenção direta de dados na população exposta com um monitoramento mais abrangente (PM_{10} , $PM_{2.5}$, SO_2 , NO_x e O_3). Além disso, o monitoramento será feito com unidade móvel de medida de poluentes a ser deslocada para o bairro de residência dos participantes da pesquisa permitindo uma aferição mais precisa da exposição aos poluentes. Tendo a vista a o número expressivo de variáveis que pode influenciar o desencadeamento de crise asmática, será feita também uma coleta abrangente de covariáveis, incluindo análise de genes que, em outras populações, mostraram associação com o aparecimento ou gravidade da doença. A produção e divulgação dos dados irá permitir uma melhor compreensão da dinâmica da doença em Vitória, o real impacto da poluição na exacerbção de sintomas. Estes dados são importantes para definir estratégias de melhoria da qualidade do ar e para o estabelecimento de estratégias para enfrentamento desse problema de saúde pública.

4. Metodologia

4.1. População do estudo

Constituem a população do estudo crianças e adolescentes de 8-14 anos de idade que sejam moradoras de bairros de Vitória onde os pesquisadores do projeto farão a coleta de dados de poluição. Numa proposta preliminar, pretende-se incluir sujeitos de ambos os sexos residentes nas regiões de Maruípe, Andorinhas, Enseada do Suá e Maria Ortiz. Entretanto, a depender do ritmo de inclusão previsto, outros bairros de Vitória poderão ser incluídos como potenciais locais de recrutamento.

Os principais critérios de inclusão são:

- a) Idade compreendida entre 8 a 14 anos;
- b) Ser morador de um dos bairros/regiões escolhidos pelos pesquisadores para realizarem o monitoramento do ar;
- c) Ter o diagnóstico de ‘asma’ segundo registros médicos em Unidades de Atenção Básica ou consultórios médicos.
- d) Ter o diagnóstico confirmado de ‘asma leve a moderada’ feita por médico da equipe do projeto;
- e) Não ser portador de incapacidade física ou mental que impeça o uso dos instrumentos de coleta

Confidencial: Não Distribuir

dos exames ou portadores de outras doenças crônicas (câncer, doenças cardíacas, doenças renais, hepáticas ou outras doenças respiratórias concomitantes que exijam tratamento contínuo e concomitante com o tratamento de asma).

4.2. Tamanho Amostral

A hipótese a ser testada no estudo é que o incremento de um intervalo interquartílico (IQR) de material particulado fino ($PM_{2.5}$) no ar respirável monitorado externamente à residência da criança ou adolescente se associa a uma redução de 3,5% na FEV-1s. Estudo realizado anteriormente por nosso grupo de pesquisa (Nascimento et al., 2016) mostrou que o IQR de $PM_{2.5}$ médio na atmosfera de Vitória é de cerca de 4,2 ug/m³. Considerando que estudos anteriores (Noonan et al., 2017) em crianças asmáticas encontraram valor médio para o FEV-1 s de $85 \pm 21\%$ do valor esperado para a idade, então para se testar a hipótese de ausência de associação (H_0) com erro do tipo I de 5% e erro do tipo II de 10% (poder do estudo de 90%), precisam ser incluídos na pesquisa 164 crianças. Considerando perda de cerca 20% (mudança de domicílio entre as duas coletas, retirada no termo de consentimento, falha na coleta de dados, etc), a meta é incluir 200 elegíveis nesta pesquisa.

4.3. Protocolo do Estudo: dados de saúde

4.3.1. Seleção dos participantes/recrutamento

Será construído folheto (tipo *folder*) com informações básicas sobre o projeto para ser distribuído em algumas Unidades Básicas de Saúde de Vitória (Andorinhas, Maruípe, Enseada do Suá e Maria Ortiz) e em consultórios médicos. O folder conterá informações básicas sobre o projeto, incluindo pequena explanação sobre potenciais efeitos da poluição atmosférica nos sintomas de asma e a necessidade de se estudar o impacto desta exposição em crianças e adolescentes portadores da doença. Serão dadas ainda informações sobre o local de realização do projeto e como os interessados poderão entrar em contato com a equipe de recrutamento, sediada na Clínica de Investigação Cardiovascular do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da UFES (anexa ao Hospital Universitário da UFES). Adicionalmente, será também feita busca ativa de potenciais casos nos mesmos locais buscando-se informações com os médicos que fazem atendimento às crianças na faixa etária do estudo e com agentes de saúde ou gerentes de unidades básicas de saúde dos bairros/regiones onde será feito o recrutamento.

Confidencial: Não Distribuir

- d) Não ter outras doenças associadas que exijam tratamento específico e que possam interferir na evolução da doença ou no tratamento de asma.

4.3.3. Critérios de exclusão

São critérios de exclusão:

- a) Portadores de asma grave (indivíduos cujo controle de asma só é conseguido com uso contínuo de corticosteroides).
- b) Portadores de asma já controlada, ou seja, que já receberam diagnóstico da doença no passado mas que estejam sem uso de qualquer medicação específica para asma nos últimos 12 meses.
- c) Crianças ou adolescentes com defeitos no tórax, problemas graves de locomoção (cadeirantes) ou portadores de déficit cognitivo que dificulte a realização do monitoramento domiciliar da doença (preenchimento de diário, uso do espirômetro portátil, etc).

4.3.4. Exames iniciais

Após verificação dos critérios de inclusão e exclusão por médico assistente do projeto, e assinatura do TCLE e do Termo de Assentimento (se for o caso), o participante será encaminhado para a realização dos exames iniciais, conforme descrito a seguir

- a) Obtenção de Material Biológico
a. Amostra de sangue (volume de 25 mL)

O sangue será coletado por venopunção do antebraço por flebotomista treinado para coleta deste material em crianças. Serão separadas alíquotas para envio para Laboratório de Análises Clínicas e para extração de DNA (tubo de 9 mL em EDTA). Tubos adicionais (4 tubos de 4 mL) serão encaminhados para Laboratório de Análises Clínicas para realização dos seguintes exames:

- Hemograma
- Bioquímica básica (glicose, ureia, ácido úrico, creatinina, colesterol total, HDL-c, triglicerídeos, PCR)

Mediadores pró- e anti-inflamatórios (Periostina, IgE total, IgE específica para Dermatofagoides pteronyssinus, Blomia tropicalis, Dermatofagoides farinae, baratas, cão, gato e fungos do ar)

- b. Amostra de saliva e swab de bochecha para análise de RNA

Confidencial: Não Distribuir

- Espirometria (Espirômetro Koko®) para medidas de diversos fluxos e volumes pulmonares (Capacidade Vital Forçada- CVF, Volume Expiratório Forçado no Primeiro Segundo- VEF₁, relação VEF₁/CVF, Fluxo Expiratório Forçado 25-75- FEF 25-75% e Pico de Fluxo Expiratório- PFE).
- Medida de Óxido Nítrico Exalado (FeNO)
- C)Preenchimento de formulários (juntamente com a mãe, pai ou responsável)
- Dados pessoais
- Histórico de asma e outras doenças alérgicas em pais e irmãos
- História da doença atual
- História médica pregressa e presença de comorbidades (notadamente doenças alérgicas)
- Uso de medicamentos
- Hábitos de vida (alimentação, atividade física, etc)
- Vida escolar
- Nível sócio econômico (a partir de bens disponíveis no domicílio)
- Escolaridade (incluindo pais ou responsáveis)
- Teste de Controle da Asma (ACT)
- Observação: O preenchimento de formulários poderá ser feito, no todo ou em parte, durante visita domiciliar.

Após recolhimento de dados nesta etapa, o participante, juntamente com o adulto responsável (de preferência a mãe) receberão instruções completas e detalhadas sobre as medidas a serem feitas no domicílio (descritas abaixo). A cada participante será entregue um espirômetro portátil (marca/modelo) e um diário para ser preenchido no período da coleta domiciliar(ver adiante).

4.3.5. Medidas e dados a serem coletados em domicílio

Cada participante deverá fazer a coleta de dados durante 10 a 15 dias consecutivos em dois períodos do ano: um denominado ‘inverno’ (junho a setembro) e outro de ‘verão’ (dezembro a março). Basicamente os participantes deverão coletar nesses períodos dois tipos de dados:

- a) Medida do FEV₁ (*peak flow*) no espirômetro portátil. Deverão ser feitas duas medidas a cada

Confidencial: Não Distribuir

c) Durante o período de coleta de dados em campo, o participante receberá visita domiciliar de pesquisador do projeto para supervisionar a correção da coleta de dados e sempre que for necessário. Prevê-se visita regular de rotina ao domicílio ao final do primeiro ou segundo dias de coleta de dados em campo para supervisão de todos os procedimentos. Ao final do período de coleta, a enfermeira deverá fazer nova visita aos participantes para recolher o espirômetro e o diário. Esta visita será feita em hora pré-agendada para ser feita em presença do participante e do acompanhante adulto para possibilitar revisão completa dos dados obtidos. Havendo impossibilidade de devolução do equipamento e dos dados coletados no domicílio, esta etapa poderá ser realizada também, mediante pré-agendamento, na Clínica de Investigação Cardiovascular.

Tabela 1. Proposta para o Diário do Participante da pesquisa

| Relato diário de função pulmonar e sintomas | Dia 1 Data: | Dia 2 Data: | Dia 3 Data: | Dia 4 Data: | Dia 5 Data: | Dia 6 Data: | Dia 7 Data: |
|-------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Tosse 0=nada; 1=suave; 2=moderada; 3=severa | | | | | | | |
| Chiado 0=nada; 1=suave; 2=moderado; 3=severo | | | | | | | |
| Asma Noturna 0=nada; 1=suave; 2=moderada; 3=severa | | | | | | | |
| Número de jatos de agonista beta-2 (salbutamol ou fenoterol) | | | | | | | |
| Falta a escola por causa dos Sintomas da asma S=sim; N=não | | | | | | | |
| Foi ao pronto-socorro devido aos Sintomas da asma S=sim; N=não | | | | | | | |
| Ficou internado devido aos Sintomas da asma S=sim; N=não | | | | | | | |
| Quantas horas seu filho/sua filha ficou ao ar livre? | | | | | | | |

Confidencial: Não Distribuir

Tabela 1. Proposta para o Diário do Participante da pesquisa (continuação)

| Diário de atividades (a ser preenchido com auxílio de adulto) | Dia 1 Data: | Dia 2 Data: | Dia 3 Data: | Dia 4 Data: | Dia 5 Data: | Dia 6 Data: | Dia 7 Data: |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Você usou um purificador de ar com “absorção de partículas de alta-eficiência” S=sim; N=não | | | | | | | |
| Seu filho/sua filha foi a escola hoje? S=sim; N=não | | | | | | | |
| Seu filho/sua filha brincou ao ar livre hoje? S=sim; N=não | | | | | | | |
| A asma impediu seu filho/sua filha de brincar hoje? S=sim; N=não | | | | | | | |
| Alguém fumou na sua casa hoje? S=sim; N=não | | | | | | | |
| Quantas horas seu filho/sua filha ficou no transito (ônibus/carro)? | | | | | | | |
| Seu filho/sua filha ficou perto de um fumante? S=sim; N=não | | | | | | | |
| Sendo o caso, quantas horas seu filho/sua filha ficou perto de um fumante? | | | | | | | |

4.3.6. Obtención de Dados Genéticos

Durante a visita inicial, será coletado material biológico (sangue, saliva e esfregaço bucal) para análise genética e epigenética. As amostras de sangue serão coletadas dos participantes do estudo usando Tubos PAXgene Sangue DNA (Qiagen, catálogo nº761115). Esses tubos permitem a coleta e purificação simultânea do sangue assegurando DNA genômico de alta qualidade para posterior análise genética. As amostras de saliva serão coletadas de acordo com o protocolo padrão adotado para este tipo de tubo.

Confidencial: Não Distribuir

Esfregaços bucais serão coletados dos participantes do estudo usando Cotonete Oral do kit de coleta bucal da Gentra Puregene (Qiagen, catálogo nº158845). Os pacientes serão avisados para não comer ou beber por uma hora antes da coleta . A parte interna da boca de cada paciente será delicadamente esfregada 10 vezes com o cotonete oral. A parte da cabeça do cotonete destacada será colocada em um tubo de microcentrífuga de 1,5ml contendo 300 µl de solução de lise celular. As amostras serão armazenadas em temperatura ambiente até que as etapas de extração de DNA sejam executadas. As amostras permanecem estáveis por, pelo menos, dois anos quando completamente submersas em solução de lise em temperatura ambiente.

O material biológico(sangue e esfregaço bucal) ficará estocado temporariamente em condições apropriadas no Biorrepositório do Centro de Investigação ELSA/ES até sua transferência para o Laboratório responsável pela realização das análises genéticas e epigenéticas. Os tubos de coleta são identificados por código de barra com acesso restrito à identificação do participante da pesquisa. O armazenamento das amostras é feito sob condições estritas de segurança em relação à sua conservação (freezers ColdLab, com dispositivo de back up de CO₂ e gerador próprio para suprir eventuais ausências de energia na rede elétrica disponível em sala específica da Clínica de Investigação Cardiovascular pertencente ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da UFES).

4.3.7. Análise de DNA de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) relevantes para asma e de metilação de todo o genoma

O DNA isolado do sangue e esfregaços bucais serão analisados para polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) que potencialmente influenciam a suscetibilidade à asma. Os SNP serão analisados de modo programado, uma vez que há evidencia preliminar disponível para priorizar certos SNP como provavelmente envolvidos na suscetibilidade à asma. Os SNP foram priorizados através da revisão de três publicações altamente relevantes: (1) o estudo sobre asma na infância em população brasileira (Costa et al. 2015), (2) o estudo investigando a associação de todo o genoma (GWAS) em relação à asma, o maior estudo já realizado nesta área até este momento (Moffatt et al. 2010), e (3) um estudo de revisão que identificou SNP consistentemente relacionados à asma em diferentes populações (Meyers et al. 2014). A revisão dessas publicações resultou em uma lista concentrada de SNP prioritários para

Confidencial: Não Distribuir

Tabela 2. Lista de SNP prioritários e genes associados para avaliar suscetibilidade à asma.

| SNP associados à asma | Frequência global de alelo menor | Região cromossômica com SNP ^a | Símbolo de Gene(s) associado(s) | Referência(s) |
|-----------------------|----------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| rs1042713 | 47,56% | 5q32 | ADRB2 | Meyers et al. 2014 |
| rs10159952 | 4,75% | 10q22 | C10orf11 | Costa et al. 2015 |
| rs3894194 | 43,09% | 17q21 | GSDMA | Moffatt et al. 2010 |
| rs2305480 | 28,67% | 17q21 | GSDMB | Moffatt et al. 2010; Meyers et al. 2014 |
| rs9273349 | não disponível | 6p21 | HLA-DQ | Moffatt et al. 2010; Meyers et al. 2014 |
| rs20541 | 27,00% | 5q31 | IL13 | Meyers et al. 2014 |
| rs3771166 | 36,12% | 2q12 | IL18R1 | Moffatt et al. 2010; Meyers et al. 2014 |
| rs1420101 | 36,00% | 2q12 | IL1RL1 | Meyers et al. 2014 |
| rs2284033 | 42,87% | 22q12 | IL2RB | Moffatt et al. 2010 |
| rs1342326 | 17,15% | 9p24 | IL33 | Moffatt et al. 2010; Meyers et al. 2014 |
| rs1999071 | 29,75% | 14q11 | Intergênicos, associados com DAD1 / LTB4 / MMP14 / OXA1L / SLC7A7 / TRA | Costa et al. 2015 |
| rs10519031 | 1,94% | 15q21 | Intergênicos, associados com FOXB1 / RORA / SCG3 / SMAD3 | Costa et al. 2015; Moffatt et al. 2010 |
| rs8029377 | 3,12% | 15q21 | Intergênicos, associados com FOXB1 / RORA / SCG3 / SMAD3 | Costa et al. 2015; Moffatt et al. 2010 |
| rs77165709 | 5,79% | 3q25 | IQCJ-SCHIP1 | Costa et al. 2015 |
| rs7216389 | 33,21% | 17q21 | ORMDL3 | Moffatt et al. 2010; Meyers et al. 2014 |
| rs2244012 | 32,29% | 5q31 | RAD50 | Meyers et al. 2014 |
| rs744910 | 42,77% | 15q21 | SMAD3 | Costa et al. 2015; Moffatt et al. 2010 |
| rs1837253 | 38,22% | 5q22 | TSLP | Meyers et al. 2014 |
| rs2416257 | 14,22% | 5q22 | WDR36 | Meyers et al. 2014 |

^a Frequências globais de alelo menor foram obtidas do banco de dados de SNP do Centro Nacional para Informações de Biotecnologia (NCBI), disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

O DNA isolado de sangue e de esfregaço bucal será analisado em relação ao padrão de metilação de DNA de todo o genoma usando o kit Infinium Methylation EPIC (Illumina). Essa matriz examina mais de 850.000 sítios de metilação de todo o genoma, incluindo sítios de CpG (citosina-fosfato-guanina).

4.3.8 Comunicação aos participantes do estudo sobre a análise genética e os resultados

O impacto dos dados coletados sobre a vida dos indivíduos avaliados será informado aos participantes e suas famílias/comunidade de acordo com as diretrizes da ética a ser seguida na pesquisa em saúde. Os participantes terão a opção de escolher entre serem informados ou não dos resultados do teste genético. Entre os tópicos incluídos nessa informação está o fato dos pesquisadores terem identificado fatores genéticos que contribuem para a suscetibilidade à asma. Se um participante for identificado como tendo um fator genético que possa contribuir para a suscetibilidade à asma, essa informação será divulgada para o paciente (dependendo da escolha do paciente de ser informado, ou não). A proposta de aconselhamento genético será incluída nessa informação se os dados do aplicativo e resultados forem obtidos.

Dependendo dos resultados do teste genético, a revisão da literatura / análises de ligação ao alvo pode identificar potenciais ações terapêuticas para reduzir a progressão ou melhorar o tratamento da asma. Se forem identificadas, e uma consulta com o médico confirmar a segurança e potencial eficácia de tais ações, a informação aos participantes incluirá informação dos resultados e potencial eficácia de tais ações. Conforme indicado acima, a privacidade e confidencialidade dos dados serão estritamente mantidas durante todo o tempo e nenhum dado será transmitido sem o consentimento explícito dos participantes do estudo e seus pais ou responsáveis.

4.4. Protocolo do Estudo: dados de qualidade do ar

4.4.1. Monitoramento da qualidade do ar

4.4.1.1. Planejamento experimental

Será realizado um experimento piloto em uma localidade (Andorinhas) e quatro campanhas (durante dois anos em períodos de inverno e verão) sendo que cada campanha consiste de três experimentos em três localidades diferentes (Andorinha, Maruípe e Maria Ortiz, sendo que o bairro Enseada do Suá poderá ser considerado como substituto de uma das outras três localidades).

Outdoor

Os poluentes a serem monitorados no ambiente externo (outdoor) são SO₂, NO_x, CO, O₃ e material particulado (MP₁₀ e MP_{2,5}) em médias horárias. Serão realizados 21 dias de coleta (sendo 7 anteriormente ao início da coleta de dados de saúde e 14 durante a coleta de dados de saúde) para cada experimento. Assim, haverá um total de 12 experimentos, além do experimento piloto (totalizando 13 experimentos). O número de experimentos pode variar para menos em função do número de crianças e adolescentes realmente participantes da coleta de dados de saúde, ou seja, caso o número se torne insuficiente (não representativo estatisticamente) poderão ser realizados menor número de experimentos.

A estação de monitoramento contará com sensores para medição de NO₂, NO, SO₂, O₃, PM₁₀ e PM_{2,5} e de dados meteorológicos (velocidade e direção do vento, umidade, precipitação pluviométrica, temperatura). A estação deverá ser instalada em lugar apropriado (fácil acesso, seguro, com disponibilidade de energia elétrica) no bairro onde serão monitorados os dados de saúde. As instalações físicas são de responsabilidade da Arcelor Mittal.

Como haverá apenas uma estação de monitoramento e cada campanha será realizada em três localidades distintas, a estação será deslocada de um ponto de monitoramento a outro, considerando os intervalos para recalibração, transporte e testes. O transporte, calibração e testes serão de responsabilidade da empresa fornecedora dos equipamentos. O sistema a ser adquirido já inclui a possibilidade de transferência online de dados e armazenamento de dados.

Indoor

Além do monitoramento no ambiente externo, será realizado também o monitoramento no ambiente interno (indoor). Inicialmente, para cada experimento, este monitoramento será realizado em cinco residências escolhidas em função da disponibilidade dos participantes (residências das famílias das crianças e adolescentes). As residências devem ter similar porte (metros quadrados) e número de habitantes, mas devem ter arquitetura diferente (casas, apartamentos em diferentes alturas). Como somente há um aparato para medição indoor, serão realizadas medições durante três dias em cada residência. Serão obtidas médias horárias da concentração dos poluentes NO₂, NO, SO₂, O₃, PM₁₀ e PM_{2,5} para correlação com a poluição no ambiente externo. A calibração e testes serão de responsabilidade da empresa fornecedora dos equipamentos. O sistema a ser adquirido já inclui a possibilidade de transferência online de dados e armazenamento de dados.

Caracterização química das partículas outdoor e indoor

O material particulado (MP₁₀ e MP_{2,5}) será também coletado em filtros (48 horas de amostragem) a fim de serem analisados quanto a sua característica química. A coleta será realizada com o uso de minivol para posterior caracterização química a fim de investigar a presença de metais que possam ser diretamente relacionados ao impacto à saúde. Será analisada a composição elementar das partículas por meio da técnica de Fluorecência de Raios X (XRF). No ambiente externo, serão realizados 16 dias de coleta com 48 horas de amostragem (8 amostras) para cada experimento. Sendo que haverá quatro campanhas de três experimentos cada, além do experimento piloto, perfazendo um total de 104 amostras MP_{2,5} e 104 amostras de MP₁₀ no ambiente externo (outdoor). Será necessário a utilização de 4 amostradores minivol (dois filtros, dois tamanhos de partículas MP₁₀ e MP_{2,5}) em cada experimento. No ambiente interno, serão realizados 2 dias de coleta (48 horas de amostragem) em cinco residências (se houver massa suficiente para coleta) para cada experimento (10 amostras). Sendo que haverá quatro campanhas de três experimentos cada, perfazendo um total sugerido de 130 amostras MP_{2,5} e 130 amostras de MP₁₀ no ambiente interno (indoor).



Figura 1. Localização dos pontos de monitoramento.

Bioaerrosol (indoor e outdoor)

Serão coletadas amostras para análise de fungos nas residências. Fungos serão coletados utilizando um amostrador de um único estágio Impactador Andersen CF-6 (Criffer, Brasil) (ou similar) com vazão de ar de 28,3 l/min por aproximadamente 5 minutos. Os resultados quantitativos serão calculados em unidades de formação de colônia (CFU/m³). Para a identificação dos fungos, as placas de Petri do impactador contendo Sabouraud Dextrose Agar com 2% de glucose e chloramphenicol e pH igual a 5,6 para promover o crescimento das espécies de fungos serão utilizadas para identificação dos fungos por meio de sua macro e micro morfologia usando um microscópio. Serão coletadas amostradas em três dias diferentes no interior de 3 dentre as 5 residências em cada experimento. Sendo que haverá quatro campanhas de três experimentos cada, perfazendo um total sugerido de 108 amostras MP_{2,5} e 108 amostras de MP₁₀ no ambiente interno (indoor).

Exposição com mobilidade

Serão também utilizados monitores pessoais, possivelmente, em 2 diferentes indivíduos em cada experimento a fim de avaliar sua exposição ao longo do dia de acordo com sua mobilidade habitual em cada experimento.

Somente um gás será analisado (sugerido SO₂). Esses dados serão utilizados para verificação da exposição prevista pelos modelos de dispersão. Será realizada a calibração de acordo com as recomendações do fabricante.

4.4.2. Modelagem da dispersão atmosférica na RMGV

Os modelos de qualidade do ar utilizam técnicas matemáticas para simular os processos químicos e físicos que afetam tanto a dispersão quanto as reações químicas dos poluentes na atmosfera. Esses processos dependem fortemente das condições meteorológicas, que possuem uma abrangência muito ampla, controlando fatores como evolução das emissões, presença de espécies químicas, aerossóis, quantidade de radiação disponível, quantidade de água na atmosfera entre outros. Os processos de transporte turbulento, tanto na vertical quanto na horizontal, convecção, mistura, deposição seca e úmida e até relâmpagos são processos meteorológicos que influenciam fortemente na formação e transporte de poluentes, tanto primários quanto secundários. Realizar simulações do comportamento da atmosfera é um dos passos para entender a formação e o transporte de poluentes atmosféricos (CASTRO e APSLEY, 1996; CHALLA et al., 2009). Neste trabalho serão utilizados os modelos CALPUFF e CMAQ. Abaixo são apresentadas as principais características do modelo e sua justificativa de uso.

O SISTEMA DE MODELAGEM CMAQ (modelo fotoquímico)

Os modelos fotoquímicos normalmente são utilizados para simular os impactos de todas as fontes de uma região, estimando concentrações e deposição de poluentes inertes ou quimicamente reativos em escalas espaciais variando de local a global, resolvendo as equações governantes que caracterizam não apenas o transporte de poluentes na atmosfera, mas também os processos químicos e físicos responsáveis por suas transformações. Esta é a principal característica que leva à recomendação do uso de um modelo fotoquímico para este projeto. Além disso, o sistema de modelagem CMAQ, dentre os modelos fotoquímicos, possui melhor documentação, pré-processadores adequados à entrada de dados de emissões compatíveis com os formatos internacionalmente aceitos da US EPA e outras funcionalidades. O sistema de modelagem CMAQ foi desenhado para pesquisa e aplicações ambientais, para problemas de poluição do ar multi-escala (urbano e regional) e multi-poluentes (gases, oxidantes, deposição ácida e particulados). O sistema CMAQ foi lançado para o público em junho de 1998 e desde então sofre modificações continuamente a fim de melhorar a capacidade do modelo de representar uma atmosfera de maneira mais realista.

O CMAQ necessita de quatro tipos de dados de entrada para iniciar as suas simulações: dados meteorológicos, taxas de emissão de fontes que afetam a qualidade do ar da região, condições iniciais e de fronteira com concentração de poluentes. Existem dois modelos meteorológicos que são compatíveis para utilização acoplada ao CMAQ: o *The Fifth-generation Pennsylvania State University/National Center for Atmospheric Research (PSU/NCAR) Mesoecale Model* (MM5) (GRELL et al., 1994) e o *Weather Research and Forecasting (WRF) Model – Advanced Research* (WRF-ARW) (SKMAROCK et al., 2008). O MM5 apesar de ser amplamente

utilizado e já validado em vários estudos (GILIAN et al., 2006; CORRÊA et al., 2006; SRINIVAS et al., 2006; CHENG et al., 2008), teve a sua última versão atualizada no ano de 2005 e desde então não sofre modificações no seu código, indicando uma descontinuidade no seu desenvolvimento. Por outro lado, o WRF, que é uma adaptação feita a partir do MM5, é considerado um modelo da nova geração e está assumindo o lugar do MM5 para estudos na área da meteorologia e qualidade do ar (BORGE et al., 2008).

Além dos dados meteorológicos, o estudo da qualidade do ar de uma região requer dados de fontes de emissão. Dados de emissões ambientais originados de modelos de emissão e inventários regulamentados são um dos mais importantes dados de entrada requeridos pelos modelos de qualidade do ar, desta forma torna-se necessário um sistema flexível de processamento de dados de emissão e, que seja também computacionalmente eficiente. O sistema *Sparse Matrix Operator Kernel Emissions* (SMOKE) foi desenvolvido pelo centro americano MCNC *Environmental Modeling Center* (EMC) do Estado da Carolina do Norte (NC) dos EUA, para permitir o método de processamento de dados de emissões atmosféricas integrando matrizes de dados a algoritmos computacionais de alta performance. O modelo SMOKE é uma ferramenta importante para as pesquisas com relação à tomada de decisão para a aplicação de métodos de controle de emissões, tanto urbanas, quanto regionais. Ele fornece um mecanismo para preparar dados de entrada em formatos especiais requeridos pelos modelos de qualidade do ar, tornando possível a execução da previsão da qualidade do ar. Disponível desde 1996, o SMOKE é uma ferramenta eficaz para o processamento de emissões para as aplicações de modelagem de qualidade do ar regional. Em meados de 1999, o modelo foi incorporado e aprimorado através do suporte da agencia de proteção ambiental americana (USEPA), para uso no sistema de modelagem de qualidade do ar da US EPA, e vem sofrendo atualizações e melhorias a cada ano.

Desta forma, este projeto prevê a implementação do modelo WRF (*Weather Research and Forecast*) para a obtenção dos campos de variáveis meteorológicas (velocidade e direção do vento, umidade, pressão, precipitação pluviométrica, temperatura, altura da Camada Limite Planetária, intensidade de turbulência, dentre outras), do SMOKE para o processamento, gerenciamento e manipulação dos dados de fontes de emissão e do CMAQ para a modelagem dos processos de transporte e reações químicas de poluentes na atmosfera da RMGV.

O sistema integrado WRF-SMOKE-CMAQ é capaz de processar poluentes gasosos como monóxido de carbono (CO), óxidos de nitrogênio (NOx), compostos orgânicos voláteis (COV), amônia (NH₃), dióxido de enxofre (SO₂), material particulado (MP), tanto o MP_{2,5} (partículas com diâmetros menores ou iguais a 2,5 μm) quanto o MP₁₀ (partículas com diâmetros menores ou iguais a 10 μm), assim como uma grande quantidade de poluentes tóxicos, como por exemplo, mercúrio, cádmio, benzeno e formaldeído.

Uma das últimas versões do modelo, a versão 5.0 (CMAQv5.0), inclui várias melhorias com relação as versões anteriores (Appel et al., 2012) para estimar a emissão e transporte de material particulado. Especificamente, agora o modelo possui a habilidade de transportar constituintes químicos específicos da poeira (Si, Ca, Fe, etc)

e quando aplicável, permite a participação destes elementos em transformações químicas. As novas versões do modelo também incluem uma parametrização para estimativa de emissão de ressuspensão de poeira do solo originada pela ação do vento, chamada de Windblown Dust (WBD). Adicionalmente, os dados de entrada de emissão foram atualizados para incluir fontes antropogênicas de poeiras fugitivas (Anthropogenic Fugitive Dust – AFD). Elementos do solo como Ca e Fe podem ser classificados como partículas antropogênicas e como partículas naturais de ressuspensão de poeira fugitiva, mas também pode ser encontrada em emissões de processos industriais (que são quimicamente similares a emissões de poeira do solo). As fontes de AFD incluem poeiras de ruas não pavimentadas, poeiras de ruas pavimentadas, construções comerciais e residenciais, construções de rodovias, manejo na agricultura, criadouros de animais, mineração e pedreiras.

Inventário de emissões atmosféricas da RMGV (SMOKE)

As emissões para as simulações serão extraídas do Inventário de Emissões Atmosféricas da RMGV, elaborado através de um acordo de cooperação técnica entre a SEAMA, com intermédio do Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos (IEMA) e a empresa privada EcoSoft Consultorias e Softwares Ambientais. Como a RMGV possui diversos tipos de fontes, o inventário é separado nas seguintes categorias:

- Emissões industriais: Levantamento das indústrias da RMGV classificadas como fontes pontuais e fontes difusas, variando de pequeno porte (pequenas caldeiras ou fornos) a grande porte com centenas de fontes emissoras.
- Emissões veiculares: Provenientes do processo de combustão dos motores, vazamento e evaporação dos compostos orgânicos voláteis, frenagem e desgaste dos pneus.
- Ressuspensão em vias de tráfego: Ressuspensão das partículas provocadas pela circulação dos veículos nas vias.
- Emissões de atividades específicas: Correspondente ao inventário de diversas atividades como emissões de residenciais e comerciais, aterros sanitários, estocagem, transporte e comercialização de combustíveis, portos e aeroportos e emissões biogênicas. Cada atividade terá sua estimativa de emissão feita em acordo com características pertinentes de cada processo.

O inventário de emissões será inserido no processador Sparse Matrix Operator Kernel Emissions (SMOKE), o qual dentre outras funções, converte os dados de emissão para os formatos exigidos pelo modelo. Assim, serão criados arquivos de alocação espacial, que está ligado diretamente à localização das fontes em cada célula do domínio modelado. No caso das fontes pontuais, elas são inseridas nas células que compreendem a sua coordenada geográfica, sendo inserida em apenas uma célula. As fontes veiculares e área, que geralmente estão sobre diversas células, sofrerão um fracionamento da emissão total, sendo parte da emissão dividida para cada célula que a fonte está inserida. Essa divisão é feita por ponderação pela área da fonte que está inserida em cada célula.

As emissões anuais e parâmetros meteorológicos simulados serão os dados de entrada para o modelo de qualidade do ar CMAQ. Serão analisados os cenários de interesse correspondentes aos períodos do levantamento dos dados de saúde apresentados no item anterior.

Modelagem das condições meteorológicas (WRF)

As simulações das condições meteorológicas serão feitas com o modelo *Weather Research Forecasting Model* (WRF) em sua versão mais atual. As simulações meteorológicas serão realizadas utilizando quatro domínios aninhados sendo o maior domínio (D01) com resolução espacial de 27 km com 35 x 35 células, formando um domínio de 945 x 945 km que compreende todo o estado do Espírito Santo, grande parte do Rio de Janeiro, parte de Minas Gerais e Bahia, possibilitando a captura das condições sinóticas e padrões circulação sobre a área de interesse. O domínio D02 possui resolução de 9km com 54x54 células totalizando 486 x 486 km, cobrindo todo estado do Espírito Santo, parte do Rio de Janeiro e Minas Gerais. O domínio D03 tem 3km de resolução com 81x81 células com 243 x 243 km incluindo em sua área as partes centrais e sul do estado e o domínio D04 é o mais refinado com 1km de resolução espacial e 120 x 120 km comprendendo toda a RMGV e cidades vizinhas a ela. Os quatro domínios estão centrados nas coordenadas -20,25oS; -40,28oW. Todos os testes de parametrizações foram feitos utilizando a técnica *two-way nesting* em todos os domínios. A estrutura vertical foi representada por 21 camadas verticais correspondendo aos níveis sigma de 1.000, 0.9975, 0.995, 0.992, 0.988, 0.982, 0.976, 0.970, 0.950, 0.930, 0.870, 0.800, 0.740, 0.630, 0.540, 0.450, 0.360, 0.270, 0.180, 0.090, 0.000. A Tabela 3 e Figura 2 resumem as configurações espaciais e localização dos domínios no mapa do Brasil, respectivamente.

Tabela 3. Parâmetros espaciais utilizados nas simulações com o WRF

| Parâmetros espaciais | | | | |
|-----------------------------|-------|------|--------------------|------|
| Domínio | D01 | D02 | D03 | D04 |
| Resolução das grades | 27 km | 9 km | 3 km | 1 km |
| Número de colunas | 35 | 54 | 81 | 120 |
| Número de linhas | 35 | 54 | 81 | 120 |
| Número de camadas verticais | | 21 | | |
| Centro da grade | | | -20,25oS; -40,28oW | |

Topografia e ocupação do solo

Serão utilizados os dados de topografia e uso e ocupação do solo disponibilizadas pelo *United States Geological Survey* (USGS) com resolução de 10', 5', 2' e 30" para os domínios D04, D03, D02 e D01, respectivamente.

Condições iniciais e de contorno

As condições iniciais e de contorno empregadas nas simulações serão advindas do *National Center for Environmental Prediction* (*NCEP*) *Global Forecast System* (*GFS*) com resolução horizontal de 0,5 x 0,5° e

resolução temporal de seis horas, sendo utilizadas apenas as análises. Os dados utilizados para dar essas condições são disponíveis gratuitamente no site <http://rda.ucar.edu/datasets/ds335.0/index.html#sf01-wl-/data/ds335.0?g=910>. Serão aplicadas 48 horas de *spin-up* nas simulações com o objetivo de minimizar o impacto das condições iniciais no período de interesse.

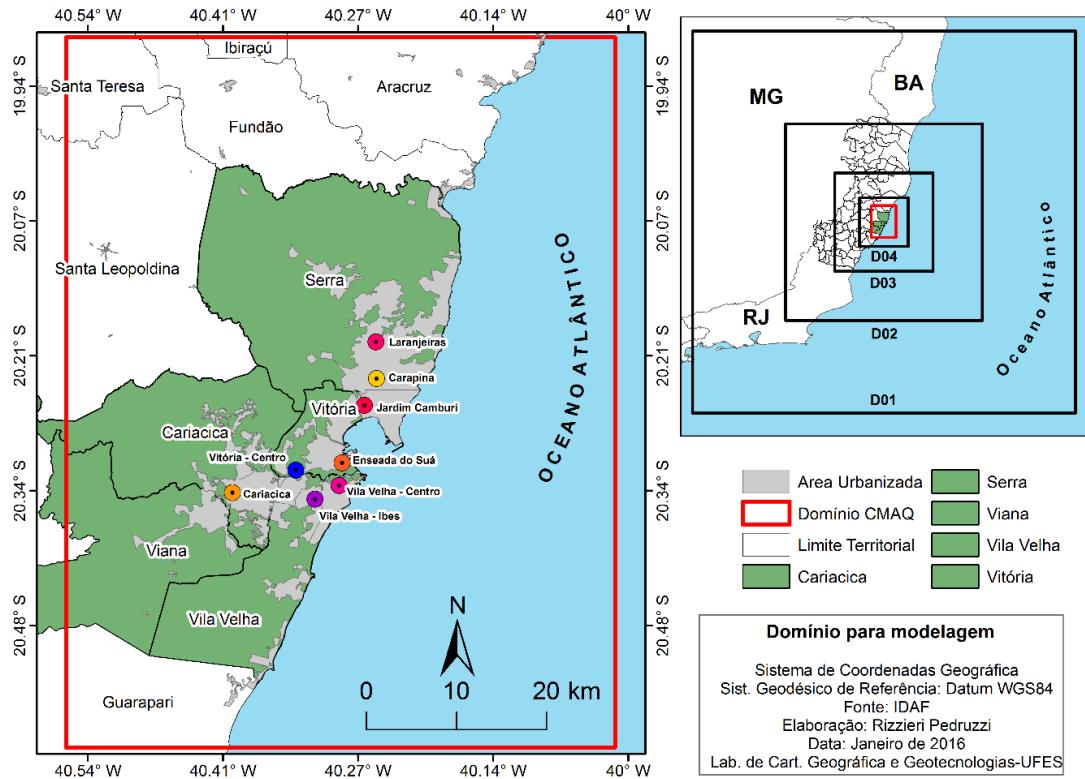


Figura 2. Localização da RMGV (destacada em verde), estações da RAMQAR e domínios empregados nas simulações do WRF e CMAQ.

Simulação da qualidade do ar com CMAQ

As simulações serão realizadas com o modelo CMAQ em sua versão mais atual aplicando um domínio com resolução horizontal de 1 x 1 km², centrado nas coordenadas -20,25oS; -40,28oW (Aeroporto Eurico Salles de Aguiar – Vitória ES). O domínio utilizado no CMAQ, as características do terreno e condições meteorológicas para o período foram extraídas do domínio D04 (120 x 120 km²) da simulação com o modelo WRF e processados pelo processador meteorológico MCIP para obter as informações necessárias para as simulações com CMAQ. A Figura 2 mostra a posição dos domínios utilizados nas simulações com WRF e CMAQ e a RMGV no mapa do Espírito Santo.

Avaliação de desempenho do sistema de modelagem CMAQ

A avaliação do desempenho de modelos numéricos, como WRF, usualmente são realizadas por meio da comparação de dados simulados com dados observados utilizando indicadores estatísticos. Existem metodologias para avaliação de resultados, como aquelas utilizadas por Hanna e Paine (1988), Chang e Hanna

(2005), Gilliam, Hogrefe e Rao (2006) e Emery et al. (2001). Emery et al. (2001) sugeriu métricas específicas para temperatura, velocidade e direção do vento e umidade específica do ar, sugerindo ainda valores de referência os conhecidos benchmarks para auxiliar na avaliação dos resultados.

Neste trabalho, serão utilizados os índices estatísticos e *bechmarks* sugeridos por Emery et al. (2001) para validação dos testes de parametrizações, no entanto, será exposto apenas os resultados da parametrização escolhida para ser utilizada nas simulações da qualidade do ar, a qual será a escolhida por apresentar os melhores resultados. A Tabela 4 resume os parâmetros estatísticos que serão utilizados para avaliação do desempenho de cada teste.

Tabela 4. Valores de benchmark proposto por Emery et al. (2001).

| Parâmetro meteorológico [unidade] | Estatística | Benchmark |
|-----------------------------------|-------------|-----------|
| Temperatura [K] (2 km) | MB <± | 0,5 |
| | MAGE < | 2,0 |
| | IOA >= | 0,8 |
| Velocidade do vento [m/s] (10 m) | MB ± | 0,5 |
| | RMSE < | 2,0 |
| Direção do vento [°] (10 m) | MB <± | 10,0 |
| | MAGE < | 30,0 |
| Umidade específica [g/kg] (2 m) | MB < | 1,0 |
| | MAGE < | 2,9 |
| | IOA >= | 0,6 |

Apesar de utilizar indicadores estatísticos e valores de benchmark para avaliar as simulações numéricas deste projeto, vale destacar que diversos estudos como USEPA (2005), Borge et al. (2008), Zhang et al. (2004, 2006), Reboredo et al. (2015), entre outros, ressaltaram que esses valores de referência estatísticos não devem ser os únicos indicativos de sucesso da simulação e sim como indício que análises adicionais devem ser feitas.

Para a validação, serão utilizados os dados da Rede Automática de Monitoramento da Qualidade do ar (RAMQAr), que é composta por oito estações espalhadas pela RMGV, as comparações serão realizadas com as variáveis meteorológicas disponíveis em cada estação. Além das estações da RAMQAr, será realizada a validação com os dados da Estação Meteorológica de Superfície (EMS - SBVT) do Aeroporto Eurico Salles de Aguiar, localizado na cidade de Vitória-ES. A Figura 1 mostra a localização das estações da RAMQAR destacada em verde e da estação SBVT.

CALPUFF

Neste estudo será utilizado o modelo *California Puff Model* (CALPUFF) proposto por (Scire, *et al.*, 2000) para avaliar a variação especial da concentração dos poluentes em resolução espacial inferior aquela produzida pelo modelo CMAQ. A metodologia utilizada para implementação do modelo CALPUFF descrita abaixo é aquela proposta por André Monteiro Silva e Vinicius De Martin Sarnaglia sob orientação do professor Neyval Costa Reis Junior no trabalho de conclusão de curso em 2010.

O sistema CALPUFF inclui três principais componentes: CALMET (um modelo meteorológico diagnóstico tridimensional), CALPUFF (o modelo de transporte e dispersão propriamente dito), e CALPOST (um programa de pós-processamento). Cada um desses programas possui uma interface gráfica própria que auxilia na preparação dos arquivos de controle, escritos em linguagem FORTRAN, para a execução do programa.

O CALMET é um modelo meteorológico diagnóstico que incorpora observações meteorológicas e saídas de modelos meteorológicos prognósticos, para produzir através de técnicas de análise objetiva, campos de velocidade, temperatura e outras variáveis necessárias para as simulações com o modelo CALPUFF. Existem ainda, associados ao modelo CALMET, diversos outros pacotes de pré e pós-processamento de dados geofísicos e dados meteorológicos.

O CALPUFF é um modelo de *Puff* Gaussiano Lagrangeano não-estacionário contendo módulos para terrenos complexos, transporte sobre oceano, efeitos de interação costeira, *building downwash*, deposição seca e úmida, e transformação química simples (SCIRE, *et al.*, 2000).

O CALPOST é um programa de pós-processamento com opções para computar os tempos de média das concentrações e fluxos de deposição previstos pelo CALPUFF (SCIRE, *et al.*, 2000).

O modelo CALPUFF e todos os seus componentes são totalmente públicos, incluindo seus manuais e códigos fontes, podendo ser obtido na internet no seguinte endereço <http://www.src.com/calpuff/calpuff1.htm>.

O domínio computacional será definido de maneira a conter todas as fontes contempladas no inventário de fontes fornecido pelo Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos (IEMA), além de conter todas as estações de monitoramento de forma que pudesse ser realizada a comparação entre os valores obtidos na simulação e o valor medido efetivamente em cada estação. Também foi escolhido de forma que a cidade de Vitória ficasse no centro do domínio computacional de 50x50 km. Como pode ser observado na Figura 1, um comprimento de cerca de 10 km a partir da área que efetivamente contém os dados do inventário de fontes.

Na realização de simulações no CALMET e CALPUFF, o objetivo é achar o equilíbrio entre o desejo de utilizar uma malha tão espaçada quanto possível para reduzir o tempo de processamento e o tamanho dos arquivos de saída, e o desejo de utilizar uma malha refinada o suficiente para o CALMET poder caracterizar os efeitos de

terreno no campo de ventos. O espaçamento ótimo para uma aplicação particular depende do tamanho do domínio computacional e da complexidade do terreno.

Inicialmente serão utilizados espaçamento 250 e 500 metros. Assim, o número de células em cada direção será 200 e 100, formando um domínio de 50x50 km.

Dados de linha de costa, dados do terreno, dados de uso e ocupação do solo, dados meteorológicos

O GSHHS (*Global Self-consistent Hierarchical High-resolution Shoreline*) é um conjunto de dados de linha de costa de alta resolução formado a partir da combinação de duas bases de dados de domínio público:

1. A base do *World Data Bank II* (WDBII) contendo linhas de costa, lagos, fronteiras políticas e rios. Esses dados possuem uma escala de aproximadamente 1:4,000,000 (ou uma acurácia de 400m), isto é, esses elementos são considerados localizados com exatidão em mapas que utilizam essa ou menor escala (GORNY; CARTER, 1987).
2. Os dados do *World Vector Shoreline* (WVS) contendo linhas de costa ao longo da interface terra/oceano. Esses dados possuem uma escala de aproximadamente 1:1,000,000 e acurácia de 100m (SOLURI; WOODSON, 1990).

Processando dados de linha de costa o usuário especifica métodos de tratamento para dados faltantes ou não acurados dos tipos água/terra. Ambas as situações acontecem majoritariamente sobre oceanos e grandes lagos. Efeitos de dispersão sobre a água nas medidas por satélite podem criar imprecisões nos dados do SRTM (*Shuttle Radar Topography Mission*) em oceanos e lagos e costas adjacentes, sendo o sinal mais óbvio as elevações negativas para água e pontos adjacentes em terra. Além disso, em áreas costeiras, dados de ocupação do solo podem conter erros como identificar o que deveria ser terra como oceano e vice versa.

Assim, o processamento da linha de costa é uma opção do CALPUFF para solucionar esses problemas, opção que pode ser selecionada em dois pré-processadores: TERREL que processa dados de terreno e CTGPROC que processa dados de ocupação do solo.

Topografia e ocupação do solo

Serão utilizados os dados de topografia e uso e ocupação do solo disponibilizadas pelo *United States Geological Survey* (USGS) com resolução de 10', 5', 2' e 30" para os domínios D04, D03, D02 e D01, respectivamente.

Topografia e ocupação do solo

Os dados de elevação do terreno obtidos pela missão espacial SRTM (*Shuttle Radar Topography Mission*) realizada em 2000 (Grohmann, Riccomini, & Steiner, 2008). Os dados brutos foram processados pela NASA e disponibilizados na forma de DEM (*Digital Elevation Models*) em dois produtos, um de 1 segundo de arco (aproximadamente 30 m no equador) de resolução espacial, e outro de 3 segundos de arco (aproximadamente

90 m). Ambos estão disponíveis gratuitamente, embora o produto com resolução de 1 segundo de arco esteja disponível gratuitamente apenas para a área dos Estados Unidos da América. O produto final possui precisão vertical global de ± 16 m e horizontal de ± 20 m (Rabus, *et al.*, 2003). Para a América do Sul, a precisão vertical é de 6,2 m e a horizontal de 9,0 m (Rodriguez, *et al.*, 2006). O produto é georreferenciado ao *datum* WGS84 em coordenadas geográficas decimais. Os dados podem ser obtidos via Internet, na extensão .hgt no seguinte link http://dds.cr.usgs.gov/srtm/version2_1/SRTM3/South_America/. Existem 37 possíveis categorias de cobertura na classificação utilizada no pacote de pré-processadores de dados geofísicos e meteorológicos do CALPUFF. A *U.S. Geological Survey* (USGS), a Universidade de Nebraska-Lincoln, e a *European Commission's Joint Research Centre* (JRC) geraram a Características Globais de Cobertura do Solo (GLCC). A GLCC é uma base dados global de características de cobertura de solo de 1 km de resolução para ser utilizada em diversas pesquisas ambientais e aplicação em modelagem. Os dados de uso e ocupação do solo para a América do Sul utilizados no presente trabalho estão disponíveis no link http://edcftp.cr.usgs.gov/pub/data/glcc/sa/lambert/sausgs2_01.img.gz.

Os dados de ar superior obtidos de estações de radiossondagem são utilizados como entradas no pré-processador READ62, o qual os formata para a entrada no CALMET que por sua vez faz a interpolação entre os dados para o domínio computacional definido. Serão utilizados dados de reanálise. As reanálises versão 1 (KALNAY, *et al.*, 1996) são um projeto cooperativo entre o NCEP (*National Centers for Environmental Prediction*) e o NCAR (*National Center for Atmospheric Research*) que assenta numa técnica de assimilação de dados para produzir um número relativamente elevado de variáveis climáticas e meteorológicas. A grande vantagem desta base de dados reside no fato de disponibilizar um número elevado de parâmetros (de superfície e de altitude), comutualização quase em tempo real. Neste estudo serão utilizados os dados de Reanálises 2 do NCEP-DOE disponibilizados por NOAA/OAR/ESRL PSD, Boulder, Colorado, USA, no sitio http://nomad1.ncep.noaa.gov/ncep_data/index.html. Parte dos dados está dividida em 17 níveis isobáricos, e no presente trabalho serão extraídos os dados de altura geopotencial, temperatura e velocidades u e v para os níveis de 1000hPa, 925hPa, 850hPa, 700hPa, 600hPa, 500hPa, 400hPa e 300hPa.

Os dados de superfície utilizados no CALMET são: direção e velocidade do vento, temperatura do ar, umidade relativa, precipitação pluviométrica, pressão, cobertura de nuvens, altura da primeira camada de nuvens, precipitação e código de precipitação. Estes dados serão monitorados na estações da Rede Automática de Monitoramento da Qualidade do Ar da Grande Vitória – RAMQAr e da estação a ser instalada nos bairros da RMGV de interesse deste projeto, entretanto, os dados de cobertura de nuvens e altura da primeira camada de nuvens não são medidos por nenhuma delas. Tais dados foram obtidos no sítio do CPTEC/INPE (Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos / Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais) no formato METAR (*Meteorological Aerodrome Report* – Relatório Meteorológico de Aeródromo). Tal codificação apresenta os dados meteorológicos horários em determinado aeroporto. No presente estudo, foram utilizados os dados do Aeroporto de Vitória (VIX) (código METAR – 83649).

Inventário de fontes

Conforme descrito para o sistema de modelagem CMAQ, serão utilizados os dados do Inventário de Fontes disponibilizado pelo IEMA.

O modelo CALPUFF divide as fontes em quatro tipos diferentes:

- pontuais: emissões que podem ser caracterizadas apenas por um ponto, como chaminés, por exemplo;
- em linha: emissões que são caracterizadas como uma sequência de fontes pontuais;
- áreas: fonte extensas em que um polígono precisa ser declarado para que a fonte seja adequadamente representada, como uma queimada, por exemplo;
- volumétricas: fontes de pequenas dimensões que são melhor caracterizadas em três dimensões, como a transferência entre duas correias transportadoras, por exemplo.

As fontes industriais serão modeladas de três formas diferentes (fontes de área, pontuais e volumétricas) de acordo com suas características, enquanto que as fontes móveis serão modeladas apenas em forma de fontes de área. Cada uma destas formas deve ser dividida em diferentes simulações devido a limitações do CALPUFF no número de fontes numa mesma simulação. É possível recompilar o código-fonte do CALPUFF com o objetivo de se aumentar o número limite de fontes. Entretanto, o alto número de fontes tende a gerar arquivos de saída muito grandes e diminuir a velocidade de simulação, logo dividir as fontes em diferentes simulações se mostra como uma boa opção para diminuir o tempo de processamento. Para melhor representação das vias, o inventário as dividiu em séries de trechos. Dessa forma, pode-se adequar o traçado da via às curvas e rotatórias presentes na mesma. Provavelmente, a modelagem das vias será realizada como fontes de área.

Avaliação da performance do modelo CALPUFF

A avaliação da performance do modelo será realizada de forma similar aquela proposta para o sistema de modelagem CMAQ, ou seja, por meio de comparações entre as concentrações preditas e as concentrações medidas nas oito estações de monitoramento da RAMQAR. As comparações serão efetuadas com base nas metodologias sugeridas por Hanna (1989) e Yaul, *et al.*, (2005). Assim, serão calculados os seguintes índices estatísticos: coeficientes de correlação (COR), erro quadrático médio normalizado (NMSE), fator de dois (FAC2), desvio fracional (FB) conforme, Hanna (1989). Serão também calculados *Robust Highest Concentration* (RHC) e preparados gráficos quantilxquantil, além de vício, média e desvio padrão conforme Yaul, *et al.*, (2005).

A metodologia aqui descrita poderá ser alterada dependendo dos resultados preliminares e da especificação detalhada dos equipamentos a serem adquiridos para realização deste projeto.

4.5. Protocolo do Estudo: correlação estatística entre qualidade do ar e saúde

As repetidas medições dos sintomas de crianças por FEV₁ e os diários eletrônicos das crianças e dos pais, as variáveis relacionadas à clínica, família, moradia, e saúde geral, e a modelagem de exposição ambiental tornam possível um modelamento estatístico multinível de efeitos mistos avançados. Essa modelagem é mais robusta para falta de dados do que modelos mais tradicionais e pode responder a questões referentes à influência de covariáveis de histórico de asma, covariáveis obtidas do diário do participante, das exposições diárias aos diferentes poluentes com ajuste para variáveis de sazonalidade (estação do ano), variáveis climatológicas (temperatura diária, variação da temperatura diária, direção de ventos), dentre outras.

5. Cronograma

Conforme indicado nos itens 1, 2 e 3 deste manuscrito, este estudo é dividido em dois projetos distintos. Abaixo, é apresentado o cronograma de atividades (Tabela 5) dos dois projetos, indicando por cores distintas, as atividades relacionadas a qualidade do ar e a saúde, além das atividades conjuntas.

Tabela 5. Cronograma de atividades relacionadas ao monitoramento e modelagem da qualidade do ar (azul), monitoramento dos dados de saúde (verde) e atividades conjuntas (rosa).

| Etapa | Descrição | 2017 | 2018 | 2018 | 2018 | 2018 | 2019 | 2019 | 2019 | 2019 | 2020 | 2020 | 2020 | 2020 | 2021 |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|---------|---------|-------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | Oct-Dec | Jan-Mar | Apr-Jun | Jul-Sep | Oct-Dec | Jan-Mar | Apr-Jun | Jul-Sep | Oct-Dec | Jan-Mar | Apr-Jun | Jul-Sep | Oct-Dec | Jan-Mar |
| 1 | atividades do projeto qualidade do ar | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | atividades do projeto saúde | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | atividades conjuntas | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | Redação do sumário executivo do projeto - OK | | Oct | | | | | | | | | | | | |
| 5 | Reunião com Secretaria Municipal de Saúde/Vitória | | Nov | | | | | | | | | | | | |
| 6 | Redação do projeto de pesquisa com o cimento | | Nov | | | | | | | | | | | | |
| 7 | Submissão do projeto de pesquisa ao Depto. Ciências Fisiológicas | | Nov | | | | | | | | | | | | |
| 8 | Submissão do projeto de pesquisa ao Depto. Engenharia Ambiental | | Nov | | | | | | | | | | | | |
| 9 | Submissão do projeto ao CEP - HUCAM | | Nov | | | | | | | | | | | | |
| 10 | Redação do Acordo de Cooperação UFES-Arcelor Mittal | | Dec | Jan | | | | | | | | | | | |
| 11 | Redação do contrato UFES-FUCAM (Saúde) | | Dec | Jan | | | | | | | | | | | |
| 12 | Redação do contrato UFES-FEST (Qualidade do Ar) | | Dec | Jan | | | | | | | | | | | |
| 13 | Especificação dos materiais permanentes a serem adquiridos (Saúde) | | Oct | | | | | | | | | | | | |
| 14 | Especificação dos materiais permanentes a serem adquiridos (Qualidade do Ar) | | | Mar | | | | | | | | | | | |
| 15 | Aquisição dos materiais permanentes equipamentos (Saúde) | | | | Apr-May-Jun | | | | | | | | | | |
| 16 | Aquisição dos materiais permanentes equipamentos (Qualidade do Ar) | | | | Apr-May-Jun | | | | | | | | | | |
| 17 | Visitas às unidades de saúde onde será feito o recrutamento | | | | Mar | | | | | | | | | | |
| 18 | Visitas às localidades para escolha dos locais de instalação da estação de monitoramento | | | | Mar | | | | | | | | | | |
| 19 | Seleção e treinamento de pesquisadores (Saúde) | | | | Jun | Jul-Aug | | | | | | | | | |
| 20 | Seleção e treinamento de pesquisadores (Qualidade do Ar) | | | | Jun | Jul-Aug | | | | | | | | | |
| 21 | Entrega do protocolo a ser seguido para o uso do sistema de modelagem CMAQ | | | | Mar | | | | | | | | | | |
| 22 | Implementação do sistema de modelagem SMOKE/WRF/CMAQ | | | | Apr-May-Jun | Jul-Aug | | | | | | | | | |
| 23 | Implementação do sistema de modelagem SMOKE/WRF/CMAQ | | | | | Aug-Sep | Oct-Nov | | | | | | | | |
| 24 | Inserir novo inventário de emissões | | | | | | | Dec | Jan | | | | | | |
| 25 | Testes e validação do sistema de modelagem SMOKE/WRF/CMAQ | | | | | | | | Fev-Mar | | | | | | |
| 26 | Simulação dos resultados do sistema de modelagem com testes e validação | | | | | | | | | Apr-May | Sep | Oct | Apr-May | Sep | Oct |
| 27 | Simulação e inserção SMOKE/WRF/CMAQ para geração de intersetores 4 cenários tres meses cada | | | | | | | | | Mai-Jun | Oct-Nov | Mai-Jun | Oct-Nov | | |
| 28 | Análise dos resultados do sistema de modelagem SMOKE/WRF/CMAQ | | | | | | | | | | | | | | |
| 29 | Entrega do protocolo a ser seguido para o uso do CALPUFF | | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | Implementação do modelo CALPUFF (WRF e fontes) | | | | | | | | | | | | | | |
| 31 | Testes e validação do modelo CALPUFF | | | | | | | | | | | | | | |
| 32 | Simulações com o CALPUFF | | | | | | | | | | | | | | |
| 33 | Análise dos resultados do CALPUFF | | | | | | | | | | | | | | |
| 34 | Entrega do GAAP | | | | | | | | | | | | | | |
| 35 | Instalação da estação de monitoramento | | | | | | | | | | | | | | |
| 36 | Calibração e testes das medições da estação de monitoramento | | | | | | | | | | | | | | |
| 37 | Verificação das medições de SO ₂ da estação de monitoramento da qualidade do ar da RAMQAR | | | | | | | | | | | | | | |
| 38 | Calibração e testes das medições da estação de monitoramento da qualidade do ar (uma localização) e saúde (10 participantes) | | | | | | | | | | | | | | |
| 39 | Planejamento de monitoramento da qualidade do ar e saúde | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | Planejamento do segundo ano de experimentação | | | | | | | | | | | | | | |
| 41 | Remoção da estação e acondicionamento na UFES | | | | | | | | | | | | | | |
| 42 | Caracterização química da partículas MP2,5 e MP10 | | | | | | | | | | | | | | |
| 43 | Análise dos dados de qualidade do ar e de saúde separadamente | | | | | | | | | | | | | | |
| 44 | Análise dos dados de saúde e sua correlação com a qualidade do ar | | | | | | | | | | | | | | |
| 45 | Relatório parcial e Relatório final | | | | | | | | | | | | | | |
| 46 | Artigo científico | | | | | | | | | | | | | | |

Referências

American College of Allergy, Asthma, and Immunology (ACAAI). 2014. Asthma Information. <http://acai.org/asthma/about> (Accessed 8.12.16)

Appel, K.W.; Chemel, C.; Roselle, S.J.; Francis, X.V.; Hu, R-M.; Sokhi, R.S.; Rao,S.T.; Galmarini, S. Examination of the Community Multiscale Air Quality (CMAQ) model performance over the North American and Europe an domains. *Atmospheric Environment.* v.53, p. 142-155. 2012.

Borge R, López J, Lumbreras J, Narros A, Rodríguez, E. 2010. Influence of boundary conditions on CMAQ simulations over the Iberian Peninsula. *Atm Environ.* 44:2681-2695.

Borge, R.; Alexandrov, V.; José' Del Vas, J.; Lumbreras, J.; Rodriguez, E. A comprehensive sensitivity analysis of the WRF model for air quality applications over the Iberian Peninsula. *Atmospheric Research.* V. 42, p. 8560–8574, 2008.

Bousquet J, Bousquet PJ, Goddard P, Daures J-P. 2005. The public health implications of asthma. *Bulletin World Health Org.* 83:548-554.

Boylan JW, Russel AG. 2006. PM and light extinction model performance metrics, goals, and criteria for three-dimensional air quality models. *Atm Environ.* 40:4946–4959.

Calderón MEG. 2015. Impacto das condições de contorno químicas na representação do ozônio troposférico na Região Metropolitana de São Paulo com o modelo WRF-Chem. Universidade de São Paulo. (Dissertação de Mestrado).

Castro, I. P.; Apsley D. D. Flow and Dispersion Over Topography: A Comparison Between Numerical and Laboratory Data For Two-Dimensional Flows. *Atmospheric Environment.* V.31, p. 839-850, 1997.

Challa, V.S.; Indracanti, J.; Rabarison, M.K.; Patrick, C.; Baham, J.M.; Young, J.; Hughes, R.; Hardy, M.G.; Swanier, S. J.; Yerramilli, A. A simulation study of mesoscale coastal circulations in Mississippi Gulf coast. *Atmospheric Research,* v. 91, i. 1, p. 9 – 25, 2009.

Castro HA, Hacon S, Argento R, Junger WL, Mello CF, et al. 2007. Air pollution and respiratory diseases in the Municipality of Vitória, Espírito Santo State, Brazil. *Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro,* 23(4):S630-S642.

Castro HA, Hacon S, Gonçalves K, and Junger WL. 2011. Chapter 4. Air Pollution and Outpatient Treatment and Hospital Admissions for Respiratory Diseases in Children in Southeast Region of Brazil in “Advanced Topics in Environmental Health and Air Pollution Case Studies.” (Editor: Moldoveanu A). DOI: 10.5772/23656

Centers for Disease Control and Prevention. 2011. Vital Signs, May 2011.

Chang, J.C., Hanna, S.R. Technical Descriptions and User's Guide for the BOOT Statistical Model Evaluation Software Package, Version 2.0. Fairfax, 2005.

Cheng, F-Y.; Byun, D. W. Application of high resolution land use and land cover data for atmospheric modeling in the Houston-Galveston metropolitan area, Part I: Meteorological simulation results. *Atmospheric Environment,* v. 42, p. 7795-7811, 2008.

Corrêa, E. B.; Cataldi, M.; Pimentel, L. C. G. Análise Comparativa das Simulações do Modelo de Mesoescala MM5 e Dados Meteorológicos Observados para a Região do Galeão/RJ. *Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ,* v. 29 – 2, p. 66-86, issn 0101-9759, 2006.

Costa E, Bregman M, Araujo DV, Costa CH, Rufina R. 2013. Asthma and the socioeconomic reality in Brazil. *World Allergy Organization Journal* 6:20.

Costa GN, Dudbridge F, Fiaccone RL, da Silva TM, Conceição JS, Strina A, Figueiredo CA, Magalhães WC, Rodrigues MR, Gouveia MH, Kehdy FS, Horimoto AR, Horta B, Burchard EG, Pino-Yanes M, Del Rio Navarro B, Romieu I, Hancock DB, London S, Lima-Costa MF, Pereira AC, Tarazona E, Rodrigues LC, Barreto ML. 2015. A genome-wide association study of asthma symptoms in Latin American children. *BMC Genet.* 16:141.

Delfino RJ, Gong H, Linn WS, Hu Y, Pellizzari ED. 2003. Respiratory symptoms and peak expiratory flow in children with asthma in relation to volatile organic compounds in exhaled breath and ambient air. *J Expo Anal Environ epidemiol.* Sep; 13(5):348-63.

Emery, C. Tai, E., Yarwood, G. Enhanced Meteorological Modeling and Performance Evaluation for Two Texas Ozone Episodes. Work Assignment No. 31984-11. TNRCC Umbrella Contract No. 582-0-31984.

FFM. 2003. Epidemiological analysis of air pollution impact on the health of the population of Greater Vitoria. Prospective study report. LPAE/FMUSP RT-238-1.

FFM. 2007. Proposal for measures to assess air pollution impact on human health in the Greater Vitoria area. Prospective study report. LPAE/FMUSP RT-408-v1.

Freitas CU, Ponce de Leon A, Juger W, Gouveia N. 2016. Air pollution and its impacts on health in Vitoria, Espírito Santo, Brazil. *Rev Saude Publica.* 50:4.

Gilliam, R.C., Hogrefe, C., Rao, S.T. New methods for evaluating meteorological models used in air quality applications. *Atmospheric Environment*, V. 40, P. 5073–5086, 2006.

Gorny AJ, CARTER R. 1987. World Data Bank II: General Users Guide. Washington, DC. US Central Intelligence Agency.

GRELL, G. J.; DUDHIA, D. S. A Description of Fifth-Generation Penn State/NCAR Mesoscale Model (MM5) NCAR Tech. Note NCAR/TN-398+STR, Boulder, p. 122, 1994.

Grohmann CH, Riccomini C, Steiner SDS. 2008. Aplicações dos Modelos de Elevação SRTM em Geomorfologia. *Revista Geografia Acadêmica*, 2(2):73-83, ISSN 1678-7226.

Hanna SR (1989) Confidence limits for air quality model evaluations as estimated by bootstrap and jackknife resampling methods. *Atmos Environ* 23: 1385–1398

Hanna, S., R., Paine, R.,J. Hybrid Plume dispersion Model (HPDM) Development and Evaluation. *Journal of applied Meteorology*. V. 28, p. 206-224. 1988.

IEMA – Instituto estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Relatório Anual de Qualidade do Ar RMGV – Ano 2013. Disponível em: http://www.meioambiente.es.gov.br/download/Relat%C3%B3rio_Anual_de_Qualidade_do_Ar_2013.pdf.

IEMA/Ecosoft - Instituto estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos / Ecosoft Consultoria e Softwares Ambientais. Inventário de Emissões Atmosféricas da Região da Grande Vitória, 2011. Disponível em: http://www.meioambiente.es.gov.br/download/RTC10131_R1.pdf.

ISAAC. 2017. ISAAC Tools. ISAAC Steering Committee. Accessed on Feb 9, 2017. Available at: <http://isaac.auckland.ac.nz/resources/tools.php?menu=tools1>.

Kalnay E, et al. 1996. The NCEP/NCAR 40-Year Reanalysis Project. Bulletin of the American Meteorological Society.

Kumar A, Söderhäll C, Merid S, Xu C, Gruzieva O, Koppelman G, Kere J, Pershagen G, Melén E. 2016. meQTL analysis of asthma GWAS loci and DNA methylation. European Respiratory Journal. 48 (60):PA1209.

Meyers DA, Bleeker ER, Holloway JW, Holgate ST. 2014. The genetics of asthma: towards a personalized approach to diagnosis and treatment. Lancet Respir Med. 2(5):405-415.

Moffatt MF, Gut IG, Demenais F, Strachan DP, Bouzigon E, Heath S, von Mutius E, Farrall M, Lathrop M, Cookson WO; GABRIEL Consortium. 2010. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma. N Engl J Med. 363(13):1211-21.

National Heart, Lung, and Blood Institute. 2014. What causes asthma?
<https://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/asthma/causes> (Accessed 8.12.16)

Nicodemus-Johnson J, Myers RA, Sakabe NJ, Sobreira DR, Hogarth DK, Naureckas ET, Sperling AI, Solway J, White SR, Nobrega MA, Nicolae DL, Gilad Y, Ober C. 2016. DNA methylation in lung cells is associated with asthma endotypes and genetic risk. JCI Insight. 1(20):e90151.

Noonan CW, Semmens EO, Smith P, Harrar SW, Montrose L, Weiler E, McNamara M, Ward TJ. 2017. Randomized Trial of Interventions to Improve Childhood Asthma in Homes with Wood-burning Stoves, Environ Health Perspect. 125(9):097010: 13

Ober, C and Yao, T. 2011. The genetics of asthma and allergic disease: a 21st century perspective. Immunol Rev. 242(1):10-30.

Pedruzzi, R. 2016. Avaliação de desempenho do modelo fotoquímico CMAQ utilizando diferentes condições de contorno em uma região urbana e industrializada. Universidade Federal do Espírito Santo. (Dissertação de Mestrado). Vitória.

Pereira LA. 1999. Medical School Foundation. Vitoria Project: Allergies and Respiratory Diseases Related to Air Quality. Retrospective study final report. RT845-01.

Perera F, Tang WY, Herbstman J, Tang D, Levin L, Miller R, Ho SM. 2009. Relation of DNA methylation of 5'-CpG island of ACSL3 to transplacental exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and childhood asthma. PLoS One. 4(2):e4488.

Rabus, B., M. Eineder, A. Roth, R. Bamler (2003), The shuttle radar topography mission- a new class of digital elevation models acquired by spaceborne radar, J. Photogramm. Rem. Sens., 57, 241-262

Reboreda, B., Arasa, R. and Codina, B. (2015) Evaluating Sensitivity to Different Options and Parameterizations of a Coupled Air Quality Modelling System over Bogotá, Colombia. Part I: WRF Model Configuration. Open Journal of Air Pollution, 4, 47-64.

Resolução CONAMA nº 3 de 28 de junho de 1990. Dispõe sobre os padrões de qualidade do ar. Brasília, 1990.

Rodriguez, E., C.S. Morris, J.E. Belz (2006), A global assessment of the SRTM performance, Photogramm. Eng. Rem. Sens., 72, 249-260.

Sandberg S, Paton JY, Ahola, S, McCann DC, McGuinness, D, Hillary, CR, and Oja, H. (2000). The role of acute and chronic stress in asthma attacks in children. *The Lancet* 356(9234):982-987. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02715-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02715-X)

Sarnaglia VM, Silva AM. 2010. Estudo da qualidade do ar na região metropolitana da grande vitória empregando um modelo de dispersão atmosférica - CALPUFF. Projeto de conclusão de curso do curso de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo.

SCIRE, J.S., STRIMAITIS, D.G., YAMARTINO, R.J. A User's Guide for the CALPUFF Dispersion Model. Concord, 2000. Disponível em http://www.src.com/calpuff/download/CALPUFF_UsersGuide.pdf > Acesso em 20/03/2016.

Serpa FS, Zandonade E, Reis JL, Borja TN, Moyses TR, Campinhos FL, Braga Neto F et al. 2014. Prevalência de asma, rinite e eczema atópico em escolares do município de Vitória, Espírito Santo, Brasil. *Rev Bras Pesq Saúde*. 16(3):107-14.

Shi C, Fernando HJS, Hyde P. 2012. CMAQ predictions of tropospheric ozone in the U.S. southwest: Influence of lateral boundary and synoptic conditions. *Sci Total Environ*. 416:374–384.

Skamarock, W.C., et al. (2008) A Description of the Advanced Research WRF Version 3. NCAR Technical Notes, NCAR/TN-4751STR.

Soluri EA, Woodson VA. 1990. World Vector Shoreline. International Hydrographic Review. 67:27-36.

Souza-Machado C, Souza-Machado A, Cruz AA. 2012. Asthma mortality inequalities in Brazil: Tolerating the unbearable. *The Scientific World Journal* 2012, Article ID 625829.

Srinivas, C. V.; Venkatesan, R.; Singh, B. A. Sensitivity of mesoescala simulations of land-sea breeze to boundary layer turbulence parametrization. *Atmospheric Environment*, v. 41, p. 2534-2548, nov-2006.

Stefanowicz D, Hackett TL, Garmaroudi FS, Günther OP, Neumann S, Sutanto EN, Ling KM, Kobor MS, Kicic A, Stick SM, Paré PD, Knight DA. 2012. DNA methylation profiles of airway epithelial cells and PBMCs from healthy, atopic and asthmatic children. *PLoS One*. 7(9):e44213.

Thomsen SF. Genetics of asthma: an introduction for the clinician. 2015. *Eur Clin Respir J*. 16:2.

World Health Organization. 2106. Genetics and asthma. WHO's Human Genetics areas of work. <http://www.who.int/genomics/about/Asthma.pdf?ua=1>. (Accessed 8.1.16)

World Health Organization. 2013. Asthma. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs307/en/> (Accessed 8.11.16)

World Health Organization. Global surveillance, prevention and control of chronic respiratory diseases: a comprehensive approach, 2007.

World Health Organization. Air Quality Guidelines Global Update 2005. Genebra, Suiça: World Health Organization Regional Office for Europe, 2006.

Yaul, K. et al. 2005. Inter-comparison of the AUSTAL2000 and CALPUFF dispersion models against the Kincaid data set. Lakes Environmental Software Inc. Waterloo, Canada.

Zhang, Y., Pun, B., Wu, S.-Y., Vijayaraghavan, K., Seigneur, C., Application and evaluation of two air quality models for particulate matter for a southeastern US episode. *Journal of the Air & Waste Management* v. 54, p. 1478–1493, 2004.

Zhang, Y., Liu, P., Pun, B., E Seigneur, C., A comprehensive performance evaluation of MM5- CMAQ for the summer 1999 southern oxidants study episode- Part III: diagnostic and mechanistic evaluations, *Atmospheric Environment*, v. 40, i. 26, p. 4856-4873, 2006.