Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Interferentes endócrinos no meio ambiente:
um estudo de caso em amostras de água *in*
natura e efluente de estação de tratamento de
esgotos da Região Metropolitana de São Paulo.**

Ana Lúcia Silva

**Tese de Doutorado apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em Saúde
Pública para obtenção do título de
Doutor em Saúde Ambiental.**

**Área de Concentração: Saúde
Ambiental.**

Orientador: Prof. Dr. José L. N. Mucci

São Paulo
2009

**Interferentes endócrinos no meio ambiente:
um estudo de caso em amostras de água *in*
natura e efluente de estação de tratamento de
esgotos da Região Metropolitana de São Paulo.**

Ana Lúcia Silva

**Tese de Doutorado apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em Saúde
Pública para obtenção do título de
Doutor em Saúde Ambiental.**

**Área de Concentração: Saúde
Ambiental.**

Orientador: Prof. Dr. José L. N. Mucci

**São Paulo
2009**

É expressamente proibida a comercialização deste documento tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da tese/dissertação.

Dedicatória...

Aos meus pais, Jonas Pedro e Maria do Carmo, aos meus irmãos André Luiz e Amilton Rogério, e à minha querida tia Santana. Sem vocês este momento não seria tão especial. Sem vocês eu não teria chegado até aqui.

Agradecimentos...

Ao meu Deus, por ter me dado força e saúde para atingir meus objetivos, ter me guiado e me proporcionado trilhar caminhos que me levaram a realizar este trabalho.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador, o **Prof. Dr. José Luiz N. Mucci**, pelo apoio, amizade e fé na minha pessoa. Obrigada pela orientação, ter ouvido meus problemas e ter me prestado o apoio necessário para que este trabalho se concretizasse.

Ao Prof. Dr. **Wanderley da S. Paganini**, pelo apoio em um momento essencial para que este trabalho se realizasse, e por ter me ensinado a transformar idéias em realidade.

Ao Prof. Dr. **Pedro C. S. Mancuso**, por ter me incentivado a fazer este doutorado.

Às pessoas inestimáveis e incomparáveis que me apoiaram e acreditaram em mim este tempo todo:

Ligia Marino e Beatriz B. Vianna - vocês são muito especiais!!! Sem vocês este trabalho não teria se realizado.

Maria Ap. Brandino da Silva, Edvaldo Sorrini, Darcy Brega F^o, Ana Lúcia F. R. Szajubok, Miriam M. Bocchiglieri, Kamel Zahed F^o, Aparecida Rivelli – por acreditarem, acreditarem e acreditarem tanto em mim...

E ao meu tio **Agenor A. Coelho**, meu tio químico! Obrigada pelo incentivo constante!

À minha priminha, futura médica, **Fernandinha**!

À minha priminha **Bianca** e seu pai, o tio **Nunes**, que são meus queridos: só de pensar em vocês e na família eu já me sentia fortalecida para vencer tantos desafios!

À Ger. Dep. **Érika**, da SABESP, que apareceu de repente na minha vida e me deu o “empurrãozinho” fundamental para que este trabalho se concretizasse.

Às pessoas que apareceram na minha vida em momentos cruciais (e sempre reaparecem quando preciso) para me dar apoio incondicional: **Aline S. Martins** e **Cláudia Mota Santos**.

Marcelo S. de Lacerda Silva – pelo apoio na leitura e releitura destes trabalhos, pela paciência e pela amizade!

Aos colegas de trabalho que seguraram as pontas nesta etapa final e ficaram na torcida: **Júnior, Viktor, Rodney, Alisson, Eloísa, Fernandinha, Mariza, Soares** – vocês são demais!!!

Ao pessoal do Laboratório Central da SABESP, pelo apoio e pela generosidade: **Agnaldo, Eduardo, Celina, Elvira** e **Borges**.

Às **equipes da SABESP**: aos que me ajudaram nas coletas das amostras; aos Gerentes da ETE e da ETA, e aos seus superiores, pelo apoio e permissão para a realização das coletas; aos Gerentes do Laboratório Central, pela autorização em utilizar os equipamentos do laboratório.

À **USP** e a **Faculdade de Saúde Pública**, à **equipe**, à **CPG** e à **Reitoria**, onde pude aprender mais sobre o mundo e sobre mim mesma, inclusive, que tenho muito ainda para aprender.

E finalmente, à minha família, aos amigos, aos colegas de trabalho que não citei aqui, mas que com certeza fizeram a diferença nesta minha jornada!

A TODOS, MUITO OBRIGADA!

Resumo

Silva AL. Interferentes endócrinos no meio ambiente: um estudo de caso em amostras de água in natura e esgoto tratado em sistemas da Região Metropolitana de São Paulo. [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2009.

Interferentes endócrinos são substâncias que podem causar efeitos deletérios na saúde, crescimento e capacidade reprodutiva dos organismos, e colocam em risco a continuidade de várias espécies. Suas fontes são as mais variadas possíveis, sendo possível detectá-los em alguns alimentos, produtos farmacêuticos, produtos químicos e seus respectivos subprodutos de degradação. Também vêm sendo detectados em várias matrizes ambientais, tais como o ar, solo, água e sedimentos. Devido as suas capacidades de ação sinérgica, aditiva e antagônica é extremamente complexa a determinação da relação dose-resposta, informação esta necessária para a definição de limites de padrões de qualidade e medidas de controle e monitoramento. A partir da avaliação do estado da arte relativa ao tema foram apresentados os mais atuais instrumentos de gestão ambiental e suas respectivas aplicações. Finalmente, foi realizado teste visando detectar a eventual presença de efeito estrogênico em amostras de dois sistemas de grande importância para a Região Metropolitana de São Paulo: a água da Represa Guarapiranga e o efluente da Estação de Tratamento de Esgotos Barueri. Os testes realizados foram do tipo *in vivo*, onde peixes machos da espécie *Cyprinus carpio* foram expostos a amostras destes dois sistemas e foi investigada a presença da proteína vitelogenina no plasma sanguíneo em concentrações anômalas. Verifica-se a necessidade premente de maiores estudos que foquem o efeito dos interferentes endócrinos na saúde e no meio ambiente, através de ensaios biológicos, de forma a municiar a sociedade de informações que permitam

definir medidas estratégicas de atuação para minimização do impacto desta poluição.

Descritores: interferentes endócrinos; sistema endócrino; poluição ambiental.

Abstract

Silva AL. Endocrine disrupters in the environment: a case of study in samples of water in nature and wastewater treated systems in the Metropolitan Region of São Paulo. [thesis]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP, 2009.

Endocrine disrupters are substances that can play a role of deleterious effects in organism's health, growth and reproductive capability. They can be found in food, pharmaceuticals, chemical products and by-products and in diverse environmental matrixes, as air, soil, water and sediments. Because their ability to synergistic, additive and antagonistic action, it is difficulty to determine the dose-response relationship, which is necessary for establishment of quality standards and monitoring measures. From the assessment of state-of-art about endocrine disrupters were present the most current environmental tools and applications. Finally, one test was performed to detect the possible presence of estrogenic effect in samples of two systems located in Metropolitan Region of São Paulo, from Guarapiranga Reservoir and the effluent from Wastewater Treatment Plant in Barueri. The tests *in vivo* were with male fish of the species *Cyprinus Carpio*, and investigated the presence of protein vitellogenin in blood plasma and in anomalous concentrations. There is a need for more studies that focus on the effect of endocrine disrupters on human health and the environment, by means of biological tests, in order to arm the society with informations to set strategic measures of performance for minimizing the impact of this kind of pollution.

Descriptors – endocrine disrupters; endocrine systems; environmental pollution.

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	18
3	REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1.	DEFINIÇÕES	24
3.2.	PARADIGMA “RECEPTOR-MEDIADOR” OU TEORIA DA “CHAVE-FECHADURA”	25
3.3.	RELAÇÃO DOSE-RESPOSTA	32
3.4.	POTENCIAIS EFEITOS DOS INTERFERENTES ENDÓCRINOS E NO MEIO AMBIENTE E NA SAÚDE HUMANA	35
3.5.	CARACTERÍSTICAS E PROPRIEDADES DOS INTERFERENTES ENDÓCRINOS QUANTO A SUA DISSEMINAÇÃO NO MEIO AMBIENTE E SUAS FONTES DE POLUIÇÃO	49
3.5.1.	Interferentes endócrinos, potenciais fontes e rotas d exposição	55
3.5.1.1.	Fontes pontuais e difusas	57
3.5.1.2.	Dieta alimentar	60
3.5.1.3.	Fármacos, produtos de higiene pessoal e tratamentos clínicos	65
3.5.1.4.	Fontes atmosféricas	68
3.5.1.5.	Outras fontes e suas rotas	71
3.5.1.6.	Pesquisas em andamento	75
3.6.	RISCOS E INCERTEZAS INERENTES AOS INTERFERENTES ENDÓCRINOS	77
3.6.1.	Instrumentos de gestão ambiental: o Princípio da Precaução e a análise de risco ambiental	89
3.7.	PROCESSOS DE TRATAMENTO DE ÁGUA E ESGOTO E SUAS CAPACIDADES DE REMOÇÃO DE INTERFERENTES ENDÓCRINOS	95

3.7.1. Processos de tratamento de esgotos	96
3.7.2. Processos de tratamento de água	104
3.8. INSTRUMENTOS LEGAIS	108
3.9. CENÁRIO NO BRASIL	111
3.10. ENSAIOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE INTERFERENTES ENDÓCRINOS	121
3.10.1. Desempenho dos métodos	121
3.10.2. Técnicas de bioensaio	122
3.10.2.1. Testes para a proteína Vitelogenina	129
3.10.2.2. A carpa comum (<i>Cyprinus carpio</i>)	132
4 MATERIAIS E MÉTODOS	134
4.1. PONTOS DE AMOSTRAGEM	134
4.2. MÉTODOS DE ANÁLISE	139
4.2.1. Obtenção e manutenção dos peixes	141
4.2.2. Coleta das amostras de água e efluente	142
4.2.3. Ensaio realizados	143
4.2.4. Leitura das amostras de plasma sanguíneo – aplicação do kit ELISA	145
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	147
5.1. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	149
5.2. CONSIDERAÇÕES FINAIS	152
6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	158
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	161
8 ANEXOS	191
9 CURRÍCULO LATTES	199

Introdução

1. Introdução

Dos cerca de 85.000 agentes químicos produzidos e utilizados nos países mais industrializados, 2.800 são produzidos em alta escala (acima de 500.000 kg/ano). Desses, menos de 45% foram submetidos a testes toxicológicos básicos, e menos de 10% a efeitos tóxicos em organismos em desenvolvimento antes de chegarem ao mercado de consumo (MELLO-DA-SILVA e FRUCHTENGARTEN, 2005).

Mais recentemente um novo efeito deletério vem sendo atribuído a algumas destas substâncias: a de causar interferência no sistema endócrino de humanos e animais, afetando a saúde, o desenvolvimento e a reprodução. Estas substâncias são conhecidas por diversos nomes, tais como Interferentes Endócrinos (IE), desreguladores endócrinos ou hormônios ambientais.

Os IE encontram-se amplamente disseminados no meio ambiente, dadas as suas características físico-químicas e as suas origens, tanto difusas quanto pontuais, sendo possível detectá-los em praticamente todas as matrizes ambientais, tais como solo, recursos hídricos, sedimentos e ar (REIS FILHO et al., 2006; BILA e DEZOTTI, 2007; GHISELLI e JARDIM, 2007). Também podem ser propagados através da cadeia alimentar, dadas as características que algumas destas substâncias apresentam de biomagnificação. No mundo todo esta nova classe de substâncias e seus efeitos deletérios na saúde ambiental vêm sendo discutidos e estudados há algum tempo.

É importante chamar a atenção de que, em termos de biodiversidade, os IE atingem uma parcela muito pequena das espécies, justamente aquelas que

possuem seu sistema endócrino desenvolvido, em geral os animais invertebrados e vertebrados (KLOAS e LUTZ, 2006). No entanto, é óbvia sua importância, já que atinge potencialmente o homem, seja de forma direta ou indireta, levando ao risco extremo de extinção de algumas espécies.

No Brasil, observa-se que o uso destas substâncias é bastante amplo, podendo ser detectadas em vários segmentos, em especial em atividades industriais e agrícolas. O uso de substâncias como Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT) é comum no trato de combate a vetores de doenças, tais como, por exemplo, a malária. Entre 1988 e 1994, 3.000 toneladas de DDT foram utilizadas na região Amazônica para o combate ao mosquito *Aedes* sp. Estes dados causam ainda mais preocupação por ser o DDT uma substância reconhecidamente persistente no meio ambiente. A região sudeste é a que apresenta a mais alta relação entre venda de pesticidas/pessoa, no Brasil. Em 1985, havia uma relação de 12 kg/pessoa. Já o estado de São Paulo se destaca com uma relação de 32 kg/pessoa ativa, a maior de todo o país (Garcia, Garcia e Almeida apud MEYER et al., 1999). O relatório GEO 2002, do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), estima que o número de indivíduos contaminados diretamente por agrotóxicos no Brasil pode ser de aproximadamente 540.000, com cerca de 4.000 mortes por ano. O sudeste teria 42,37% do total de casos de intoxicação por agrotóxicos. O relatório salienta que a contaminação resultante deste processo produtivo agrícola não fica restrita à área ou aos trabalhadores, sendo exportada através da contaminação ambiental (ar e água) e dos alimentos (IBAMA, 2002).

O que se discute após a constatação de um agente etiológico com potencial impacto negativo na saúde pública são os seus métodos de controle e mitigação ou minimização dos riscos. A partir de uma análise dos artigos científicos publicados a respeito verifica-se a existência de várias lacunas de conhecimento

quanto aos mecanismos de ação dos IE no meio ambiente. Sua ação se dá de modo multifatorial, podendo ter papel principal no desencadeamento de uma doença ou simplesmente ser um contribuinte. No entanto, caso não estivesse presente no meio ambiente talvez não fosse possível a ocorrência de danos à saúde, dentro de um contexto sinérgico de ação. O nexos causal para vários IE no momento é desconhecido, e somente se é possível argumentar a respeito de seus impactos de forma probabilística, através de ensaios e constatações laboratoriais (STOPELLI, 2005).

É indiscutível que a presença dos IE está intrinsecamente ligada ao estilo de vida moderno e aos avanços tecnológicos na busca de atender aos anseios da sociedade, e seu uso está estreitamente associado à busca de uma melhor qualidade de vida. O reconhecimento deste contexto é fundamental para a compreensão da complexidade quando da busca de controlar e mitigar estas substâncias e seus eventuais impactos.

No Brasil ainda se segue o antigo modelo americano de combate à poluição, com o uso de padrões de qualidade, regulação e controle de emissões, modelo este que ainda é amplamente utilizado no mundo todo. Para os IE este modelo deve ser aprimorado para uma abordagem mais abrangente, de certa forma “mais flexível” no sentido de que permita uma aplicação “caso a caso”, localizada inclusive, através da análise e gerenciamento de riscos. Isto porque é discutível a capacidade científica atual de definirem-se limites para estas substâncias, considerando-se as divergências entre os autores quanto aos mecanismos de ação desencadeadores de danos no sistema endócrino das espécies, a constatação de sua ação sinérgica e as diversas fontes de exposição disponíveis.

As leis brasileiras atuais tratam especificamente de substâncias cujos efeitos são cientificamente conhecidos, ao menos em grande parte, ou que o nexo causal tenha sido minimamente estabelecido, e cujas fontes de poluição em geral podem ser detectadas e até mesmo controladas. Dentro do arcabouço legal existente podemos citar como principais normas a Resolução CONAMA 357/05 (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2005), que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências, define a qualidade de um corpo d'água a partir de características físico-químicas, organolépticas, biológicas e de toxicidade pré-definidas e validadas; e a Portaria 518/04 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004), a qual estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Nenhuma possui valores limitantes com foco especificamente no potencial de atividade endócrina destas substâncias. Mas como tratar das substâncias que ainda não foram devidamente analisadas quanto aos seus efeitos crônicos ou agudos, dentro do espectro amplo de ação inerente ao grupo dos IE?

Quando tal fato ocorre, um risco e uma incerteza associados, pode ser chamado à ação o Princípio da Precaução. Conforme SETZER (2007), o Princípio da Precaução traduz a idéia de que, diante da possibilidade de um dano grave e irreversível, seja ele originário de uma atividade ou, no caso aqui tratado, por substâncias oriundas de fontes diversas, “a incerteza sobre a magnitude ou sobre a relação de causalidade entre a atividade e o perigo que poderá se caracterizar, não dispensa a adoção de medidas que visem evitar o dano. A incerteza científica e o risco incerto estão inexoravelmente relacionados com a idéia de precaução, podendo variar em função das distintas percepções culturais.” Em última instância, a decisão gerada pela aplicação do Princípio da Precaução gera uma tomada de decisão política, dada as várias partes envolvidas, a ausência de nexo de

causalidade e a necessidade de uma ação não baseada em fatos comprovados cientificamente.

Finalmente, a aplicação de tecnologias que visem ao monitoramento destas substâncias são atualmente caras, complexas e limitadas quando aplicadas de forma isolada. Por forma isolada quer-se dizer do uso de tecnologias que detectem e quantifiquem a(s) substância(s) presentes no meio sem considerar o potencial ou real impacto em organismos vivos. Esta constatação se dá através da realização de testes *in vivo* ou *in vitro*.

Dentro deste contexto é que se faz necessária uma avaliação sistêmica, desde a provável origem dos IE quanto aos seus potenciais impactos, e as maneiras de minimizar os riscos à saúde e ao meio ambiente. Não se trata mais da aplicação de métodos que visem a controlar o tangível e o mensurável, mas sim do uso de novas formas de avaliação, sem a presença de nexos causais, mas tão somente um entrelaçamento de acontecimentos que podem levar a um efeito, ou não. O processo se sobrepõe ao resultado, ao efeito, questionando-se o como se atingiu aquele estado de degradação e não a degradação *per si*.

Objetivos

2. Objetivo

O presente trabalho teve por objetivos:

- ❖ Realizar levantamento bibliográfico a respeito dos IE, pesquisas referentes à ação destas substâncias no sistema endócrino, epidemiológicas e ambientais, quanto à exposição aos mesmos, visando gerar um texto de consulta científica;
- ❖ Levantar dados referentes à situação ambiental no Brasil com relação a esta classe de contaminantes;
- ❖ Elaborar análise crítica sobre métodos de controle e ferramentas de gestão dos riscos para estas substâncias;
- ❖ Realizar pesquisa exploratória, através de testes com bioindicadores para dois grandes sistemas da Região Metropolitana de São Paulo, quanto ao potencial de estrogenicidade do efluente de uma Estação de Tratamento de Esgotos e de um recurso hídrico superficial utilizado para abastecimento público.

Revisão da Literatura

3. Revisão da Literatura

Define-se ecossistema como o “conjunto das relações de interdependência dos seres vivos e entre si com seu meio ambiente.¹” O ecossistema é composto por uma série de elementos da natureza, que devem ser considerados em um estudo relacionado com a área de saúde ambiental, tais como os recursos hídricos, o solo, o clima, a fauna e a flora, entre outros, assim como as interrelações que mantêm o equilíbrio daquele ecossistema. CESAR-VAZ et al (2005) define ecossistema como uma relação entre seres vivos e o ambiente físico-social, incluindo aí um território cósmico com características naturais e construídas por ações antrópicas. Já a saúde ambiental pode ser definida como uma subárea da saúde pública, a qual se ocupa das formas de vida, das substâncias e das condições em torno do ser humano, e que podem exercer alguma ou nenhuma influência sobre sua saúde e bem estar (Brasil-MS apud RIBEIRO, 2004).

A saúde como conceito seria um processo de produção, condicionada a situações externas. A natureza vem sendo gradativamente adequada ao ser humano, e não o contrário, independente de esta adequação resultar em uma situação salubre ou não. Dentro deste conceito, é possível afirmar que a saúde e o meio ambiente são “coisas construídas”, ou vêm sendo, através das ações do homem sobre a natureza. A revolução advinda desta percepção, e sua aplicação em termos práticos permitiram à humanidade interferir na sua expectativa de vida e na qualidade e bem estar, através da manipulação da saúde-ambiente. A segunda metade do século XIX e início do século XX trazem a aplicação do paradigma possibilista, enfatizando a capacidade da humanidade

¹ Aulete – dicionário digital.

em usar e alterar o meio ambiente, e estas modificações seguem diretrizes sociais, regionais e culturais (OPAS, 1999; RIBEIRO, 2004; CEZAR VAZ et al, 2005).

Atualmente, verifica-se uma tendência a uma alteração, onde países em desenvolvimento e antes mais afetos a doenças infecciosas tendem a modificar este quadro para uma homogeneização das causas de doenças e mortes, sendo estas mais associadas ao modo de vida ocidental, do tipo crônico-degenerativas.

Sorre apud RIBEIRO (2004) relacionou algumas enfermidades à geografia, temperatura e umidade, e o emprego do DDT na busca da destruição de seus vetores. O conceito em que se insere esta ação, o uso de substâncias químicas, fundamentava-se na busca em melhorar as condições de saúde pública, obtendo decréscimos das taxas de mortalidade e aumentos da expectativa de vida, através da pesquisa e desenvolvimento de técnicas de tratamento (tais como vacinas, antibióticos, etc.). E realmente, o início do século XX trouxe grandes avanços no controle de grande parte das doenças infecciosas e suas causas, assim como no decréscimo das taxas de mortalidade, principalmente nos países desenvolvidos. Estes passam a se tornar indícios positivos relacionados à evolução tecnológica e industrial, do conseqüente aumento da renda e finalmente da possibilidade de investimentos públicos em políticas de saúde e programas de saneamento básico, não obstante a desigualdade social não permitisse que estes benefícios fossem homogêneos dentro de uma mesma população.

O século XX traz novas descobertas sobre a relação saúde e meio ambiente, tais como a constatação de que alguns medicamentos passam a ser ineficazes para alguns grupos de microorganismos, a constatação de que

alguns tratamentos podem levar à morbidade e que algumas das principais causas de morte estariam relacionadas a fatores ambientais e aos próprios tratamentos clínicos. O impacto ambiental advindo de ações do próprio homem e seus efeitos na saúde pública passam a ser revistos. A saúde envolve, portanto, aspectos políticos, econômicos, éticos, filosóficos e culturais, sendo ainda individual e dependente do momento histórico analisado. Estas constatações trazem à tona a compreensão da necessidade de construção de uma sociedade saudável e ao mesmo tempo sustentável, onde ainda assim o ser humano encontra-se no centro deste objetivo. Saúde e doença passam a ser fenômenos ambientais ao se constatar que os problemas no meio ambiente podem provocar danos à saúde pública. Os problemas ambientais associados à ação do homem tais como a poluição, o desordenamento urbano, a desigualdade de classes social e econômica passam a interferir na reprodução dos seres humanos e da vida selvagem. Trata-se de uma “desregulação do ambiente” que atinge de forma mais impactante os mais pobres, mas que eventualmente atinge toda uma população (RIBEIRO, 2004; CEZAR-VAZ, 2005; ACSELRAD, 2006).

Os delineamentos de política para a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) estão dirigidos ao alcance da meta mundial de saúde para todos no século XXI. Uma das cinco Orientações Estratégicas Programadas oriundas da 25ª Conferência Sanitária Pan-Americana (1998) estabelece a prioridade à cooperação técnica dirigida a: “Apoiar a promoção e implementação de ações de atenção primária ambiental no contexto de saúde para todos, que proporcionem às comunidades ambientes que promovam o desenvolvimento, com sua participação ativa na identificação de suas necessidades e na definição das correspondentes soluções”. A ação de promoção do meio ambiente deve passar a ser descentralizada, considerando o caráter interdisciplinar, a necessidade da participação da sociedade, a prevenção e a biodiversidade,

entre outras. O movimento ambiental se faz, portanto, de dentro para fora, mas considerando ainda todas as variáveis e o fato de que saúde e qualidade ambiental estão vinculadas de forma indissolúvel. Os riscos ambientais locais são reflexos, em parte, de processos de deterioração do planeta. A visão estratégica deve, portanto, ser integrativa e holística (OPAS, 1999).

3.1. Definições:

Segundo o Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, 2002), define-se:

➤ Um interferente endócrino, ou desregulador endócrino, é uma substância ou mistura exógena que altera a função do sistema endócrino e consequentemente causa efeitos adversos em um organismo intacto, ou em seus descendentes, ou (sub) populações.

➤ Um potencial interferente endócrino é uma substância ou mistura exógena que possui propriedades as quais se pode esperar causem interferência endócrina em um organismo intacto, ou em seus descendentes, ou (sub) populações.

Os IE englobam uma grande variedade de classes de substâncias químicas, que incluem os hormônios naturais e sintéticos, fitoestrógenos, pesticidas, compostos utilizados na indústria, subprodutos de processos, etc. Alguns são persistentes enquanto outros são rapidamente degradados no meio ambiente.

3.2. Paradigma “Receptor-Mediador” ou teoria da “Chave-Fechadura”

Um IE é um composto capaz de alterar a regulação hormonal de um organismo vivo, de forma direta ou indireta. A ação biológica dos hormônios, tais como a progesterona, os estrógenos, os andrógenos, as tiroxinas e alguns neuroesteróides, ocorre através de uma afinidade destas substâncias com os receptores das proteínas de células específicas do organismo vivo. Esta seria, portanto, a porta de entrada de IE para um contato com o organismo vivo (IPCS, 2002; WARING e HARRIS, 2005).

Os sistemas endócrino e nervoso são os dois maiores modos de comunicação que coordenam e controlam as funções do corpo. Em contraste com o sistema nervoso que conduz impulsos elétricos ao longo de precisos circuitos nervosos e celulares, o sistema endócrino se comunica de um modo mais difuso, transportando informações através da circulação de um tecido para outro através de mensageiros químicos ou hormônios. O sistema endócrino participa em praticamente todas as mais importantes funções de um organismo, como a diferenciação sexual antes do nascimento, a maturidade sexual durante a puberdade, a reprodução na idade adulta, o crescimento, o metabolismo, a digestão, a função cardiovascular e a excreção. Os hormônios estão também implicados na etiologia de certos cânceres de tecido hormônio-dependentes, como o de seio, de útero e de próstata. A secreção hormonal das gônadas (testículos ou ovários) e os efeitos por estes produzidos são os pivôs de todas as fases da função de reprodução, chamadas de: diferenciação sexual antes do nascimento, maturação sexual durante a puberdade e função reprodutiva durante a idade adulta. Enquanto o gênero de cada indivíduo é geneticamente determinado, o

desenvolvimento apropriado do sistema reprodutivo (macho ou fêmea) *in utero* requer ativação das gônadas. Nos mamíferos a diferenciação sexual é governada pelos testículos e a secreção de hormônios masculinos, andrógenos, no tempo apropriado durante o desenvolvimento embrionário. Se a secreção andrógena não ocorrer *in utero*, a diferenciação para órgãos reprodutivos femininos é favorecida. Isto ocorre no embrião feminino que desenvolve testículos ou em um embrião masculino cuja ativação ou função dos testículos é de algum modo atrofiado. Na puberdade os testículos e os ovários são ativados para a maturidade sexual e secretam os hormônios sexuais requeridos (andrógenos ou estrógenos), além de produzir os gametas apropriados (óvulos ou espermatozóides). A secreção de hormônios sexuais na puberdade é responsável pelas manifestações de maturidade sexual (músculos e distribuição de pêlos, desenvolvimento dos seios, maturidade da genitália, capacidade de se reproduzir) e o crescimento (JOHNSON e EVERITT, 1980 citado por WITORSCH, 2002). No adulto, a secreção de hormônios pelas gônadas mantém o direcionamento sexual e a capacidade de reprodução dos órgãos, assim como o ciclo menstrual e a capacidade da fêmea de engravidar (BRANN et. al, 1995; HERBERT et. al, 1995; LEAVITT et. al, 1995 citado por WITORSCH, 2002).

A reprodução envolve não somente as gônadas, mas também as funções endócrinas no cérebro e nas glândulas pituitárias, as quais, por sua vez, controlam a formação do corpo. Além disso, a reprodução é regulada pelo complexo hormonal mediante relacionamentos do tipo “*feedback loops*”, entre os vários órgãos do sistema. Por exemplo, o ovário envia sinais de resposta à glândula pituitária e ao cérebro através de estrógenos, dependendo do estágio do ciclo menstrual, e este sinal pode ser inibitório (negativo) ou estimulante (positivo) (BRANN et. al., 1995; HERBERT et. al., 1995; LEAVITT et. al., 1995 citado por WITORSCH, 2002). Outro processo importante é a recepção hormonal, que implica em qual tipo de tecido (o útero nas mulheres, por exemplo) identificará e

responderá a um determinado hormônio quando várias substâncias estiverem circulando no sangue. Uma célula reconhece o hormônio através de receptores, proteínas que podem interagir com o hormônio em uma estrutura específica, como a chave (hormônio) é aceita por uma fechadura (receptor). Dependendo do tipo de hormônio envolvido, o receptor pode encontrar-se na superfície de um tecido ou entre as camadas da célula (KALIMI e DAVE, 1995 citado por WITORSCH, 2002; IPCS 2002). Seguindo esta teoria de interação entre hormônios e receptores, uma variedade de reações bioquímicas ocorre na célula, em geral conhecidas como sinalização intracelular, levando a uma resposta biológica característica (WITORSCH, 2002).

Existem inúmeros mecanismos pelos quais IE podem, teoricamente, modular o sistema endócrino e potencialmente causar efeitos adversos. O paradigma geralmente aceito para as respostas pelo receptor-mediador inclui a ligação do hormônio ao seu receptor na superfície da célula, citoplasma ou núcleo, seguido por uma série complexa de eventos que levam a mudança na expressão genética característica para um hormônio específico. Acredita-se que esta mudança represente um primeiro, mas crítico passo, na regulação das funções biológicas normais, incluindo a proliferação das células e diferenciações nas respostas essenciais para o desenvolvimento normal e a função de múltiplos sistemas de órgãos. Os IE podem vir a agir através da inibição da síntese de hormônio, transporte, ou metabolismo, ativação do receptor através de processadores ou liberação de complexos celulares necessários para a ação hormonal, entre outras. Embora exista considerável informação acerca do princípio dos eventos moleculares envolvendo a resposta hormonal, muito pouco se conhece ainda no que diz respeito à relação entre estes eventos moleculares e efeitos adversos na saúde, como câncer ou toxicidade reprodutiva. Este desconhecimento é provavelmente o maior fator limitante na atual capacidade de avaliar as relações entre dose-resposta, particularmente

quanto à exposição a baixas concentrações destas substâncias. (IPCS, 2002; FISHER, 2004).

A chamada “promiscuidade” do receptor de estrógeno (ER), ou o motivo pelo qual o ER é tão receptivo a um vasto número de produtos químicos pode ser avaliada pela Figura 1. Uma explicação para este fenômeno requer um prévio entendimento de como o estradiol se liga ao seu receptor e das similaridades químicas existentes entre este esteróide e um não esteróide ligante. A molécula do estradiol possui um núcleo esteróide com um grupo hidroxila em cada extremidade, uma ligada ao anel “A” (3-OH) e outra ao anel “D” (17-OH) – o número refere-se à posição no núcleo do esteróide. Os dois grupos hidroxilas, assim como o núcleo do esteróide, são importantes para a ligação do estradiol com o receptor ER. O ponto inicial de contato entre as moléculas é o 3-OH que interage de forma precisa. Este ponto inicial de contato reconhece um anel fenólico livre e um OH se liga a um anel hexagonal insaturado. A partir daí ocorrem diversas outras interações entre o núcleo do esteróide e o 17-OH. A força de ligação entre o ER e outras substâncias muitas vezes não é tão forte quanto com o estradiol. Mesmo aquelas que não possuem total similaridade com a molécula de estradiol podem reagir parcialmente com o ER (WITORSCH, 2002).

A afinidade entre o receptor celular e o esteróide é tão grande quase quanto comparado a dissolução de uma colher de açúcar em um volume de água de uma piscina (WARING e HARRIS, 2005).

Uma molécula qualquer que se liga a um ER pode tanto ter efeito estrogênico (agonístico²) ou anti-estrogênico. Isto vai depender da substância e do tecido envolvido. O estradiol, por exemplo, atua de diversas e diferentes maneiras dependendo de sua posição. Quando o estradiol ou outro ligante encontra uma

² **Agonista** – uma substância que, quando combinada ao receptor, produz o efeito medicamentoso ou o efeito desejado

célula em potencial a qual se unir, este se difunde através da célula e liga-se ao ER no esquema “chave e fechadura”. Após esta conexão ligante-ER, este complexo une-se ao genoma entrando no núcleo de uma sequência do Ácido Desoxirribonucleico (ADN) específica. Isto envolve ainda reações entre proteínas (ou co-regulações) na formação deste complexo. As proteínas co-reguladoras têm um efeito estimulante ou inibidor na síntese enzimática de um Ácido Ribonucleico (ARN) mensageiro, utilizando uma cadeia de ADN como molde (transcrição), o processo pelo qual o genoma inicia a resposta biológica da célula. A transcrição envolve a síntese do ADN e ARN, a qual, por sua vez, lida com a síntese de proteínas e respostas biológicas (NADAL *et. al.*, 2001 citado por WITORSCH, 2002).

Outra ação dos IE se daria através da inibição ou indução da enzima aromatase, através do receptor de estrógeno ou por mecanismos diferentes deste, e de alterações da atividade desta enzima, direta ou indiretamente. A enzima aromatase é dependente do citocromo P450 (CYP19) e promove a conversão de andrógenos a estrógenos. A produção de aromatase ocorre em vários locais, como por exemplo, no tecido mamário, o que faz com que a concentração local de estrógenos seja mais elevada do que os níveis séricos. Além da utilização médica de fármacos que induzem à inibição da aromatase e são parcialmente excretados no meio ambiente, alguns xenobióticos comprovadamente atuam da mesma forma, principalmente quando em misturas sinérgicas (EERTMANS *et al.*, 2003; BENACHOUR *et al.*, 2007; DAMIANI e DAMIANI, 2007).

Vários compostos químicos não exercem a influência (anti-) estrogênica ou (anti-) androgênica ou não demonstram a propriedade de interação com o receptor celular, mas podem interferir em enzimas envolvidas na esteroidogênese ou metabolismo de hormônios (EERTMANS *et. al.*, 2003; WARING e HARRIS, 2005; WHITEHEAD e RICE, 2006). Podemos citar como exemplo o metal pesado

chumbo (MOREIRA e MOREIRA, 2004) ou os ftalatos, que causam efeitos adversos através da inibição da produção de testosterona a partir do colesterol, ocasionando males congênitos como hipospadia e criptorquidismo, entre outros. O Ftalato ocasiona uma inibição temporária, e estudos indicam que os níveis de produção de testosterona voltariam ao normal caso o contato contínuo cessasse. Seus efeitos mais adversos ocorrem no momento da formação do feto no útero materno, o que torna importante o momento da exposição caso o indivíduo afetado esteja no meio de uma etapa sensível de desenvolvimento (FISHER, 2004; WARING e HARRIS, 2005).

O cérebro seria um dos órgãos mais vulneráveis à ação dos IEs, durante o período de desenvolvimento prenatal e perinatal, quando alguns processos se encontram em plena atividade, tais como a proliferação dos neurônios, a migração, a sinaptogênese e a mielinização, os quais são determinantes para o funcionamento do cérebro durante toda a vida. O desenvolvimento do sistema nervoso dá-se com direta influência dos esteróides presentes na corrente sanguínea, o que determina uma óbvia dependência das características do cérebro com o desenvolvimento do sistema endócrino. O desenvolvimento do cérebro feminino se dá na ausência de estrógenos, enquanto que nos ratos machos, a testosterona secretada no período fetal é convertida através da aromatase, interferindo no desenvolvimento do cérebro masculino. Estes processos diferentes resultam em diferenças fisiológicas, cognitivas e mnêmônicas, características de cada sexo. Nos mamíferos a exposição prenatal aos IE ocorreria através de uma transferência pela placenta, e no período pós-natal, se daria através do aleitamento. Nos não-mamíferos vertebrados, esta contaminação se daria através da gema do ovo. Estas substâncias chegariam até o embrião através de substâncias lipofílicas, capazes de transportá-las através do organismo (CALAMANDREI et al., 2006; DARRAS, 2008).

Figura 1 – Configuração química das moléculas de alguns hormônios naturais e substâncias sintéticas com possível ação no sistema endócrino.

Extraído de: nenhum autor específico.

A alteração comportamental também é relatada na literatura científica através de testes de exposição de ratos a IE. O comportamento sexual, as

características de agressividade inerentes ao sexo e o comportamento materno em ratos tem apresentado alterações quando estes animais são expostos a IE em determinados períodos de desenvolvimento (CALAMANDREI et al, 2006).

3.3. Relação dose-resposta

Por meio da relação dose-resposta é possível quantificar os efeitos de uma determinada substância em um organismo, permitindo o estabelecimento de um nexos causal, o qual se dá através de uma exposição tal que ocasione efeitos sobre o organismo, a partir de uma concentração e intervalo de tempo suficiente e conhecido. As rotas de exposição podem afetar a cinética de absorção, distribuição, biotransformação e excreção dos contaminantes e, dessa forma, influenciar nos efeitos constatados. A concentração detectada de uma substância no meio ambiente não é exatamente aquela à qual o organismo estaria exposto. Para sua determinação faz-se necessário conhecer a dose biologicamente ativa, na quantidade capaz de atingir as células, sítios e membranas onde ocorrerá a reação relacionada com a presença e efeitos da substância analisada (COSTA et al, 2008).

Dados os vários tipos de Interferentes Endócrinos (IE) existentes e suas diversas características, pode-se inferir que os possíveis meios de exposição a estas substâncias são múltiplos, tais como a exposição dérmica, através dos tecidos respiratórios e/ou por ingestão (exposição oral), com absorção pelo trato gastrointestinal, além da exposição no útero, através do fluído amniótico.

O desconhecimento da relação dose-resposta para os IE é de fato um dos grandes entraves na definição de limites ou análises de risco que se façam necessárias, tornando estas análises praticamente impossíveis de serem realizadas. Outros fatores que ampliam a incerteza quanto à relação dose-resposta dizem respeito à heterogeneidade da população quanto à predisposição genética, idade, gênero, dieta, entre outros. Outro fator preponderante a ser considerado é quanto à mistura destas substâncias no meio ambiente, dadas sua ampla disseminação e as várias fontes existentes. As interações entre estas substâncias podem ocasionar efeitos sinérgicos, aditivos e antagônicos. A ecotoxicidade observa quatro tipos de interações possíveis: uma mistura que afeta a mesma função fisiológica; uma interação química entre as substâncias presentes na mistura, afetando o efeito de uma das substâncias; a absorção, o metabolismo, a distribuição ou a excreção em que uma substância sofre alteração provocada pelas demais presentes na mistura e a competição entre as substâncias pelo mesmo tecido receptor. Estudos de laboratório já evidenciaram que existe um efeito sinérgico quando há ocorrência de mais de um IE em um mesmo ambiente, e o efeito produzido pelos mesmos pode ser superior aos efeitos individuais. No entanto, pouco ainda se conhece acerca dos mecanismos de sinergia (ARNOLD et. al, 1996, citado por WITORSCH, 2002; Latini et al apud WARING e HARRIS, 2005; REIS, ARAÚJO e VIEIRA, 2006; COSTA et al, 2008).

As misturas, possíveis de ocorrer no meio ambiente devido às diversas fontes existentes de interferentes endócrinos, podem resultar em interações de seus constituintes, cujos efeitos podem ser classificados como: aditivos, sinérgicos e antagônicos. O efeito aditivo ocorre quando o impacto deletério da mistura é igual à soma das toxicidades individuais de seus componentes. Quando o efeito deletério da mistura é maior que a soma dos efeitos dos seus constituintes, chama-se a este efeito de sinérgico. No efeito antagônico o

impacto deletério da mistura é menor do que a soma dos efeitos associados aos seus constituintes. Estas ocorrências dependerão dos modos de interação entre os constituintes da mistura e o sítio alvo no organismo (órgão que será atacado) (Panouillères et al. e Ince et al. apud COSTA et al., 2008).

Conforme James et al. apud COSTA et al., 2008: “quatro tipos de interações são possíveis: os constituintes da mistura afetam a mesma função fisiológica; uma interação química entre os constituintes da mistura afeta a toxicidade de um dos químicos; a absorção, o metabolismo, a distribuição ou a excreção de um constituinte sofre alteração provocada pelos demais constituintes da mistura e, há uma competição entre os constituintes da mistura pelo mesmo tecido receptor” (p.1827).

Em um trabalho considerando baixas doses de xenobióticos, em concentrações individualmente incapazes de causar grandes danos foi observado que a combinação destes compostos demonstrou ação sinérgica capaz de potencializar os efeitos individuais a níveis impressionantes, os quais foram observados em testes *in vitro*, após poucos minutos de exposição. Também foi constatada a ação do tempo de exposição, que pode ser crucial no aparecimento de efeitos não observados quando o tempo de exposição é curto (BENACHOUR et al, 2007). O mesmo foi constatado por LV et al. (2007) em testes com a mistura de 17 β -estradiol (E2) e bisfenol A, quanto à estrogenicidade em um menor tempo de exposição e concentrações necessárias quando na exposição à mistura comparativamente à exposição aos componentes individuais.

Embora o estabelecimento de umnexo causal entre os IE e o organismo vivo seja ainda considerado um grande desafio, sua determinação é essencial para que diretrizes coerentes sejam lançadas para a tratativa destas

substâncias, principalmente dentro do modelo de imposição de limites de concentração máximas presentes em determinado meio (EDEN, 2007).

3.4. Potenciais efeitos dos Interferentes Endócrinos no meio ambiente e na saúde humana

Na verdade, a hipótese da interferência endócrina em seres humanos e na vida animal não é nova em si. O dietilestilbestrol foi concebido em 1938 como um medicamento para evitar o aborto espontâneo na mulher e estimular o crescimento dos bovinos. Nas décadas de 70 e 80, foi demonstrado que este medicamento causava problemas graves nos sistema reprodutivo masculino e feminino, incluindo anomalias congênitas e câncer. Trata-se do primeiro caso documentado de que uma substância química administrada como fármaco, quando administrada à mãe pode causar câncer vaginal nas filhas (CARSON, 1962; COM, 1999; MCLACHLAN et al., 2006).

Um alerta feito ao mundo quanto ao perigo potencial inerente aos produtos químicos e seus riscos à saúde humana, animal e vegetal ocorreu em 1962, pela cientista Rachel Carson, através do seu livro *Silent Spring* (CARSON, 1962). O livro contém uma série de relatos e comprovações sobre os efeitos de pesticidas e outras substâncias sobre a vida humana e animal, substâncias estas que passaram a ser amplamente utilizadas principalmente a partir da década de 20. Carson teve o grande mérito de chamar a atenção do mundo científico sobre o fato de que a saúde humana está intrinsecamente ligada à saúde do meio ambiente. No entanto, as limitações científicas da época impediram grandes avanços sobre o assunto. As últimas duas décadas têm

testemunhado uma preocupação crescente da comunidade científica com relação ao assunto, com avanços na matéria propiciados pelo incremento da tecnologia e a capacidade de realização de testes para as ínfimas concentrações em que estas substâncias geralmente são encontradas.

Em dezembro de 1996 foi organizado um seminário europeu em Weybridge dedicado ao estudo do impacto dos IE sobre a saúde do homem e dos animais (COM, 1999). Neste seminário, participaram mais de setenta cientistas e responsáveis políticos da Europa, dos Estados Unidos (EUA) e Japão, de organizações como a Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), Organização Mundial da Saúde (OMS) e a Fundação Européia da Ciência e do Conselho Europeu das Federações da Indústria Química, além de Organizações Não Governamentais (ONGs), os quais concluíram que:

- Existem provas suficientes de que as taxas de câncer no testículo estão aumentando, e parece ser genuína a aparente queda de espermatozóides em indivíduos do sexo masculino;
- Observaram-se casos na Europa em que os efeitos endócrinos adversos, ou de toxicidade na reprodução em aves e mamíferos coincidem com níveis elevados de substâncias que revelaram propriedades de interferência endócrina em alguns sistemas submetidos a ensaio;
- O nível considerável de incerteza e de falta de dados deverá diminuir com a investigação e a vigilância da exposição e dos efeitos nos animais e no homem, mas até lá, adotando o “Princípio de Precaução”, deverão ser previstas medidas para reduzir a exposição aos IE.

Em 1997, na reunião da câmara ambiental dos líderes do G8, foi encorajada uma coordenação internacional visando adotar ações específicas

relacionadas aos IE, com base em estudos científicos e constatações dos efeitos destas substâncias em organismos vivos (COM, 1999).

A Segunda Sessão (fevereiro de 1997) do *Intergovernmental Forum on Chemical Safety* fez algumas recomendações para os Membros das Organizações da *Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals* (IOMC), do *International Programme on Chemical Safety* (IPCS) e a *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD), relativas a estratégias e meios de coordenar ou dar suporte aos esforços para direcionar as discussões internacionais, incluindo o desenvolvimento de um inventário internacional de pesquisas e coordenação de testes e estratégias de avaliação dos IE. Tudo isso havia sido já apoiado anteriormente em um *workshop* internacional em Smithsonian (janeiro 1997), e pela *Declaration of the Environmental Leaders of the Eight on Children's Environmental Health* de 1997, com uma recomendação específica para a discussão com relação aos IE. Os líderes ambientais encorajaram contínuos esforços para compilar um inventário internacional de atividades de pesquisa, desenvolver uma avaliação internacional do estado da arte, identificar e priorizar pesquisas e dados necessários, e desenvolver um mecanismo para coordenação e cooperação no preenchimento das pesquisas necessárias. A 50ª Assembléia Mundial de Saúde adotou a resolução da *World Health Organization* (WHO), a qual convoca o Diretor-Geral desta instituição a “tomar as medidas necessárias para reforçar o comando da WHO em empreender avaliações de risco assim como uma base capaz de atacar com prioridade máxima os problemas assim que estes emergirem, e na promoção e coordenação relativas às pesquisas (...) do potencial dos efeitos endócrino-relacionados na saúde humana ocasionados por produtos químicos” (IPCS, 2002).

Em resposta a estas recomendações, o IPCS assumiu a responsabilidade pelo desenvolvimento da avaliação global do corrente estado da arte relativo à interferência endócrina. Paralelamente, o IPCS apoiou o desenvolvimento de um Inventário Global das Pesquisas de IE, a qual serve como uma ferramenta para promover esforços de pesquisas complementares e identificar apoio e fragilidades nos esforços de pesquisas a nível mundial (IPCS, 2002).

Em 1999 o *Scientific Committee for Toxicity, Ecotoxicity and the Environment* (SCTEE), emitiu um parecer no qual, após análise da literatura e dos pareceres científicos existentes sobre as provas de IE de origem química, conclui que, com relação à saúde humana, “há associações entre as substâncias químicas causadoras de interferência endócrina estudadas até agora e alterações da saúde humana”, como o câncer de testículo, da mama e da próstata, a queda de taxa de produção de espermatozóides, deformidades dos órgãos reprodutivos, disfunção da tireóide e comprometimento da inteligência e do sistema neurológico. Contudo, nunca foi verificada uma relação causal, e as evidências são derivadas de estudos em animais (IPCS, 2002). Entre os efeitos observados nos animais, o Comitê conclui que“(…) existem fortes provas obtidas em estudos laboratoriais que mostram o potencial de várias substâncias químicas ambientais para causar interferência endócrina a níveis reais de exposição ambiental” e “embora a maior parte dos efeitos observados atualmente e notificados digam respeito a áreas altamente poluídas, existe um potencial problema global.” (CCTEA citado por COM, 1999).

Na literatura científica atual e de algumas décadas atrás é possível verificar evidências de relação causal entre alterações da reprodução e do desenvolvimento de várias espécies animais com a exposição destes a IE, chegando a ser registradas alterações de número de populações em determinados locais, conforme apresentado de forma sucinta a seguir:

➤ Efeitos adversos ao sistema endócrino de espécies expostas ao tributil-estanho. Declínio ou extinção de populações locais em todo o mundo, em especial nas zonas costeiras da Europa e Mar do Norte (COM, 1999; MARTIN-SKILTON et al., 2006);

➤ Efeitos androgênicos ocasionados por produtos químicos (ARAKI et al, 2005);

➤ Diminuição da espessura da casca do ovo das aves e alteração reprodutiva e grave declínio da população de várias espécies de aves de rapina, na Europa e América do Norte, causados pelo DDE. Aparecimento de características hermafroditas em machos da gaivota ocidental, expostas ao DDT fase de desenvolvimento (COM, 1999; BEARD, 2006).

➤ Na Inglaterra, efeitos nos órgãos reprodutores de peixes, sobretudo em locais próximos a efluentes de ETEs, em águas doces, estuários e zonas costeiras, causados por estrógenos (IPCS, 2002);

➤ A foca cinzenta e anelada do Mar Báltico e a foca comum do Mar de Wadden tiveram a reprodução e o sistema imunológico alterado, declínio da população e mortalidade em massa devido a infecções por morbillivirus, por exposição a PCB (COM, 2003);

➤ Crocodilos tiveram o desenvolvimento e os órgãos sexuais alterados, na Flórida, EUA, devido a um despejo de pesticidas, em especial DDT (COM, 2002);

➤ Feminilização de peixes devido a presença de IE na água (CHRISTIANSEN et. al, 2002; SOLÉ et al., 2003; SOLÉ et. al, 2003a; SOLÉ et. al, 2003b);

➤ Estudos feitos em laboratório com animais expostos a diversas substâncias consideradas IEs têm demonstrado malformações congênitas, diminuição da fertilidade, alterações na espermatogênese, entre outras disfunções (ZOU e FINGERMAN, 1997; TAKEMURA e KIM, 2001; HSU, GUO e LI, 2004; MCALLISTER e KIME, 2003; DENSLOW et al., 2004; LEE

et al., 2004; LIND et al., 2004; NEWBOLD et. al 2004; SCHOLZ et. al, 2004; STOKESA et. al, 2004; VAN DEN BELT et. al, 2004; MA et. al, 2005; MARANGHI et al., 2007);

➤ Diminuição no número de espermatozóides em homens, diminuição do número de meninos nascidos em relação a meninas, dentre outras. (PETRELLI e MANTOVANI, 2002; RITTLER e CASTILLA, 2002; TOPPARI et. al, 2002; BIANCA et. al, 2003; EERTMANS et. al, 2003; VIRTANEN et al., 2005).

Cabe ressaltar que a incerteza quanto às relações de causa e efeito de interferentes endócrinos na saúde de seres humanos a partir da exposição ao meio ambiente é bem grande, a não ser por alguns eventos isolados, como a contaminação com bifenilas policloradas (PCB) e o caso já citado anteriormente, de dietilestilbestrol (COM, 1999; IPCS, 2002). Os PCB são substâncias químicas industriais lipofílicas que já foram detectas no leite materno ou tecidos humanos, podendo ter ação estrogênica ou androgênica. RAISIER et al. (2006) apresenta em sua revisão sobre o assunto diferentes estudos com diferentes resultados quanto ao efeito dos PCB no desenvolvimento de adolescentes, os quais indicam desde nenhum efeito expressivo até possível atraso no desenvolvimento puerperal em meninos e antecipação da puberdade em meninas.

Alguns levantamentos evidenciam o decréscimo no número de espermatozóides e aumento da infertilidade masculina nas últimas décadas em alguns países (CARLSEN et. al, 1992; VIRTANEN et al. 2005). No entanto, outros trabalhos mais recentes, que comparam dados de vários países e as observações de variação ao longo de um determinado período indicam que tal fato não vem realmente ocorrendo (SAFE, 2004). Com relação à reprodução e a fertilidade, há que se considerar como variável de influência o decréscimo no

número de nascimentos observados em vários países as mudanças culturais e sócio-econômicas dos dias atuais. O estudo realizado por COMHAIRE et al. (2007) na cidade de Flanders, Bélgica, demonstra que, não obstante seja possível verificar alterações na qualidade do sêmen comparativamente a estudos anteriores realizados, dados estes que foram inclusive correlacionados com a alta poluição da região (presença de dioxina), estas alterações seriam reversíveis mediante a diminuição das fontes de poluição. No entanto, os autores chamam a atenção para a alteração ao longo do tempo das técnicas de análise realizadas, o que pode levar a impossibilidade de comparação dos dados atuais com os dados históricos. Esta incerteza, cuja dimensão e influência nos resultados e conclusões finais são de difícil determinação, deve ser considerada.

Segundo estudo de Hosie et al. apud VIRTANEN et al. (2005), amostras do tecido adiposo de alguns meninos acometidos por criptorquidismo (testículos fora do lugar) apresentavam altas concentrações de Heptacloro epóxido e Hexaclorobenzeno, comparado a amostras de controle. A exposição a quantidades significativas de poluentes industriais e agrícolas pode ser suficiente para causar alterações como a hipopadia. Já um levantamento realizado para pacientes moradores do Estado de Nova Iorque, EUA, não conseguiu detectar alterações nas taxas de ocorrência de criptorquidismo, ao longo dos últimos 19 anos (CAPELLO et al., 2006). Nesses estudos é necessário considerar também as influências genéticas que podem influenciar na etiologia deste tipo de anormalidade, além das possíveis causas externas e ambientais (BIANCA et al., 2003).

A quantificação da exposição a contaminantes ambientais, tais como os IE, durante períodos críticos de desenvolvimento, principalmente no útero, ainda é bastante inexplorada. FOSTER et al. (2002) testaram a hipótese de que estas

substâncias podem ser detectadas e quantificadas no segundo trimestre de gravidez, no fluido amniótico humano. O teste indicou presença do metabólito DDT em aproximadamente 25% das amostras, demonstrando, entre outras coisas, que o feto humano está susceptível a exposição e potenciais impactos associados aos IE.

Crustáceos presentes no Lago Maggiore, Itália, que foram contaminados com altíssimas concentrações de DDT dissolvidas na água apresentaram degeneração do sistema reprodutivo (BINELLI et al, 2004).

Segundo BEARD (2006), entre os trabalhos científicos realizados, poucos conseguiram isolar o composto DDT de outras substâncias e determinar seu real impacto na saúde humana. Conforme o autor, não obstante os estudos realizados até o momento demonstrarem um grande potencial de efeitos adversos causados pela exposição ao DDT, existe pouca consistência nos resultados até então obtidos. E apesar de atribuir-se vários males a esta substância, apenas um estudo realizado por Cocco et al. apud BEARD (2006), sobre câncer de mama, teria sido obtido em uma situação de rigoroso apuro científico, com isolamento adequado do DDT, e a conclusão de que o mesmo não estaria associado às causas investigadas. O DDT e seus isômeros, assim como outros inseticidas (metoxicloro, p,p'-DDE por exemplo) são persistentes no meio ambiente e bioacumulativos na cadeia alimentar. Foram detectadas altas concentrações de p,p'-DDE e DDT em adolescentes com puberdade precoce, com indicações de que o contato com a substância teria ocorrido através de exposição transplacentar e através da amamentação (Krstevska-Konstantinova et al., Vasiliu et al., Gladen et al. apud RAISER et al., 2006).

BOO et al. (2003) estudaram a presença de diversos IE no leite materno humano, assim como a possibilidade de remoção através de membranas,

experiência esta que apresentou resultados satisfatórios para algumas substâncias, tais como DDT, hexaclorociclohexano, PCB, e dibenzo-p-dioxina, (Jensen, Jensen e Slorach, 1991; Gladen et al., 1999; e Tsuyumoto, 2000 apud BOO et al., 2003).

GREGORASZCZUK (2002) apresentou um estudo realizado com porcos onde a presença de Dioxinas influenciou diretamente na produção de estradiol, podendo impactar a ovulação destes animais. Além disso, houve declínio na produção de progesterona no *corpus luteum*, o que pode ocasionar o aborto.

O bisfenol A é um difenilalcano altamente disseminado no meio ambiente dado o seu amplo espectro de usos, que vai desde próteses dentárias (resinas) até poliésteres e poliacrilamidas. Concentrações variando entre 0,016 µg/L a 0,5 µg/L vem sendo detectadas nos corpos d'água da Europa e Estados Unidos, respectivamente (Kolpin et al. apud MANDICH, 2007). Em mamíferos, constata-se que esta substância é capaz de causar a redução da esteroidogênese (Akingbemi apud MANDICH, 2007). No entanto, em alguns Difenil alcanos observa-se efeito contrário, do tipo anti-estrogênico (LETCHER et al, 2005).

Alguns trabalhos têm como foco principal a detecção destas substâncias nos tecidos de espécies aquáticas, marinhas ou de água doce, quanto a sua capacidade bioacumulativa e o impacto na cadeia alimentar. Além disso, os níveis de alguns xenobióticos nos mares e oceanos em alguns países são extremamente altos, sendo que para vários destes países a principal fonte alimentar é retirada dos recursos hídricos. Resta claro que a capacidade de acumular Interferentes Endócrinos na cadeia alimentar dependerá das espécies analisadas, já que algumas claramente são capazes de metabolizar determinados tipos de IE (CORREA-REYES et al., 2007). No entanto, o risco de biomagnificação e de estas substâncias atingirem os organismos superiores

dentro da cadeia alimentar deve ser considerado quanto aos efeitos deletérios entre as espécies (FERRARA et al., 2005; FOSSI et al., 2007).

O impacto de efluentes de ETE em corpos d'água tem sido amplamente estudado, principalmente quanto a alterações na biota aquática e distúrbios endocrinológicos. Contrariamente a vários trabalhos que apontam para a tendência da feminilização dos peixes presentes em locais próximos a descargas de ETEs, REMPEL et al. (2006) detectaram uma maior quantidade de peixes machos na maior parte do tempo de monitoramento realizado no distrito de Orange County, Califórnia. O estudo foi realizado entre os anos de 1998 a 2005, e em 11 dos 16 anos ocorreu o registro de um número maior de peixes machos em comparação ao número de fêmeas. A concentração de Vitelogenina (Vtg) no plasma do sangue destes peixes machos se encontrava muito próxima ao limite de detecção. Foi constatada uma correlação entre as concentrações de E2 e danos detectados no ADN do esperma dos peixes coletados próximos ao efluente da ETE. Ressalte-se que a presença desta substância não se correlacionou diretamente com a detecção de estrogenicidade obtida através dos testes *in vivo*. Resultados negativos para efeitos estrogênicos em peixes capturados próximos a ETE com tratamento convencional têm sido reportados na literatura científica, demonstrando que alguns processos de tratamento podem ter sucesso na remoção de IE ou o afluente pode não conter IE a ser biodisponibilizados no meio ambiente (CARBALLO et al., 2005; BROOKS et al., 2003).

É importante salientar que, em perspectiva, muitos outros agentes que vêm sendo classificados IE são muito menos potentes que o Dietilstilbestrol e estão em geral presentes em menores níveis no meio ambiente (DASTON et. al, 2003). Outras substâncias, como remédios para determinados males e drogas ilícitas também possuem efeitos similares aos provocados por IE

(PASQUALOTTO et al., 2004), e devem ser levantados o seu uso quando nos estudos realizados, para que os dados sejam cruzados. Alguns flavonóides que ocorrem naturalmente em alimentos são duas vezes ou mais potentes do que os alquifenóis (Kirk et al, apud WARING e HARRIS, 2005).

Alguns exemplos são apresentados na Tabela 1, a seguir, onde a concentração de determinadas substâncias são comparadas entre si a partir do potencial equivalente de estrogenicidade apresentado.

Tabela 1. Comparação entre alguns compostos sintéticos e naturais e os tipos de exposição diária dos seres humanos.

Estrógenos/antiestrógenos	Estrógenos/antiestrógenos equivalentes (µg/dia)
Contraceptivo oral	16.675
Terapia pós menopausa	3.350
Flavonóides em alimentos (1 g/dia)	102
Genesteína e genistin (15,6 mg) em 100 g de tofu	16
Zearalenona, consumo médio diário da base alimentar canadense (3,5-7,0 µg)	0,1-0,7
Inseticidas organoclorados	0,0000025

Fonte: Adaptado de NILSSON (2004).

O que se questiona, portanto, é como a exposição a estes poluentes, detectados em concentrações ínfimas, alguns apresentando fraca atividade estrogênica podem ser responsáveis por disseminar efeitos deletérios no meio ambiente e na saúde pública. Existe uma considerável análise e reanálise retrospectiva dos dados das tendências seculares de acometimento de câncer e defeitos congênitos que podem ter uma etiologia hormonal. No entanto existem outras teorias tão plausíveis quanto à dos efeitos dos IE no meio ambiente, e que podem explicar o aumento da constatação no número de determinados

problemas de saúde, como por exemplo, a melhora na vigilância médica e mudanças das práticas médicas, o que permitiu que se chegasse ao número de observações de câncer atuais (DASTON et. al, 2003; GREIM, 2004).

Um indivíduo, para que seja acometido de uma doença, deve ter um histórico que se correlacione ao paradigma de saúde pública e ambiental. Uma série de fatores ou eventos deve estar presente para que se um impacto na saúde de um indivíduo, exposto a um determinado poluente ambiental: 1) o poluente deve estar disponível a partir de uma determinada fonte, (2) deve alcançar o organismo vivo através de um meio ou mais (ar, água ou solo, por exemplo), (3) adentrar o corpo humano (via inalação, ingestão ou outros meios), e (4) estar disponível em dose suficiente para que cause uma alteração biológica e resulte em um efeito adverso. Este paradigma apresenta-se de forma linear, enquanto um processo real é muito mais complexo e multifatorial. Segundo este relatório, a contaminação ambiental é raramente a principal ou única causa de um fator adverso na saúde de um organismo vivo, sendo determinante o tipo de dieta, o consumo de álcool ou substâncias que debilizem a imunidade, fatores genéticos, doenças pré-existentes, entre outros. Um estudo epidemiológico deve ser conduzido para que a relação entre contaminante e efeito seja possível de ser determinada (USEPA, 2008).

A relação dose-resposta, conforme já foi exposto anteriormente quanto a sua importância, não está adequadamente determinada.

É preciso tomar grande cuidado ao tentar transportar os efeitos observados em animais para os seres humanos. Não é possível, por exemplo, tentar correlacionar o efeito causado por IEs *in utero* de ratos e extrapolar os resultados para seres humanos, dadas as diferenças marcantes entre ambas as espécies (WITORSCH, 2002). HARDELL et. al (2004), não conseguiram

nenhuma associação significativa em seu estudo sobre possíveis riscos de câncer endométrico ser causado por interferentes endócrinos ambientais. REYNOLDS et. al (2004) não conseguiram correlacionar a incidência de câncer de seio com o uso de pesticidas agrícolas em uma região da Califórnia onde o uso destes produtos é bastante elevado. Outros trabalhos tentando correlacionar alterações na saúde humana com IE também não chegaram a resultados conclusivos (ANDOLZ et. al, 1999; BIANCA et. al, 2003; DALVIE et. al, 2004) e vários autores colocam em dúvida e até rejeitam a hipótese de que substâncias sintéticas ou hormônios ambientais estejam realmente causando impactos à saúde humana, a partir da revisão bibliográfica da literatura científica que demonstra que os sugeridos impactos e ação dos IEs não vem efetivamente ocorrendo (GREIM, 2004; SAFE, 2004). Mais recentemente, em um relatório da *Endocrine Disrupter Research* (EDEN, 2007), conclui-se pela impossibilidade de associar a exposição a um IE a efeitos deletérios na saúde, mas que estes efeitos seriam associados a uma gama de várias destas substâncias, em condições que permitissem interações e possíveis impactos negativos na saúde pública e ambiental.

Finalmente, algumas variáveis devem a ser consideradas quando no estudo dos potenciais impactos dos IE nos organismos vivos, em estudo ecotoxicológicos, tais como:

- ❖ **O tempo de exposição** do organismo a uma ou mais destas substâncias, e seus efeitos sinérgicos;
- ❖ **O estágio ou fase do ciclo de vida** em que ocorreu esta exposição;
- ❖ A concentração ou **nível de exposição**.

Estas variáveis estão previstas na “Cadeia de causalidade” utilizada nos estudos de ecotoxilogia (Figura 2), as quais resultarão em informações sobre o

grau de periculosidade estimada para determinados poluentes e seus metabólitos em organismos vivos, tornando possível determinar os níveis máximos permitidos ou padrões de qualidade ambiental. Esta fase antecede a seguinte, que é a de permitir a elaboração de diagnósticos e prognósticos sobre o efeito de poluentes e seus efeitos como contaminantes no meio ambiente, medidas paliativas e soluções a serem adotadas assim como os efeitos destas medidas, controles de emissões e riscos ecológicos (De Kruijf apud COSTA et al., 2008).

Figura 2: Seqüência de etapas compreendidas pela ecotoxicologia e denominada cadeia de causalidade, adaptada para os interferentes endócrinos.

Fonte: Adaptado de COSTA et al. (2008)

Conforme a WHO apud STOPELLI (2005) “ao se lidar com doses pequenas de exposição, o papel de fatores na causa da morbidade pode ser

contribuinte e não determinante” e a maioria das doenças ambientais é multifatorial, e envolve mais de um fator ou determinante, onde o meio pode ou não exercer influência no surgimento de uma doença.

Apesar das dúvidas existentes quanto aos efeitos na saúde humana, é de consenso entre a comunidade científica que, diante das evidências e dos efeitos observados em animais, faz-se necessário que esforços sejam concentrados na busca de uma resposta quanto aos riscos para o homem (HARRISON et. al, 1997; PETRELLI e MANTOVANI, 2002; MENDES, 2002; DASTON et. al, 2003; MCLACHLAN et al., 2006).

3.5. Características e propriedades dos Interferentes Endócrinos quanto a sua disseminação no meio ambiente e suas fontes de poluição

Os IE englobam uma variedade de classes químicas, incluindo hormônios naturais e sintéticos, constituintes de plantas, pesticidas, compostos usados na indústria de plásticos e em produtos de consumo, outros subprodutos industriais e poluentes, amplamente inseridos no cotidiano da sociedade moderna (IPCS, 2002; NOGUEIRA, 2003).

Um entendimento fundamental que se deve ter é quanto ao comportamento destas substâncias no meio ambiente, as quais estão diretamente relacionadas às suas propriedades físico-químicas. No entanto, dada a grande variedade de substâncias e a gama de propriedades, através da literatura científica consultada é

possível afirmar que as mesmas podem ser encontradas em praticamente todos os meios, tais como: dissolvida em corpos d'água, inclusive subterrâneos, dada a alta solubilidade de alguns IE e seu alto coeficiente de adsorção; na cadeia alimentar, dada a capacidade observada de biomagnificação em, por exemplo, peixes, crustáceos, ou mesmo presentes naturalmente em frutas e vegetais; adsorvidos no solo; presentes no ar, a partir da poluição atmosférica, na forma de gases e aerossóis (IPCS, 2002; GHISELLI e JARDIM, 2007).

Outra observação necessária para compreensão de como se dá a presença dos interferentes endócrinos no meio ambiente através de suas fontes é que, embora possam ser disponibilizadas de forma “**intencional**”, como por exemplo, através da aplicação de herbicidas para controle de pragas, várias destas substâncias têm a forma de entrada no meio ambiente de maneira “**não intencional**”, a qual pode ocorrer dentro do ciclo de vida química de determinados tipos de processos de fabricação, uso e disposição final de produtos ou substâncias. Os subprodutos são uma importante fonte destas substâncias: a formação de PAH em processos de desinfecção da água é um exemplo. (IPCS, 2002; CARGOUËT et al., 2007).

A ação de duas ou mais substâncias as quais podem agir de várias maneiras em uma mistura é de difícil compreensão, gerando uma presumível inexatidão para a determinação da relação causa e efeito. A presença de um contaminante na corrente sanguínea ou nos tecidos de um organismo não implica na sua direta relação com um efeito deletério na saúde. Isto porque, para uma relação causal entre contaminante, sua fonte e o efeito danoso à saúde fazem-se necessárias outras informações ou outros fatores a serem considerados. Um exemplo é a detecção de chumbo no sangue de crianças, cujas rotas de exposição podem ter sido a ingestão de comida ou água contaminada, inalação de ar poluído, ou o contato com solo ou resíduos

contaminados (USEPA, 2008). A presença de vários IEs nos tecidos de peixes e humanos amostrados foi constatada em um estudo encomendado pela Comissão Européia. O estudo conclui que a presença de um efeito adverso na saúde não pode ser associada a apenas uma substância, embora existam evidências que a exposição a vários IEs possam levar a um efeito acumulativo e impactos negativos na saúde (EDEN, 2007).

Quanto ao universo de substâncias sobre as quais pesam a característica de serem Interferentes Endócrinas, atualmente não existem informações que permitam elaborar uma lista com respectivas doses ou padrões ambientais limites. O que existem são evidências, mas uma lacuna do conhecimento que precisa ser preenchida diz respeito à relação dose-resposta, ainda indeterminada (CSTEE, 2003). Esta condição é facilmente explicável, já que o meio ambiente é um sistema dinâmico, cujos organismos estão adaptados a todas as variações naturais e, nos dias atuais, vêm se adaptando às ações antrópicas. As interações entre os sistemas tornam a elaboração de modelos de uma simulação uma tarefa extremamente difícil. Uma forma de tornar mais prático a avaliação ambiental foi dividir o meio ambiente em vários sistemas, os quais podem se subdividir infinitamente. A Figura 3 apresenta uma descrição conceitual dos eventos ambientais, e suas interações. As setas indicam situações de estresse que afetam o equilíbrio do sistema, sendo representados pelos círculos como atributos ecológicos essenciais. Estes atributos também interagem entre si, afetando uns aos outros (USEPA, 2008).

A Comunidade Européia, através dos resultados de um dos estudos encomendados sobre o tema reconhece a dificuldade em associar efeitos deletérios ao sistema endócrino a uma única substância, sendo necessário o estabelecimento de políticas públicas que considerem em primeiro lugar, o uso

de ferramentas de análise de risco com estratégias integradas, considerando todas as possíveis fontes (EDEN, 2007).

Figura 3: Modelo demonstrativo das interações entre os atributos ecológicos.

Extraído de: USEPA, 2008 (adaptado).

Neste sentido, verifica-se uma iniciativa anterior da Comunidade Europeia na tratativa da poluição ambiental, com foco estratégico, visando a uma análise

integrada do meio ambiente, considerando as interações entre as diversas fontes de poluição. A Diretiva 2001/42/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 27 de junho de 2001³ visa à aplicação de análises de risco e impactos ambientais de forma integrada, reconhecendo que estes impactos e a poluição podem ter ação transfronteiriça. Esta norma exige a aplicação de requisitos processuais comuns, com transparência na troca de informações visando sempre à proteção do meio ambiente. Desta forma, reconhece-se a necessidade de avaliação abrangente do meio ambiente, com foco nas diversas fontes e suas interações, e busca-se por uma ação integrativa, prevencionista e precaucionista, tais como medidas visando prevenir, reduzir e se possível eliminar efeitos adversos oriundos da aplicação dos planos ou programas de empreendimentos previstos. O processo inclui a obtenção de uma série de informações que considerem as zonas ambientais susceptíveis de serem afetadas pela poluição provocada pelos futuros empreendimentos, o estado atual do meio ambiente e a sua provável evolução a partir da aplicação ou não dos planos ou programas. Outro ponto interessante são as características necessárias a serem levantadas quando da análise de risco ambiental, tais como:

- ❖ A probabilidade, a duração, a frequência e a reversibilidade dos efeitos;
- ❖ A natureza cumulativa dos efeitos;
- ❖ A natureza transfronteiriça dos efeitos;
- ❖ Os riscos para a saúde humana ou para o ambiente (por exemplo, devido a acidentes);
- ❖ A dimensão e extensão espacial dos efeitos (área geográfica e dimensão da população susceptível de ser afetada);

³Jornal Oficial das Comunidades Europeias. Diretiva 2001/42/CE; 2001 [acesso em 20 mai 2009]. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2001:197:0030:0037:PT:PDF>

- ❖ O valor e vulnerabilidade da área susceptível de ser afetada devido às características naturais específicas ou ao património cultural;
- ❖ A ultrapassagem das normas ou valores-limite em matéria de qualidade ambiental;
- ❖ A utilização intensiva do solo, os efeitos sobre as áreas ou paisagens com estatuto protegido a nível nacional, comunitário ou internacional.

A Diretiva 2001/42/CE trouxe a necessidade de criação de Avaliações Ambientais Estratégicas (AAE), ao reconhecer a necessidade de que a atuação preventiva no meio ambiente deve incluir a preocupação com as questões ambientais já no planeamento de qualquer projeto, plano ou programa. Desta forma, caso seja constatada a necessidade, permitirá a contribuição para elaboração de políticas, planos e programas mais sustentáveis, definição de estratégias específicas, linhas de ação, medidas, critérios para seleção de projetos e a operação dos programas, tendo a componente ambiental como filosofia geral (UNL, 2006).

O “Relatório de Factores Críticos” (UNL, 2006) traz a visão atual da União Europeia e o reconhecimento de que “os objetivos económicos, sociais e ambientais podem reforçar-se mutuamente devendo, portanto, avançar em conjunto. Estas estratégias destinam-se a apoiar as necessárias transformações estruturais que permitam às economias dos Estados-Membros suportar os desafios da globalização, criando condições de igualdade em que o dinamismo, a inovação e o espírito empreendedor criativo possam florescer garantindo simultaneamente a justiça social e um ambiente saudável. (p.11)”

No Brasil, verifica-se uma iniciativa neste sentido no Relatório de Impacto Ambiental (RIMA) do Programa Rodoanel Mário Covas, para a Região Metropolitana de São Paulo (RMSP), o qual foi elaborado em atendimento ao disposto na Resolução SMA nº 44/97, e foi contratado pela DERSA (Desenvolvimento Rodoviário S.A.). O RIMA apresenta estudos de viabilidade ambiental do Rodoanel considerando todas as regiões pela qual este passará, no caso, vários municípios da RMSP, o que se daria em prazo de 15 anos. Em linhas gerais, trata-se de uma auto-estrada com acesso restrito, que contornará a RMSP e terá uma extensão de 170 km, interligando os grandes corredores de acesso à metrópole. Sua função principal é melhorar o trânsito no centro da RMSP⁴. O trabalho realizado visou a identificação dos impactos negativos potenciais e a proposição de alternativas de minimização destes impactos, assim como a de potencialização dos impactos positivos do projeto. Uma componente importante deste estudo foi a implantação de indicadores, que visassem a futuras medições quanto as alterações observadas e medidas de mudanças e controles para atender a metas estabelecidas. Aos impactos negativos que ainda restarem após todas as alternativas serem esgotadas para sua eliminação resta ao empreendedor propor ao Órgão Ambiental uma compensação ambiental (FESPSP, 2004).

3.5.1. Interferentes Endócrinos, potenciais fontes e rotas de exposição

Em 2000 o *Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment* (CSTEE) estabeleceu uma lista prioritária de substâncias com

⁴ <http://www.dersa.com.br/rodoanel/especial/>

potencial capacidade de interferir no sistema endócrino. 553 substâncias foram inicialmente elencadas, das quais 118 foram apresentaram evidências ou potencial de interferência endócrina. Destas, nove não eram nem ao menos citadas em legislações europeias quanto a qualquer restrição de uso. Dadas as lacunas de conhecimento existentes à época quanto aos mecanismos de ação destas substâncias, relação dose-resposta, persistência no meio ambiente, entre outras, requisitou-se a elaboração de dois relatórios. O primeiro estudou doze substâncias, nove sintéticas, dois hormônios naturais e um sintético; e outro relatório para 435 substâncias, para obtenção de dados quanto ao volume de produção, situação legal e persistência, visando decidir ações prioritárias sobre os mesmos. Após a elaboração destes estudos, o relatório da CSTE (2003) avalia que para uma das substâncias sintéticas (2,4 diclorofenol) e os três hormônios (estrone, estradiol e etinilestradiol) alguns dados estavam errados e os testes realizados foram limitados, em especial para os testes *in vitro*. Nota-se, portanto, que existe um número razoável de substâncias sob suspeita de apresentarem efeitos deletérios no sistema endócrino.

Alguns exemplos dos Interferentes Endócrinos e suas possíveis fontes são apresentados na listagem a seguir (NOGUEIRA, 2003; CABALLO et al., 2005; MARANGHI et al., 2007):

- ❖ **Ftalatos:** usados na fabricação de plásticos e outros polímeros;
- ❖ **Fenóis:** surfactantes usados como detergentes e componentes constituintes de resinas;
- ❖ **Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos:** provenientes de fontes naturais como erupções vulcânicas, incêndios, etc. e de fontes antropogênicas como da queima de combustíveis fósseis e incineração de resíduos;

- ❖ **Bifenilas policloradas (PCBs) e dioxinas:** grupo de compostos que genericamente estão associados e têm origem em diversos processos industriais ou resultam como subprodutos da co-incineração;
- ❖ **Pesticidas e biocidas:** incluem-se diversos tipos de compostos muito utilizados especialmente na agricultura: organoclorados, organofosforados, propionamidas, triazinícos e organometálicos;
- ❖ **Produtos naturais (fitoestrógenos):** com ocorrência em diversos tipos de plantas, como por exemplo, a soja;
- ❖ **Hormônios sintéticos (fármacos):** componentes constituintes da pílula anticoncepcional (exemplo etinilestradiol) que são excretados na urina numa forma conjugada e inativa.

A seguir são apresentadas as possíveis fontes destas substâncias no meio ambiente.

3.5.1.1. Fontes pontuais e difusas

Alguns trabalhos têm evidenciado a presença de IE em efluentes de fábricas de óleo e sua presença no meio ambiente, sendo detectados mesmo a alguns quilômetros de distância do ponto de lançamento. Estes efluentes contêm uma mistura de óleos dissolvidos e outros componentes, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAH), ácidos orgânicos, alquilfenóis e fenóis. A maior atividade de estrogenicidade foi detectada na água da refinaria do processo, de 10 a 30 vezes mais alta do que a detectada em efluentes municipais. O efluente da

refinaria que passou por um processo de tratamento biológico apresentou uma redução de cerca de 30% da estrogenicidade total (Utvik apud TOLLEFSEN et al, 2006; Thomas et al apud TOLLEFSEN et al, 2006; TOLLEFSEN et al, 2006).

Fábricas de papel e polpa historicamente utilizam o elemento cloro para o processo de branqueamento, e cientificamente vem sendo comprovado que o efluente destes processos tem inibido a reprodução de peixes, dado seu potencial efeito androgênico. Fitoestrógenos e resinas ácidas podem ser detectadas nestes processos. DENSLOW et al. (2004) expuseram peixes machos e fêmeas a estes efluentes, em meios com diluições variando entre zero até 80% durante 7, 28 e 58 dias, em um teste dinâmico. Outro grupo de controle foi mantido em água mineral. As concentrações de Vtg detectadas no plasma sanguíneo dos peixes demonstraram uma ação inibitória da produção desta proteína em ambos os gêneros. No entanto, naqueles expostos por mais tempo às maiores concentração do efluente o efeito deletério no sistema endócrino foi mais pronunciado. Os mesmos resultados não foram obtidos por BANDELJ et al. (2006), no que diz respeito à constatação de androgenicidade e masculinização de peixes fêmeas para este tipo de efluente, o que poderia ser um indicativo já esperado de que os efeitos variam também em função da espécie analisada.

As ETE's são uma possível fonte de IE para o meio ambiente, descarregando-os diretamente nos corpos d'água superficiais caso o processo não seja eficiente para sua remoção. Os processos de tratamentos chamados convencionais não foram desenvolvidos para remover alguns elementos traços, e sim para a estabilização dos esgotos, clarificação, desinfecção e remoção de nutrientes em geral (OLIVEIRA e VON SPERLING, 2005a). Observa-se que no Brasil e no mundo uma boa parte dos procesos de tratamento de esgoto se dá por lodos ativados, o qual, quando bem operado, pode apresentar uma significativa capacidade de remoção para vários IE (HEMMING et. al, 2004; TESKE e

ARNOLD, 2008). Os efeitos de efluentes de ETE doméstico são em geral associados à presença de estrogenicidade, principalmente devido à ação de estrógenos. No entanto, LEUSCH et al. (2006) detectaram a presença de androgenicidade em várias das 15 ETE's avaliadas, na Austrália. Apenas uma apresentou potencial de estrogenicidade.

DORABAWILLA e GUPTA (2005) realizaram testes para detecção de 17β -estradiol em amostras coletadas em vários pontos de rios, pontos estes localizados a montante e a jusante dos lançamentos de efluentes de ETE's (cerca de 1 km de distância), além de alguns açudes e de algumas amostras coletadas na baía, no estado de Maryland, EUA. As concentrações variaram entre $1,9 \pm 0,4$ até $2,0 \pm 0,9$ ng/L nos pontos a montante da ETE, e entre $2,3 \pm 0,1$ a $6,0 \pm 0,6$ ng/L nos pontos a jusante da ETE. Nos açudes, as concentrações variaram entre $1,7 \pm 0,9$ a $7,6 \pm 2,1$ ng/L. Nos pontos de entrada das ETE's as concentrações variaram entre $18,9 \pm 2,7$ a $71,2 \pm 1,5$ ng/L, e entre $6,5 \pm 0,3$ a $53,1 \pm 1,7$ ng/L. Estas concentrações foram consideradas altas pelos autores para as amostras dos rios, já que segundo os mesmos 1 ng/L de E2 seria o suficiente para induzir estrogenicidade em organismos aquáticos. É importante considerar que os pontos de açude encontravam-se relativamente protegidos, sem influência de lançamentos de ETE's ou de cargas difusas provenientes da agricultura e, mesmo assim, apresentaram concentração de 1,7 a 2,3 ng/L de E2.

A influência da carga difusa foi estudada por SHORE et al. (2004), a partir da avaliação da variação das concentrações de hormônios na água de alguns rios de Israel. As prováveis fontes seriam de origem humana e animal, provenientes de descargas de esgotos domésticos e pastos. As concentrações observadas na primeira campanha variaram muito em função das primeiras chuvas e arrastes, ocasionando picos ao longo do tempo, com valores máximos de 6 ng/L de testorena e estrógeno, chegando até níveis não detectáveis,

inferiores a 0,3 ng/L. Interessante ainda é que o estudo foi conduzido ao longo de dois anos, e demonstrou que estas concentrações não se reproduziram de um ano para outro, já que a incidência das chuvas apresentou-se diferente no ano seguinte, demonstrando a correlação existente entre o impacto das cargas difusas à disponibilidade do poluente no solo e a distribuição das descargas pluviométricas.

3.5.1.2. Dieta alimentar

Não obstante as diversas funcionalidades da embalagem plástica, tais como conter, preservar e proteger os alimentos, direcionadas pelas demandas da sociedade moderna, verifica-se também que uma necessidade a ser atendida seria quanto a não contaminação dos alimentos pelo próprio material que compõe a embalagem. A contaminação de um alimento por compostos presentes na embalagem plástica se dá por migração, através da interação do alimento com estes compostos. Esta possibilidade é preocupante e é alvo de regulações específicas relacionadas com a saúde pública, através de restrições de uso de determinadas substâncias para acondicionamento de alimentos (FREIRE et al., 2008). No entanto, desconhece-se a aplicação destas leis com vistas a problemática dos IE. A possibilidade de contaminação por ftalatos em alimentos acondicionados em embalagens plásticas tem sido reportada em alguns estudos científicos (Karakaya et al. e McNeal et al. apud JEN e LIU, 2006; RAISIER et al., 2006). Em um estudo conduzido por JEN e LIU (2006), os mesmos detectaram a presença de Ftalatos em sopa aquecida e acondicionada em embalagens de polipropileno. Uma outra amostra de sopa foi acondicionada em um pote de cerâmica embrulhado com um filme de polivinildicloreto. Ambas as amostras foram

irradiadas por um aparelho de microondas de 500 W por 10 minutos. As concentrações detectadas de Ftalatos variaram de 14 a 32 µg/L.

O fungo *Fusarium* sp. seria um agente indireto causador de interferência endócrina por ser capaz de produzir uma micotoxina usualmente encontrada em cereais e grãos, a zearalenona, a qual possui atividade estrogênica. A ação deste fitoestrógeno dá-se-ia devido à alta similaridade estrutural de suas moléculas com a de andrógenos e estrógenos. O potencial de ação deste fitoestrógeno, comparado ao do E2, é de 0,001. O relato da presença da Zearalenona em rações animais e cereais consumido por seres humanos são constantes na literatura científica mundial, demonstrando um risco associado à dieta alimentar (FINK-GREMMELS e MALEKINEJAD, 2007).

Pouco se sabe ainda sobre a absorção, metabolismo e biodisponibilidade de vários fitoestrógenos. No entanto, sabe-se que não são bioacumulativos e são rapidamente excretados. Alguns circulam na forma conjugada e uma pequena parte na forma livre. As concentrações no sangue variam em média entre 100 nmol/L a 1 nmol/L, e em concentrações maiores em casos de dietas alimentares vegetarianas ou ricas em soja. Embora sua ação seja em geral relatada como benéfica à saúde, as lacunas de conhecimento ainda não permitem confirmar esta teoria. Vários estudos realizados não vêm obtendo resultados similares entre si, e na verdade, divergem quanto à verdadeira ação de alguns fitoestrógenos. É possível identificar trabalhos que confirmam, por exemplo, a fraca capacidade inibitória da isoflavona na aromatase. No entanto, a isoflavona genisteína seria capaz de provocar um aumento da enzima aromatase. No geral, com apenas raras exceções, os trabalhos científicos demonstram que os fitoestrógenos apresentam efeitos tóxicos em culturas celulares e em concentrações que variam de 50-100 µM (WHITEHEAD e RICE, 2006).

Os fitoestrógenos presentes na soja, por exemplo, chegam a ser mais potentes que o estradiol (McLANCHAN et al., 2006). No entanto, alguns estudos demonstram que os fitoestrógenos seriam menos potentes do que alguns xenoestrógenos em relação ao seu impacto na diferenciação sexual e no desenvolvimento de organismos (WHITEHEAD e RICE, 2006). Segundo Berkey et al. apud RAISER et al. (2006), existe pouca informação sobre os possíveis efeitos dos fitoestrógenos em seres humanos, já que os estudos existentes têm focado outros temas, tais como obesidade, por exemplo.

Outra possível fonte de IE seria a água potável distribuída pelas concessionárias de tratamento. Este tema foi tratado por GHISELLI (2006) em seus estudos realizados para a água potável tratada e distribuída no município de Campinas, São Paulo, além dos mananciais de superfície (rio e afluentes) da Bacia Hidrográfica do rio Atibaia. Foram realizadas quatro campanhas em rios, sendo que na maioria delas não foram detectados estrógenos. Nas campanhas em que foi possível detectar alguma presença de estrógenos, como nas amostras do Reservatório Atibaia e no ponto de captação do Rio Atibaia, as concentrações variaram conforme segue: estradiol entre 1,9 a 3,0 µg/L, etinilestradiol entre 1,2 a 1,7 µg/L e progesterona entre 1,2 a 1,4 µg/L, com exceção do Ribeirão Anhumas em que a concentração foi superior a 3,5 µg/L em uma das campanhas. O Bisfenol A variou entre $5,79 \pm 0,01$ µg/L até o limite de detecção, de 2,3 µg/L.

Ainda no trabalho realizado por GHISELLI (2006) na água potável da saída da ETA (tratamento convencional), e dentre os parâmetros analisados nenhum IE foi detectado, apenas substâncias químicas de produtos farmacêuticos. Já na água potável distribuída (em pontos da rede de distribuição) foram detectados dibutilftalato, dietilftalato, bisfenol A e alguns hormônios, no caso a progesterona, o estradiol e o etinilestradiol. A autora ainda

compara os valores detectados neste trabalho com os resultados para matrizes similares, disponíveis na literatura científica, através do que se constata que os resultados detectados em seu estudo foram muito altos e bastante atípicos. REIS (2008) avalia que estas concentrações atípicas estariam relacionados às características regionais, tais como o déficit em saneamento, a utilização de hormônios em tratamentos de reposição hormonal e o uso intensivo de anticoncepcionais. SODRÉ et al. (2007), em outro estudo realizado para a água potável de Campinas detectou a presença de bisfenol A, estrona e E2, sendo que os dois últimos foram detectados apenas no inverno.

Em estudo realizado por MONTAGNER (2007), para a Bacia Hidrográfica do Rio Atibaia, Região Metropolitana de Campinas, foram detectados os seguintes IE: Dibutilftalato (concentração média de 9.342 ng/L), Bisfenol A (concentrações variando entre 139 e 11.725 ng/L), E2 (106 e 6.806 ng/L), 17 α -etinilestradiol (337 a 4.390 ng/L), Progesterona (195 e 87 ng/L), Levonorgestrel (663 e 641 ng/L), 4-octilfenol (1.029 ng/L) e 4-nonilfenol (218 ng/L). As amostragens foram realizadas em época de estiagem e cheias, constatando o aumento da concentração de alguns poluentes nos períodos de estiagem. A autora compara os resultados obtidos a outros de outros países, e constata que os resultados obtidos para o E2 são bem superiores aos detectados até mesmo em efluentes de ETE dos EUA, Alemanha e outros países.

CARGOUËT et al. (2007), realizaram testes com peixes com águas superficiais utilizadas para abastecimento público e para a água potável de três ETA's de Paris. As amostras de água potável foram coletadas antes da cloração e após a ozonização. A água superficial e a água potável antes da desinfecção não apresentaram potencial estrogênico, conforme foi constatado através dos testes *in vivo* realizados. Devido ao potencial toxicidade do cloro para os peixes os autores utilizaram testes *in vitro* para avaliar os subprodutos da cloração,

cujos resultados estão compilados na Tabela 2. As citotoxicidades puderam ser observadas para alguns destes subprodutos da cloração, mas quanto a estrogenicidade, esta foi observada apenas para o 2-clorofenol, e em concentrações variando entre 1 a 100 mg/L, bastante elevadas e normalmente não encontradas em processos de tratamento de água.

Tabela 2: Citotoxicidade dos subprodutos de cloração no teste *in vitro*.

Subprodutos da cloração	Varição da concentração de teste (M)	Concentrações com citotoxicidade (M) ^a
Bromodiclorometano	$10^{-11} - 10^{-2}$	- ^b
Dibromoclorometano	$10^{-11} - 10^{-2}$	-
Bromofórmio	$10^{-11} - 10^{-2}$	-
Ácido dicloroacético	$10^{-11} - 10^{-4}$	-
Ácido tricloroacético	$10^{-11} - 10^{-2}$	-
Dicloroacetoneitrila	$10^{-11} - 10^{-2}$	10^{-4}
Tricloroacetoneitrila	$10^{-11} - 10^{-2}$	10^{-2}
Hidrato de cloral	$10^{-11} - 10^{-2}$	10^{-3}
2-clorofenol	$10^{-11} - 10^{-3}$	-
Diclorometano	$10^{-11} - 10^{-3}$	-

Fonte: CARGOUËT et al., 2007.

^a Primeira batelada de testes: concentração visando a indução de 100% de mortalidade celular.

^b Nenhuma das concentrações testadas são citotóxicas.

As dioxinas e furanos apresentam ações adversas à saúde e ao meio ambiente. Mais recentemente ações deletérias no sistema endócrino também foram associadas a este grupo de compostos. Sua ocorrência principal se dá como subproduto de processos envolvendo o cloro, tais como a fabricação de pesticidas, branqueamento de papel e celulose, incineração de resíduos, etc. As rotas são diversas, tais como a aérea, emissões atmosféricas e de chaminés, solo, produtos alimentícios, água, entre outros. No entanto, a ingestão de alimentos contaminados seria a principal rota de exposição, já que a dioxina é lipossolúvel e

bioacumulativa, podendo ser magnificada na cadeia alimentar. É possível encontrá-la na carne, no leite e em seus derivados. Estudos realizados no Brasil detectaram níveis de dioxinas e furanos na atmosfera em concentrações próximas aos encontrados em países desenvolvidos, o que causa apreensão (ASSUNÇÃO e PESQUERO, 1999).

A EPA disponibiliza em seu site uma série de informações a respeito do meio ambiente, e entre eles é possível encontrar dados sobre a presença de poluentes orgânicos no sangue, em pacientes com mais de doze anos⁵. Segundo esta agência, uma das maiores fontes de poluentes orgânicos persistentes são os alimentos, os quais são contaminados a partir do solo. É importante ressaltar que neste estudo foram notadas diferentes concentrações de DDT entre diferentes raças, no caso, descendentes de mexicanos e não hispânicos brancos e negros, cujas causas não são conhecidas. Os dados também são relativamente limitados, o que dificulta uma análise mais rigorosa.

3.5.1.3. Fármacos, produtos de higiene pessoal e tratamentos clínicos

Os fármacos são concebidos para atuar no nível bioquímico, afetando as funções fisiológicas dos sistemas biológicos em seres humanos e animais. Sua aplicação se dá de forma dosada, com prescrição médica que garanta eficiência e a eliminação da dose excedente, a qual se dá através da excreção pela urina e

⁵ USEPA. Report on the environment. Blood persistent organic pollutants level. [Acesso em 21 mai 2009]. Disponível em: <http://cfpub.epa.gov/eroe/index.cfm?fuseaction=detail.viewInd&showQues=Human%20Health&ch=50,49&IShowInd=0,405,381,208&subtop=208&lv=list.listByQues&r=188248>

fezes. Sua disseminação no meio ambiente se dá principalmente através do efluente de ETE ou por cargas difusas oriundas de áreas com manejo de animais (gado, piscicultura, entre outros). As plantas de ETE e ETA não foram projetadas para a remoção destas substâncias embora tal fato possa ocorrer, dependendo do tipo de substância em questão. Embora ocorram estudos quanto à farmacocinética e a farmacodinâmica destes produtos antes dos mesmos serem comercializados, em geral não são realizados testes ecotoxicológicos. Dentro de uma perspectiva ecotoxicológica, a concentração em que estes compostos ocorrem no meio ambiente, em geral ínfimas, não é o mais importante. A importância ocorre ao se considerar se estes apresentam alguma atividade biológica, o tempo de exposição e sua persistência no meio ambiente (JJEMBA, 2006; REIS FILHO, 2008).

Na forma bioativa podem ocasionar efeitos adversos no meio ambiente. Trabalhos específicos detectaram a presença de compostos relacionados com estas substâncias na Bacia do Rio Atibaia, no Estado de São Paulo. Hormônios sintéticos têm sido detectados em esgotos domésticos, efluentes de ETE e mananciais superficiais do mundo todo (BILA e DEZOTTI, 2003; SHORE et al, 2004; GHISELLI, 2006; SODRÉ et al, 2007; REIS, 2008).

SHINTANI (2001) comprovou a migração do Bisfenol A presente na composição de alguns tipos de materiais (policarbonato e polisulfona) de equipamentos de diálise, através da detecção desta substância no sangue de pacientes submetidos a este tratamento. Os materiais compostos por policarbonato apresentaram maior incidência de migração do Bisfenol A para o plasma sanguíneo. O trabalho demonstrou ainda que a migração acontece devido as características hidrofóbicas do Bisfenol A e pela presença natural de compostos hidrofóbicos no sangue, tais como os lipídios e as lipoproteínas. A quantidade que migrou para o sangue dos pacientes analisados (a mais alta foi de 0,7 ppb) é menor do que a preconizada pela legislação japonesa, país onde se

deu o estudo, para a ingestão diária deste composto (2,5 ppm/dia). No entanto, desconhece-se sua ação no sistema endócrino humano nesta concentração e sua capacidade de interação com outras substâncias eventualmente presentes no sangue.

A benzofenona, uma substância utilizada na fabricação de inseticidas e na agricultura também pode ser encontrada na formulação de cosméticos e produtos farmacêuticos, dada a sua propriedade de absorver raio ultravioleta. O uso de protetores solares garantiria um suprimento deste potencial IE para o meio ambiente de aproximadamente 100 a 1.000 ng/L (Oros et al. e Pojana et. al apud HAYASHI (2006). Sua utilização e contato com o ser humano pode ser na forma oral ou dermal, pois seu uso em fármacos envolve a fabricação desde os protetores solares já citados, cosméticos em geral, até anti-inflamatórios. Os subprodutos da Benzofenona, originados da degradação desta substância pelos raios solares ou por processos oxidativos, também apresentam capacidade de interferência endócrina. Faz-se mister transcrever *ipsis litteris* a conclusão dos autores deste estudo: *"It is ironic that a compound used for the skin protection from sunlight shows photo-induced adverse effect"* (p. 6). Os autores ainda chamam a atenção para a necessidade premente de uma visão sistêmica quando da análise do impacto dos IE e em processos que visem à sua degradação, já que os subprodutos de degradação também podem apresentar efeitos adversos ao sistema endócrino (HAYASHI et al., 2006).

O trabalho realizado por CANOSA et al. (2005) chama a atenção para os subprodutos a partir da reação de degradação do Triclosan na presença de concentrações a partir de 1 mg/L de cloro livre, dose esta normalmente encontrada na água potável encanada. O triclosan é um éter difenílico hidroxilado com propriedades bactericidas, utilizado na formulação de produtos de higiene

peçoal tais como sabonetes, desodorantes e pastas de dente, além de roupas esportivas e utensílios plásticos domésticos.

Os surfactantes, cuja fonte de exposição para o ser humano se dá principalmente através do uso de produtos de limpeza é um conhecido IE. O consumo anual destas substâncias chega a escalas consideráveis, da ordem de 3,4 milhões de toneladas. Possuem efeitos estrogênicos com impactos já constatados na ictiofauna, embora seu potencial de ação seja baixíssimo se comparado a alguns estrógenos. O tratamento de esgoto é capaz de remover entre 99,1% a 99,8%, o que é bastante interessante, pois a rota para disponibilidade para o meio ambiente se dá principalmente através dos esgotos domésticos (BRITTON, 1998).

3.5.1.4. Fontes atmosféricas

Outra matriz com relevante importância quanto à presença de IE é o ar. O relatório da CETESB (2008) sobre o material particulado inalável na atmosfera da Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) analisa um meio extremamente complexo, e constata a presença de poluição na forma de gases e aerossóis provenientes principalmente de emissões de veículos automotores e pelas indústrias. Soma-se a esta massa de poluição outras substâncias que podem ser formadas na atmosfera através de reações químicas, conforme pode ser observado na Tabela 3, a seguir.

Tabela 3: Características físicas e químicas da poluição atmosférica.

Tipo	Fina (< 2,5 µm)		Grossa (2,5 e 10 µm)
	Ultrafina (<0,1 µm)	Acumulação (0,1 e 2,5 µm)	
Origem	Combustão, processos sob temperaturas elevadas e reações atmosféricas		Quebra de sólidos grandes / Gotas.
Formação	Nucleação, condensação, coagulação	Condensação, coagulação, reação de gases no interior ou exterior das partículas, evaporação de gotas de névoa e nuvens contendo gases dissolvidos e reagidos.	Atrito mecânico (moagens, tratamento de superfície por abrasivos), sprays, suspensão de poeira, reação de gases no interior e exterior das partículas
Composição	Sulfatos, carbono elementar, compostos de metais, compostos orgânicos com baixa pressão de vapor de saturação.	Ions de sulfato, nitrato, amônio e hidrogênio, carbono elementar, grande variedade de compostos orgânicos. Compostos de Pb, Cd, V, Ni, Cu, Zn, Mn, Fe etc. Partículas com água.	Solo suspenso, poeira de rua, cinzas da combustão incompleta do carvão, óleo e madeira. NO ₂ / Cl / SO ₄ de reações de HNO ₃ / HCl / SO ₂ com partículas grossas. Óxidos de elementos da crosta terrestre. Sais de CaCO ₃ , CaSO ₄ , NaCl, sal marinho. Pólen, fungo, esporos, fragmentos de plantas e animais. Desgaste de pneus, pavimentos de estradas.
Fontes	Combustão atmosférica. Transformação de SO ₂ e orgânicos. Processos com temperaturas altas.	Combustão de combustíveis. Produtos de transformação atmosférica do NO _x , SO ₂ e orgânicos, incluindo espécies orgânicas biogênicas. Processos sob temperaturas altas, fundições, siderúrgicas, etc.	Ressuspensão de poeira de ruas e estradas. Suspensão de solo de atividades de mineração e agrícolas. Construção e demolição. Combustão de óleo e carvão não controlados. Aerossol marinho. Fontes biológicas.
Tempo de vida na atmosfera.	Minutos a horas.	Dias a semanas.	Minutos a horas.
Distâncias a serem percorridas no tempo de residência na atmosfera.	Menos que um a dezenas de km.	Centenas a milhares de km.	> 1 até dezenas de km (partículas menores da fração grossa) e centenas a milhares de km para as partículas em tempestades de areia.

Fonte: *Air Quality Criteria for Particulate Matter* (Wilson e Suh apud CETESB, 2008).

Conforme CASTANHO (2005) “a pluma de poluentes gerada nos grandes centros vem exercendo forte influência no impacto ambiental desde uma escala urbana local, regional e até global. Uma grande porcentagem de pessoas (...) está exposta a elevados níveis de concentração de poluentes, alguns dos quais são

tóxicos e mutagênicos” (p. 21). Entre os compostos presentes em partículas de aerossóis, a autora cita os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e alguns metais como arsênio, cromo, cádmio, chumbo e zinco (Somers apud CASTANHO, 2005).

Outro fator agravante característico da poluição atmosférica é que este material particulado pode permanecer por dias a semanas em suspensão na atmosfera, ocasionando o transporte de algumas substâncias a longas distâncias, através de correntes de ar. Este tipo de poluição é bastante influenciado pelas condições meteorológicas, apresenta características sazonais de comportamento, com maiores concentrações no inverno e menores no verão. Embora a poluição por material particulado esteja fortemente associada a males do trato respiratório, o fato de poderem atingir a corrente sanguínea constitui-se em um risco relativamente no caso da presença de IE (CASTANHO, 2005).

ROUVALIS et al. (2009) apresentaram um estudo para amostras de água de chuva colhidas em áreas rurais e urbanas da Grécia, nas quais foi detectada a presença de um pesticida, fosfamidon (principalmente nas amostras provenientes da área rural). Este pesticida foi detectado em 36% das amostras da área rural, e apenas em 13% das amostras da área urbana.

Comprovando a ação interferente no sistema endócrino, proveniente de emissões veiculares e material particulado, WANG et al. (2005) realizaram testes *in vitro* com amostras de ar particulado em Wuhan, China. Os resultados obtidos demonstraram atividade anti-estrogênica em todas as amostras.

3.5.1.5. Outras fontes

A presença de IE no lixo doméstico foi confirmada em um estudo conduzido por FROMME et al. (2005) em Berlim, Alemanha, para compostos organoestânicos, detectados em concentrações que não suscitaram uma possibilidade de impacto negativo nos seres humanos. Os autores citam outros estudos em que estas substâncias apresentaram-se em concentrações altas e preocupantes para a saúde pública. Os compostos organoestânicos são substâncias químicas amplamente disseminadas no meio ambiente, dado o seu uso em tintas anti-incrustantes, aplicações em cascos de navios, como pesticidas em lavouras, estabilizantes na fabricação de Cloreto de Polivinila (PVC) e como um catalisador industrial para poliuretano e silicones. São encontrados ainda em tintas, papéis, têxteis e alguns equipamentos elétricos.

Em relação ainda aos compostos organoestânicos, GODOI ET AL. et al. (2003) traz a problemática ambiental destas substâncias, com foco específico no seu uso como antiincrustante em cascos de navios e seus impactos em vários organismos, tais como algas e crustáceos, além da biota aquática local atingida quando no período de atracamento destas embarcações aos ancoradouros. Vários estudos comprovam os efeitos tóxicos destes compostos sob concentrações de poucos nanogramas por litro (Beaumont e Newman apud GODOI ET AL., 2003). São registradas ainda alterações tais como o pseudohermafroditismo em caramujos cuja frequência de ocorrência foi correlacionada aos níveis de Tributilestanho (Fent apud GODOI ET AL., 2003).

O trabalho científico de VILLA et al. (2006) chama a atenção para a presença de poluentes orgânicos persistentes (POP) presentes em cinco pontos

de rios glaciais localizados nos alpes italianos, confirmando a tendência destas substâncias em se condensarem em regiões de temperaturas mais baixas. Em geral, os POP são gerados em regiões mais quentes, a partir de onde condensam-se e acabam por se difundirem para outras regiões. O degelo propicia a poluição das regiões mais baixas, incluindo-se aí solos e outros corpos d'água. Esta seria mais uma fonte de poluição do solo e recursos hídricos por IE, atingidos nas épocas de degelo.

O cigarro é outra fonte de IE, dada sua composição que inclui centenas de aditivos químicos e seu potencial de formação de subprodutos com efeitos deletérios ao sistema endócrino. Um estudo realizado por BAND et al. (2002) observou que mulheres que começaram a fumar na fase adolescente apresentam maiores riscos de ter câncer de mama, devido a algumas substâncias existentes no cigarro, as quais causariam maiores danos em uma fase em que a mulher estaria mais susceptível aos efeitos da exposição a estas substâncias. Um cigarro contém de 1-2 μg de Cádmio, dos quais cerca de 10% podem ser inalados (CASTELLIA et al., 2005). Esses autores realizaram estudos onde demonstraram que pessoas fumantes apresentaram níveis de cádmio no sangue em concentrações duas vezes maiores do que os não fumantes, em geral. Os resultados para a presença deste metal e do chumbo não se correlacionaram com desordens do sistema endócrino apresentadas pelos pacientes, embora os autores concluam que esta hipótese não pode ser descartada e que estudos mais detalhados devem ser realizados.

Outro estudo realizado por NORDBERG et al. (2000), para uma população de Estocolmo, constatou as mesmas observações feitas por CASTELLIA et al. (2005): a presença de cádmio no sangue de pessoas fumantes (7,5 nmol/L) era muito maior do que nas pessoas que abandonaram o cigarro (4,4 nmol/L) e das que nunca fumaram (3,9 nmol/L).

Vários estudos vêm comprovando a atividade estrogênica de metais pesados e outros ânions, tais como o nitrato e o nitrito (DELGADO et al., 2000; PANESAR e CHAN, 2000; GORBEL et al., 2002; CALDERON et al., 2003; CHOE et al., 2003; FLAMENT et al., 2003; MOREIRA e MOREIRA, 2004; LAFUENTE et al., 2004; ZAKI et al., 2004). GAGNON et al (2007) realizaram estudos com trutas, em que evidenciaram a ação endócrina do cádmio e do zinco através de testes *in vivo* e *in vitro*. Estes metais atuam como inibidores da secreção de cortisol. O mecanismo de ação provavelmente seria o de competição com elementos essenciais, como o cálcio, por exemplo.

Os metais pesados afetariam o sistema endócrino atuando em pelo menos um dos processos existentes do eixo hipotálamo-pituitária-testicular, o que poderia levar ao comprometimento da quantidade total de andrógenos circulantes na corrente sanguínea, afetando vários processos bioquímicos importantes, com impactos no desenvolvimento, qualidade do sêmen, entre outros (CALDERÓN et al, 2003).

A presença de metais pesados em águas subterrâneas é uma das possíveis rotas de contato e exposição através do ser humano a potenciais IE, o que chama a atenção para a necessidade de avaliação de possíveis fontes no entorno destes recursos hídricos com vistas aos impactos também no sistema endócrino (AWOFOLU, 2006).

Um estudo realizado no Canadá observou o efeito da presença de metais no decaimento bioenergético (glicogênios e triglicéridos) em peixes, provavelmente ocasionada pelo lançamento de efluentes de duas indústrias mineradoras e uma ETE. Foi constatada uma série de alterações no sistema reprodutor com aumento do tamanho do fígado, atraso no desenvolvimento

testicular, histopatologia testicular, entre outros, nos peixes pescados após os lançamentos (a jusante). Peixes pescados a montante dos lançamentos não apresentaram bioacúmulo de metais. A existência de múltiplas fontes, inclusive difusas, causou dificuldades para relacionar diretamente estes resultados quanto aos efeitos *versus* as possíveis causas. Foram detectadas concentrações altas de cádmio e cobre nas águas amostradas, além de outros metais detectados nos tecidos dos peixes analisados. As fêmeas apresentaram maiores concentrações de metais do que os machos. No entanto, não foi detectado qualquer impacto negativo influenciando a capacidade de sobrevivência destes peixes. Outro resultado importante foi quanto às respostas diferentes ao meio ambiente observada entre as espécies de peixes analisadas (WEBER et al, 2008).

CORREIA (2008) realizou testes onde comprovou a atividade interferente no sistema endócrino de peixes teleosteos a partir da exposição ao metal Alumínio, em concentrações de 0,5 mg/L e em pH ácido. Estes resultados serão discutidos com mais detalhes no capítulo 3.8, quanto a significância em termos ambientais, para as características quanto ao tipo de solo brasileiro, e cruzando dados oriundos de relatórios da CETESB.

Finalmente, a Figura 4 representa de maneira esquemática as possíveis fontes de contaminação no meio ambiente, suas rotas e os efeitos mais observados conforme dados da literatura.

Figura 4 – Possíveis fontes, rotas de exposição e potenciais efeitos dos interferentes endócrinos nos organismos

Extraído de: IPCS, 2002(adaptado).

3.5.1.6. Pesquisas em andamento

A Agência Ambiental Americana (EPA), disponibiliza um inventário sobre estudos acerca dos IE, em andamento em vários países, oriundos de projetos associados ao GEDRI (*Global Endocrine Disruptor Research Inventory*).

O GEDRI⁶ foi criado em atendimento às recomendações do Fórum Intergovernamental de Segurança Química (IFCS) e à *Declaration of the Environment Leaders of the Eight on Children's Environmental Health*, de 1997. O IPCS é o responsável pelo projeto, seguindo também diretrizes da OECD. O GEDRI foi desenvolvido visando manter atualizado um inventário que inicialmente contava com dados provenientes apenas dos Estados Unidos, alguns do Canadá e da União Européia. Com a assunção da IPCS vem sendo estimulado que outros países submetam seus trabalhos à apreciação do comitê, para avaliação e posterior disponibilização no site. Na data do último acesso, em 17/02/09 contava-se com 778 projetos. Não foi encontrado nenhum projeto brasileiro.

Por exemplo, para os Alquilfenóis, existem 23 estudos/projetos em andamento, os quais visam analisar estas substâncias quanto seus potenciais efeitos carcinogênicos, neurotóxicos, danos ao sistema imunológico e reprodutor, além de outros focos. Ao buscar informações dos trabalhos relativos a esta substância, verificam-se estudos/projetos para análise dos efeitos carcinogênicos ocorrendo em diversos países ao mesmo tempo, tais como na Alemanha (*Identification, exposure assessment and characterization of risks by xenestrogens and other endocrin effective agents present in German freshwater and marine environments: Field and laboratory studies*), Espanha (*Etiologic Factors in Breast Cancer: Estrogenic Xenobiotics in fat tissue - A case control study*), Canadá (*Etiologic Factors in Breast Cancer: Estrogenic Xenobiotics in fat tissue (A case control study)*), Estados Unidos (*Molecular aproaches to toxicity by TMPP*), Itália (*Strategies for detection of enviromental endocrine disruptors in animals and in humans*), Líbia (*Effects of environmental endocrine disruptors in the tropical fish*,

⁶ USEPA. Disponível em: http://oaspub.epa.gov/gedri/pack_edri.All_Agends. Acesso em: 17 fev. 2009.

tilapia (Oreochromis mossambicus)), além de outros e os correntes através da Comissão Europeia (*Professional exposure (Greenhouse workers and sprayers) to pesticides*).

Um dos estudos de caso em andamento na Alemanha para xenoestrógenos e outros IE presentes na água doce e no ambiente marinho daquele país tem como objetivo a detecção por análises físico-químicas destas substâncias e associar sua presença a possíveis impactos, através de testes *in vivo* da variação de Vtg em peixes expostos ao meio ambiente contaminado, além de testes *in vitro*. O inventário traz os tipos de detecção realizados, as metodologias utilizadas, as espécies expostas, como se deu a contaminação e suas possíveis fontes, os efeitos no organismo e os agentes químicos associados, entre outros. Além disso, fornece os meios de contato com os responsáveis técnicos pelos projetos, permitindo a troca de informações, cruzamento de dados e a disseminação dos resultados.

3.6. Riscos e incertezas inerentes aos Interfentes Endócrinos

A avaliação e gerenciamento de riscos é um processo complexo, combinando ciências físicas, biológicas e sociais. Inicia-se com uma avaliação do risco, em termos quantitativos, e seu resultado é avaliado e comparado com padrões e diretrizes de risco pré-existentes. Constatada a presença de risco significativo deverão então ser definidas ações que o reduzam a níveis aceitáveis. A percepção do risco pode ser subjetiva, individual e coletiva, e deve ser considerada quando da avaliação. Medidas preventivas e de controle devem então ser tomadas, assim como o monitoramento do ambiente quanto àquele risco deve

ser realizado⁷. Em suma, a avaliação do risco e o seu gerenciamento são etapas distintas e igualmente importantes, sendo a primeira uma ferramenta para obter informações quanto ao potencial de perigo de uma substância no meio ambiente, por exemplo. Já o gerenciamento do risco visa encontrar maneiras de reduzir o risco, ou mesmo eliminá-lo (JJEMBA, 2006).

A partir dos conceitos expostos até este capítulo, é possível afirmar quanto à presença inequívoca de Interferentes Endócrinos (IE) no meio ambiente, disseminados de forma mais ou menos concentrada, dependendo da situação e do tipo de contato. Da mesma forma, sua ocorrência se dá em praticamente todas as matrizes ambientais, tornando a exposição humana ou animal constante e de forma heterogênea, além de sinérgica. Além disso, não se deve perder de vista que algumas destas substâncias, se não a grande maioria, possuem grande importância dentro da sociedade moderna, dados os seus usos, tais como os fármacos. E, em um primeiro momento, a importância quanto ao tipo de uso dado a cada uma dessas substâncias deve ser analisada quanto a possibilidade de ser, ainda, preponderante em relação aos potenciais efeitos no meio ambiente (JJEMBA, 2006).

O avanço da tecnologia, o advento e o uso intensivo de determinados produtos encontra-se entranhado no dia a dia da atual sociedade, o que torna difícil imaginar ações imediatas de minimização dos riscos relacionados aos IE. O desenvolvimento tecnológico varia em função do tempo e das demandas sociais, que são determinados conforme a necessidade, a preferência por esta ou aquela tecnologia, o que requer, nos dias atuais, um constante aperfeiçoamento por parte dos cientistas e dos fabricantes. Três variáveis: a tecnologia, o tempo e a sociedade geram, por fim, um gráfico tridimensional,

⁷ OPAS. [Acesso em 5 de Abr 2009]. Disponível em: <http://www.opas.org.br/ambiente/temas.cfm?id=49&area=Conceito>

onde as demandas sociais influenciam fortemente nas inovações tecnológicas ao longo do tempo (Figura 5).

SETZER (2007) faz uma revisão sobre o momento em que a humanidade se julga apta a dominar o mundo e subjugar a natureza, o qual se dá na época do Iluminismo, na segunda metade do século XVIII. O chamado progresso, gerado através do aprimoramento científico, da tecnologia e da produção em massa, tudo isso sob as diretrizes das teorias econômicas em evolução, deu-se ainda fundamentado em uma meta de diminuição do sofrimento humano e aumento do bem-estar.

É fato que pode ser comprovado através de indicadores sociais que a expectativa de vida na maioria dos países subiu e muito quando comparado com algumas décadas ou séculos atrás. A pergunta que se faz é: até onde estamos abertos a abrir mão de determinados benefícios tecnológicos em prol da nossa própria saúde, a do meio ambiente e das futuras gerações? E será que isso é (será) realmente necessário? Não se pretende aprofundar sobre o tema análise de risco em si ou mesmo sobre a incerteza. Para tanto existem outros trabalhos, inclusive citados aqui, que tiveram sucesso em defini-los. No entanto, será dada ênfase aos conceitos que importam para que seja lançada uma luz sobre as ferramentas que se fazem úteis e indispensáveis para qualquer tratativa que se deseje tomar em relação aos IE. Existiria um risco associado à presença de IE no meio ambiente, ou seria mais correto afirmar que existe uma incerteza?

Fig. 5 – A sustentação da inovação pode ser decomposto em múltiplas Curvas “S”.

Extraído de: LEWIS et al. (2001).

A CETESB tem atuação na área de gerenciamento de riscos, e a principal ferramenta utilizada ocorre através do licenciamento ambiental para empreendimentos, o qual é, em alguns casos, fundamentado por estudos de impactos ambientais devidamente validados por especialistas no assunto. A CETESB define em seu site⁸ o risco como uma combinação entre a frequência de ocorrência de um acidente e sua consequência, os quais devidamente combinados permitem a estimativa de um risco associado a um empreendimento, por exemplo. O risco pode ser definido, portanto, a partir de uma noção mínima quantitativa com fatos mensuráveis. O risco, numa definição corriqueira e amplamente aceita, trata da possibilidade de acontecimento de um evento.

A incerteza é algo duvidoso, incerto, não medido. Por ser incerto, é comumente associado ao risco. No entanto, a incerteza não tem dados quantitativos determinados. O risco ajusta-se à probabilidade, a incerteza ao

⁸ CETESB. [Acesso em 07 abr 2009]. Disponível em: www.cetesb.sp.gov.br

potencial de acontecimento. SETZER (2007) resume bem este conceito ao definir risco como quando não se sabe exatamente **o que** irá acontecer, mas sabe-se das chances **do que** pode acontecer. A incerteza é quando não se sabe nem mesmo o que pode acontecer. Na incerteza não se tem a informação necessária, ou se tem informações em grande número, mas que não são precisas ou coerentes entre si, e nem permitem atribuir probabilidades para os efeitos ou impactos eventualmente associados.

Em alguns casos a tomada de ações em uma situação de incerteza quanto aos impactos à saúde pública e ao meio ambiente resultam numa decisão política, o que se resumiria para muitos casos, na aplicação do Princípio da Precaução. No entanto esta decisão, quando política, pode se basear meramente em percepções do risco orientadas por avaliações da sociedade frente a constatações não comprovadas cientificamente (NILSSON, 2004; SETZER, 2007).

Para citar um exemplo, Sandman apud DUBNER e LEVITT (2005) cita que “um único caso do mal da vaca louca nos Estados Unidos provocou um ‘frenesi anticarne de boi’”. (...) “os riscos que assustam as pessoas e os riscos que causam suas mortes são muito diferentes” (p. 154). Ainda sobre os comentários deste autor, o mesmo compara o mal da vaca louca com a presença de patógenos presentes naturalmente em alimentos, para os quais se pode afirmar que são possíveis de serem encontrados em cozinhas industriais ou domésticas, dependendo do nível de higiene existente. O primeiro, o mal da vaca louca, seria visto pelos olhos da sociedade como uma ameaça de grandes proporções por estar fora do controle individual – não é totalmente possível ou relativamente simples atuar sobre esta ameaça e saná-la. Já na segunda situação, é possível aumentar as condições de higiene existente. Esta comparação é similar ao medo que a maioria das pessoas possui de andar de avião em relação a andar de carro, estando no primeiro caso o indivíduo afeto a fatores externos não controláveis e,

no segundo, o mesmo possui o comando do veículo e, de acordo com sua concepção bastante simplista, sobre os fatores que podem ameaçar sua vida.

A incerteza e a variabilidade existem em todas as avaliações de risco. A EPA, visando ter mais racionalidade em suas análises de risco, busca garantir que este não seja subestimado, utilizando para tanto de métodos que considerem a incerteza e a variabilidade quando na ausência de dados suficientes. Quando acontece de não existirem dados, ou de estes dados serem insuficientes para estimar parâmetros ou resolver paradigmas, a EPA assume um valor padrão, e dá continuidade à avaliação do risco. Estas assunções são baseadas em revisões bibliográficas sobre o assunto e extrapolações, sempre fundamentados em estudos científicos, observações empíricas e estudos publicados (USEPA, 2004).

O uso de substâncias que fazem parte da cultura atual está associado, em geral, a um processo evolutivo de criação de bens que visaram ao aumento do bem-estar da sociedade sem que necessariamente fossem considerados os seus potenciais danos. No entanto, como ponderar, por exemplo, a necessidade imediata de uso do DDT no combate a certos males tais como a malária *versus* o potencial dano à saúde humana e ao meio ambiente? Neste caso, temos riscos conhecidos e impactos estimados em curto prazo para a saúde humana (a malária, os quais são extremamente devastadores), e impactos potenciais (e incertos quanto à magnitude em uma determinada região, por exemplo) em longo prazo para a saúde humana e o meio ambiente.

NILSSON (2004) chama a atenção para os hábitos (maus hábitos no caso) alimentares, em particular a ingestão acima do recomendado de alimentos com gorduras saturadas, a insuficiente ingestão de frutas e vegetais e a presença de toxinas naturais nos alimentos como, por exemplo, alguns alcalóides tóxicos encontrados em tomates, e para as constatações de que o estilo de vida atual

correlaciona-se com alguns males tais como o câncer. O autor critica também a ausência de desenvolvimento de uma decisão estratégica e racional para o gerenciamento do risco, mais especificamente na Suécia, e chama de “quimiofobia” a real motivação pela qual vem sendo aplicado o Princípio da Precaução. Questiona a ausência de critérios que definam “quando” ou “como se dão” as razões para acreditar que determinado composto é perigoso para o meio ambiente já que não existe uma metodologia aplicada nos casos em que este argumento é utilizado. Outra crítica é quanto a real capacidade dos responsáveis por determinado produto em determinar a magnitude de potenciais impactos diante da atual impossibilidade científica em realizar tal constatação para diversos compostos. Como exemplo, o autor cita a lista de produtos considerados perigosos pela Agência Central de Controle de químicos da *National Swedish Chemical Inspectorate* (KEMI). São expostos vários casos de produtos cuja permissão de entrada e comercialização no país é negada devido a existência de alguma substância não desejável pelo KEMI, independente de um estudo mais abrangente sobre eventuais impactos desta substância. Na Suécia, ainda que o fabricante demonstre cientificamente que seu produto não provê riscos, o governo teria a tendência a recusá-lo sob a alegação de que estudos patrocinados pelos fabricantes do produto não são confiáveis.

Dando um salto para o estudo dos IE, e dada a necessidade premente de definir seus riscos à saúde ambiental, ANDERSON (2004) traz um estudo de caso sobre o risco de câncer no período perinatal onde a epidemiologia avalia a relação de causa-efeito por três meios: através da comparação de casos em populações geneticamente similares que residem em regiões diferentes; alteração da incidência de uma determinada doença em uma população; e através de uma clara associação da exposição com a origem de uma determinada doença. Neste trabalho, questiona-se a afirmação de que o aumento na incidência de alguns tipos de câncer detectados em crianças durante um determinado período estaria

associado não a alguma alteração incomum, seja genética ou por contaminação externa, mas ao aprimoramento das tecnologias de detecção e capacidade de registros inexistentes antigamente. A autora discorda deste diagnóstico ao apresentar dados que variam muito, alguns decrescendo ao longo do tempo, outros com maiores incidências, trazendo à tona a dificuldade em estabelecer riscos e relacioná-los com a eventual presença de IE no meio ambiente, já que inexistente uma uniformização dos dados levantados ao longo do tempo, ou são incompletos, ou ainda inconsistentes.

Conforme bem coloca WARING e HARRIS (2005), existem indícios de que qualquer espécie exposta a IE é afetada. E compostos que podem afetar espécies animais potencialmente podem atingir os seres humanos. Resta saber como e em que nível, já que ainda existe grande desconhecimento sobre o funcionamento do organismo humano e os modelos animais utilizados são limitados quanto à comparabilidade para eventuais efeitos na saúde humana. E novamente, em geral os dados existentes são limitados e muitas vezes gerados por metodologias diferentes, dificultando o cruzamento com outros dados. O uso de modelos animais para simular o que poderia acontecer no organismo humano é ainda bastante limitado. Para comparação de toxicidade e reprodução, recomenda-se o uso de coelhos e porcos, ao invés de ratos. No entanto, vários trabalhos científicos vêm utilizando ratos. Os efeitos e possíveis danos neurológicos são difíceis de serem avaliados dadas as incertezas quanto ao funcionamento desse sistema (WARING e HARRIS, 2005).

O uso de invertebrados em bioensaios não pode ser utilizado quanto ao impacto no sistema tireoidiano, já que este existe apenas em animais vertebrados (KLOAS e LUTZ, 2006). RASIER et al. (2006) realizaram uma revisão sobre o assunto ao comparar os efeitos da exposição a estrógenos e IEs no sistema reprodutor de ratos e humanos. A Figura 6 apresenta um gráfico comparativo

entre ambos. Não obstante as similaridades entre o sistema reprodutivo feminino de ratos e humanos, e ao seu extensivo uso em pesquisas biológicas, é possível verificar uma série de diferenças interessantes, tais como a maturidade sexual que ocorre muito cedo nos ratos.

A EPA utiliza uma série de modelos visando dar suporte para a tomada de decisões na área ambiental. Estes modelos envolvem a caracterização do meio ambiente, destinação e transporte, contato entre o agente sob avaliação e seus receptores e efeitos adversos à saúde humana e meio ambiente, estimativa quantitativa do risco, além de modelos de impacto econômico que possam afetar as decisões finais a serem tomadas. Esta modelagem permite à EPA: (1) prognóstico de possíveis efeitos, (2) estimativa de exposição e riscos quando da inexistência de dados e (3) atribuição de riscos a fontes individuais. As práticas desenvolvidas pela agência primam pela racionalidade na avaliação dos riscos, se assegurando sempre que o risco não seja subestimado ou superestimado (USEPA, 2004).

Visando preencher a lacuna de informações existentes quanto ao impacto dos IE a organismos vivos a EPA desenvolveu um modelo conhecido como “2-tier”, o qual visa determinar o potencial de interferência endócrina de uma substância. O *tier 1* trata-se de uma bateria de ensaios que visam à identificação dos IE. O *tier 2* visa determinar se o IE pode interferir no sistema endócrino e também obter a dose-resposta. Os testes são feitos pelos ensaios uterotróficos, ensaio de Hershberger e ensaio puerperal com fêmeas, em períodos críticos do desenvolvimento. Uma crítica a este procedimento é que ele se faz de forma individual para cada IE, contrariando a forma de ação que normalmente ocorre na natureza (CLODE, 2006).

Figura 6: Representação esquemática de grande parte dos eventos pubertários em fêmeas. Comparação entre ratos de laboratório (A) e humanos (B) em uma escala de tempo de vida adaptada para efeito de comparação.

Notas:

SNC: Sistema Nervoso Central

AV: Abertura Vaginal

B2: Desenvolvimento dos seios

Extraído de: RASIER et al., 2006 (Adaptado).

BEARD (2006) realiza uma revisão acerca da ação do DDT na saúde humana. Entre suas observações traz à tona a necessidade de padronização de metodologias de estudo, comparabilidade e o isolamento do agente sob análise para melhor avaliar seus efeitos – ao contrário do que outros autores recomendam quanto a necessidade de avaliação do impacto a partir da ação sinérgica. O autor critica as metodologias de comparação utilizadas em alguns trabalhos, como por exemplo, a comparação de membros de uma determinada comunidade cujos

históricos de saúde são diferentes e, portanto, alguns estariam menos susceptíveis que outros a terem problemas de saúde. Outro fator de erro nestes estudos seria ainda a exposição pregressa dos pacientes estudados, que precisa ser considerada. O autor também chama a atenção para as alterações no paciente que podem influenciar nos resultados de DDT bioacumulado ao longo dos anos, como por exemplo, o peso, e que podem gerar desvios nos resultados quanto a real concentração a que foi exposta a pessoa. Isto porque os pesticidas tendem a se acumular nos tecidos adiposos.

Outro trabalho interessante a respeito de variáveis não consideradas normalmente nos estudos científicos, mas que podem interferir nos resultados finais em testes realizados com roedores refere-se não diretamente ao modo como estes animais seriam expostos, mas sim às condições diferentes, em companhia de outros ou separados. VERWER et al. (2007) afirmam que seria possível ocorrer interferência nos resultados finais para a avaliação da toxicidade de uma determinada substância (no caso prático realizado pelos autores, o contato com tetrabromobisfenol) devido ao estresse em experimentos conduzidos em animais em isolamento, dada a natureza gregária de alguns destes animais. Nos testes realizados com ratos verificou-se a diferenciação no peso das fêmeas após determinado período: as que ficaram isoladas apresentaram maior peso do que as fêmeas que permaneceram em grupo. Os machos que permaneceram em grupo apresentaram maior peso da próstata e menor peso do timo. As fêmeas que permaneceram em grupo apresentaram pesos maiores para o útero e o cérebro. Já o fígado dos machos e fêmeas mantidos isolados apresentou-se mais pesado.

Não foram observados efeitos histopatológicos nos tecidos de outros órgãos reprodutivos, nos órgãos imunológicos, sistemas circulatórios e respiratórios, sistema digestivo, urinário, nervoso ou endócrino, com exceção da tireóide. O Tetrabromobisfenol utilizado no teste causou um impacto na morfologia

celular interna e aumento do tamanho desta, sendo que os animais que estavam isolados tiveram um impacto maior, com alterações morfológicas mais pronunciadas do que aqueles que se encontravam em grupo. Foi ainda verificada alterações na hematologia e imunidade, na concentração de tiroxina apenas entre as fêmeas e nenhuma alteração na análise química do sangue. Apesar destas diferenças entre os grupos e gêneros, os autores consideraram que estas ocorreram em pequeno número em relação à quantidade de parâmetros analisados: apenas 12% dos 92 parâmetros testados apresentaram efeitos estatísticos significativos, e somente 3% estariam relacionados às diferenças do tipo de isolamento. Estas constatações, segundo os autores, estariam dentro da variação biológica normal. No entanto, se alterações foram constatadas, mesmo que dentro de uma representatividade baixa, devem ser consideradas quanto a incertezas que podem ser atribuídas ao teste.

BRIDGES e BRIGDES (2004) recomendam a padronização dos testes científicos de estudo dos IE e na implementação de técnicas de avaliação dos riscos à saúde ambiental e humana. Sua contribuição é de grande valia ao analisar a complexidade da análise de risco no futuro, a necessidade de mudanças nas metodologias utilizadas considerando os seguintes aspectos:

- ❖ A rápida expansão do número de agentes químicos e biológicos os quais requerem uma análise de risco capaz de atender em tempo hábil o ritmo frenético de lançamento de novos produtos;
- ❖ Usualmente, em casos de renovação de licenças, é usual na Europa submeter a empresa a uma avaliação mais superficial, menos detalhada, o que não permite detectar pequenas mudanças que podem ter ocorrido no processo e que podem ocasionar alterações singificativas dos produtos finais;
- ❖ Os estudos de saúde humana e riscos ecológicos devem ser conduzidos juntos, permitindo que os dados sejam cruzados;

- ❖ Deve ser reconhecido que muitos riscos interagem e somam-se a outros. E também ao fato de que a maioria dos estudos de risco ser conduzidos em condições que não reproduzem o ambiente real;
- ❖ A necessidade de permissão de uso de animais para testes (para alguns países, o que não é o caso do Brasil), para elaboração de modelos que permitam estimar o potencial impacto para a saúde humana;
- ❖ Uma maior transparência nos estudos de risco realizados para a sociedade;
- ❖ Reconhecimento da necessidade de realização de trabalhos científicos com estudos de risco.

REIS FILHO (2008) realiza uma análise de risco focado na presença de um IE que foi detectado no Rio Monjolinho, no caso, o etinilestradiol. A partir de uma análise integrada seu trabalho culmina na determinação de que existe um risco alto para a biota aquática desse rio, e que pode ser agravado ao se considerar que outros IE podem estar presentes no meio e interagindo entre si. A análise apresentou risco altíssimo quando se considera a população média do município de São Carlos e a carga média provável de estrógenos lançados diariamente naquele curso d'água.

3.6.1. Instrumentos de gestão ambiental: O Princípio da Precaução e a análise de risco ambiental

Beck apud SETZER (2007) defende a democratização das decisões em torno das incertezas existentes dentro da realidade moderna e seus

desenvolvimentos tecnológicos. Gurtwirth apud SETZER (2007) propõe o chamado “pluralismo das verdades”, ou seja, o autor reconhece a não existência de uma única verdade e que estas são relativas dadas as incertezas científicas, e afirma que a ciência passa a ser constituída por uma dimensão política. E é neste conceito que se basearia a necessidade de uma maneira democrática decisória nos assuntos relativos ao meio ambiente, materializando-se dessa forma o Princípio da Precaução.

O Princípio da Precaução se define por ser um esforço na previsão de um dano irreversível, que ainda não aconteceu, não foi observado ou que pode nunca acontecer associado a uma intenção de precaução (Hermitte apud SETZER, 2007). Seria ainda uma ferramenta de gestão de risco não probabilístico, de perigo potencial. No entanto, o Princípio da Precaução não teria como objetivo final obter um risco zero. Segundo SETZER (2007), este princípio:

(...) é cabível quando os dados científicos são tão insuficientes que não é possível aplicá-los, quando a ausência de parâmetros não permite qualquer extrapolação ou quando as relações de causa-efeito são pressentidas, mas não demonstradas. Nestas situações, as instâncias de decisão políticas são colocadas perante o dilema de atuar ou não atuar ou, mais precisamente, de escolher entre um risco e outro. (...) como filosofia, o princípio da precaução incita que as atitudes humanas sejam orientadas pelas idéias de *prudência* e *responsabilidade*, de fora a evitar que a presente geração ameace a existência da vida no planeta. (...) reflete, portanto, um dever jurídico e político da humanidade presente com a futura, um dever que deriva do direito das próximas gerações (p. 70).

Conforme NILSSON (2004), o Princípio da Precaução deveria prever métodos de análise de risco para criar condições ponderadas de definição da

aplicação desta doutrina. Na ausência de informações, algumas incertezas deveriam ser contornadas através da assunção de critérios racionais. Finalmente, uma avaliação de custo/benefício deveria ser realizada para reduzir o risco a níveis aceitáveis. O autor cita o veredicto da Suprema Corte no caso Industrial Union Department, AFL-CIO v. American Petroleum Institute, 444 US 607, 639-642 (1980) (benzene), onde se define o que seria um risco aceitável:

Some risks are plainly acceptable and others are plainly unacceptable. If, for example, the odds are one in a billion that a person will die from cancer by taking a drink of chlorinated water, the risk clearly cannot be considered significant. On the other hand, if the odds are one in a thousand that regular inhalation of gasoline vapors that are 2% benzene will be fatal, a reasonable person might well consider the risk significant and take the appropriate steps to decrease or eliminate it.(p. 116)

O Princípio da Precaução não tem uma definição jurídica única no mundo, e sua aplicação dependerá da interpretação de cada jurista, ficando aberta a aplicação de restrições mais ou menos restritivas. Não se deve nunca confundir a aplicação do mesmo com a insana busca de “risco zero”, o qual não seria o objetivo final. O objetivo deve ser na verdade a busca por um “risco aceitável”. (NILSSON, 2005; SETZER, 2007). Algumas pesquisas brasileiras vêm sendo conduzidas na busca de outros compostos com menor impacto no meio ambiente, seguindo a tendência mundial de substituição, ou até mesmo de proibição em alguns países, de substâncias ambientalmente agressivas. Por exemplo, a Universidade Federal Fluminense conduz estudos do uso de um composto químico presente em algas vermelhas (GODOI ET AL. , 2003). No entanto, estas pesquisas demandam anos ou décadas de estudos, necessitam de vultosos investimentos e muitas vezes não é possível simplesmente proibir o uso de uma determinada substância enquanto se aguarda o desenvolvimento de outra que a substitua.

SETZER (2007) conclui que na eventual aplicação do Princípio da Precaução, esta se faz possível com a utilização de quatro ferramentas: análise de riscos, avaliação dos riscos, proposição de alternativas e finalmente a avaliação, escolha das alternativas propostas, implantação de ações e avaliação das ações implementadas.

No Brasil não existe legislação que defina risco e conceitue o processo de análise de riscos, ou mesmo da necessidade de adoção destas medidas, a não ser a Norma da CETESB P4.261, de 21/08/2003 a qual orienta como elaborar um estudo de análise de riscos (SETZER, 2007).⁹

A EPA entende que a gestão de risco implica na tomada de decisões. Portanto, a agência conduz a gestão do risco visando prover as melhores e possíveis caracterizações científicas de risco dentro de uma rigorosa análise da informação e conhecimento existentes. Isto é feito através da descrição da natureza e magnitude do risco, da interpretação da adversidade associada àquele risco, uma avaliação do estado da arte sobre o que existe a respeito, incertezas ou total ausência de informações e documentação que evidenciem a caracterização do risco. Esta caracterização é incorporada a outras informações relevantes (políticas, legislação) sobre como gerenciar o risco, e outras, tais como as de cunho social, econômico, político e regulatório. O objetivo final é prover aos tomadores de decisão das implicações do risco e das suas decisões quanto a eventuais mitigações no menor custo possível dentro das leis aplicáveis (USEPA, 2004).

⁹ CETESB. [Acesso em 02 de set 2008]. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Emergencia/riscos/estudo/norma.asp>

A EPA mantém um Sistema Integrado de Informações de Risco (IRIS)¹⁰ o qual trata-se de uma compilação de relatórios eletrônicos para substâncias encontradas no meio ambiente, quanto ao seu potencial efeito à saúde humana. O Sistema IRIS foi inicialmente criado para o uso de informações que permitissem a avaliação de riscos, tomada de decisões e atividades regulatórias. Neste site também é possível encontrar orientadores sobre diversos temas tais como “*EPA Cancer Guidelines*”, “*EPA Risk Guidelines (Other than Cancer)*”, “*EPA Science Policy Council Guidelines*” e “*Other Guidance Documents*”.

SETZER (2007) conclui afirmando que o Princípio da Precaução não é uma regra de abstenção, mas sim uma forma de obrigar que os fabricantes de novos produtos ou tecnologias demonstrem que os seus benefícios são superiores a eventuais impactos negativos e inconvenientes sobre o meio ambiente e a saúde.

O progresso alcançado nos dias atuais pela humanidade, assim como o seu bem-estar associado, não teria sido possível por outros caminhos, mas verificada a necessidade de mudança, esta deve ocorrer sempre que possível de forma priorizada, visando a benefícios mais amplos, que antes não eram considerados. Os benefícios de um produto ou de uma tecnologia devem ir muito além da qualidade e do atendimento aos anseios imediatos da sociedade, mas devem considerar também e principalmente a segurança quanto à saúde e o meio ambiente. Os IE estão intrincados em um complexo processo político-econômico e social, onde atuam como “vilões e mocinhos”, dependendo da ótica utilizada. E não podem, de forma alguma, serem simplesmente descartados de uma hora para outra. A ação de resposta necessária seria a do tipo preventiva e prevencionista, buscando determinar riscos aceitáveis. Deve-se, sobretudo, primar por uma forte atuação junto à população, fortalecendo os laços de confiança através da

¹⁰ USEPA. [Acesso em: 03 mar. 2009] Disponível em: <http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/index.cfm>.

comunicação e da transparência. A promoção da saúde ambiental deve ter um enfoque holístico, o qual se dá com a participação da sociedade e seu acesso ao conhecimento, identificação e solução dos problemas ambientais (OPAS, 1999; PIMENTEL et al., 2006).

O uso de instrumentos com maior abrangência, como a Análise Ambiental Estratégica, citada anteriormente e em voga na Europa aparenta ser uma solução a ser considerada para o desafio imposto pelos Interferentes Endócrinos à sociedade. Outra abordagem seria a aplicação do conceito de produção mais limpa, a qual pode ser definida como uma estratégia na gestão ambiental para redução do consumo de matérias-primas, minimização da geração de resíduos sólidos, efluentes líquidos e emissões atmosféricas, com respectivos benefícios econômicos associados. A produção mais limpa, comumente conhecida como P+L, constitui-se na aplicação de ações preventivas e integradas em processos, produtos e serviços visando aumentar a eficiência global e a redução de riscos para a saúde humana e o meio ambiente. No site da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB)¹¹ é possível verificar várias iniciativas privadas a respeito, o que denotam uma preocupação voltada para a ação preventiva, em território nacional. Estas ações, no entanto, ainda não são encadeadas, pois se verifica que os casos são pontuais e restritos aos processos e aos *sites* dos empreendedores que optaram por esta solução por iniciativa própria. A CETESB informa que a implantação do P+L é recomendada ou incentivada pelo órgão ambiental, ao contrário da diretiz europeia (Diretiva 2001/42/CE) em que vem sendo exigida a sua aplicação em planos e programas internacionais europeus.

¹¹ CETESB. [Acesso em 21 de mai de 2009]. Disponível em: www.cetesb.sp.gov.br

3.7. Processos de tratamento de água e esgoto e suas capacidades de remoção para Interferentes Endócrinos.

As soluções necessárias ou no mínimo recomendadas para a mitigação dos Interferentes Endócrinos (IE) no meio ambiente, conforme apresentado nos subcapítulos anteriores, engloba aquelas do tipo preventivas, que ataquem essencialmente as causas/fontes de geração dos IE e diminuam a possibilidade de exposição dos organismos vivos a estas substâncias; e outras, consideradas como soluções “fim de tubo”, pois atuam como barreira final antes que a substância em questão atinja o meio ambiente ou a saúde pública. O uso de ambas as soluções, tanto preventivas quanto barreiras finais, requerem um prévio planejamento, qual seja, tais como a implantação de medidas estruturais (adequação de plantas de tratamento de água e esgoto), não estruturais (educação ambiental) e de políticas públicas que evoluam em conjunto para adequada implantação da solução a ser adotada.

Dado que um dos focos desta tese foi justamente a de avaliar a capacidade de remoção destas substâncias em uma Estação de Tratamento de Esgotos, e a eventual presença destas substâncias em um manancial de superfície – tudo isso através da avaliação de detecção de estrogenicidade em amostras destes sistemas – verifica-se como importante a apresentação de uma revisão bibliográfica sobre técnicas de tratamento de água e esgoto e suas respectivas eficiências para remoção dos Interferentes Endócrinos, dentro do atual estado da arte.

3.7.1. Processos de tratamento de esgotos

As plantas de tratamento de esgoto recebem uma grande quantidade de compostos existentes em esgotos domésticos e/ou industriais, os quais podem ser totalmente, parcialmente removidos ou podem passar pelo processo de tratamento sem que nenhuma remoção ocorra. Conforme pode ser observado na literatura científica mundial, a capacidade de remoção em uma ETE dependerá de uma série de fatores, tais como: o processo de tratamento utilizado, os tipos de substâncias presentes, o tempo de detenção, além de fatores externos, tais como temperatura por exemplo. Algumas substâncias podem passar pelo processo de tratamento e, na presença de um ambiente propício com outros compostos ou microorganismos, se tornar parte de metabólitos, os quais podem ser descartados através do efluente e ficarem disponíveis na água e/ou em sedimentos (CARBALLO et al., 2005).

No Brasil existe pouca informação sobre os processos de tratamento de esgoto e as suas capacidades de remoção em geral, constatados na prática em ETE's em funcionamento. Em geral, os processos são do tipo primário ou secundário, com pouquíssimos casos de processos de tratamento terciário. Em um levantamento feito por OLIVEIRA e VON SPERLING (2005), para os Estados de São Paulo e Minas Gerais, verifica-se a prevalência de sistemas de tratamento secundários que utilizam lodos ativados ou lagoas de estabilização. Outro levantamento visando analisar a eficiência destes sistemas constata a imprecisão nos dados básicos dos processos (OLIVEIRA e VON SPERLING, 2005a).

A Comissão das Comunidades Europeias tem trabalhado visando agregar todas as informações disponíveis na Europa, EUA e Japão sobre o assunto. Alguns trabalhos já estão concretizados e outros em processo de estudo vêm sendo divulgados em textos científicos e congressos (COM, 1999; BOENKE et. al, 2002).

O software COMPREHEND (*Community Programme of Research on Endocrine Disrupters and Environmental Hormones*) foi desenvolvido, sob coordenação do Prof. Alan D. Pickering, do NERC (*Centre for Ecology and Hydrology*), com o objetivo geral de avaliar a evidência da existência de IE no meio ambiente aquático europeu, conseqüente da descarga de esgotos. Particular ênfase foi dada para a atividade estrogênica nos efluentes de esgotos domésticos e industriais, e seus impactos em peixes, tanto de água salgada quanto do mar. Os resultados obtidos até o dez/2002 demonstraram que o estrogênio está disseminado nos efluentes de Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs) de toda a Europa. Aproximadamente 1/3 das ETE's examinadas entre 1999 e 2002 apresentaram altos valores de estrogênio e capacidade de estimular a vitelogênese em peixes jovens e machos, de diversas espécies, após um período de exposição de 2 a 3 semanas. Nos demais sistemas, a presença de Interferentes não foi constante, com picos eventuais. O projeto alcançou alguns resultados importantes, como recomendações para melhorar a técnica de análise *in vivo*, algumas observações quanto ao alcance de resultados das análises *in vitro*; a conclusão que os estrógenos naturais e sintéticos de origem humana são os principais responsáveis pelos efeitos estrogênicos *in vivo* e *in vitro*; a exposição crônica a estrógenos em concentrações de 0,6 ng/L foi suficiente para alterações sexuais dos peixes machos e 1,5 ng/L para estimular a vitelogenese em peixes jovens; e finalmente, que algumas ETE's têm a capacidade de remover toda ou quase toda a atividade estrogênica e androgênica (COMPREHEND, 2002).

O potencial de impacto em um recurso hídrico, advindo do efluente de uma ETE cuja remoção não seja efetiva, pode variar espacialmente e temporalmente. É possível verificar na literatura que a estroginicidade variará em função da distância do ponto de lançamento dos esgotos, assim como a resposta do organismo dependerá do período de exposição (HEMMING et al, 2004). Deve existir, portanto, uma zona de mistura¹² na qual se dá, potencialmente, os efeitos adversos decorrentes de IE eventualmente presentes no efluente da ETE, e além da qual estes efeitos não seriam mais significativos.

O acompanhamento de várias plantas e da concentração dos IE em várias fases destes processos confirmou que a maioria da atividade foi perdida durante o tratamento biológico secundário e o maior fator determinante de diminuição da estroginicidade do efluente final foi o tempo de residência durante o processo de tratamento. Conclui-se, portanto, que algumas tecnologias de tratamento de esgoto existentes têm o potencial de remover ou diminuir substancialmente a atividade estrogênica e androgênica no efluente tratado (JOHNSON et al. 2000; SERVOS et al.,2004).

Outros trabalhos científicos confirmam que algumas etapas do tratamento de esgoto têm ação fundamental na remoção de IE. Nestes trabalhos, existe um consenso de que a ação biológica do tratamento em lodos ativados, plantas que possuem em seu processo sistemas de tratamento terciário para remoção de fósforo e nitrificação, e o tempo de retenção no processo biológico são fatores preponderantes para a remoção de IE. SERVOS et al. (2004) conseguiram valores de remoção entre 75% e 98% para alguns tipos de estrógenos. JOHNSON et. al. (2000) chegaram a conclusões similares e praticamente os mesmos valores de remoção em uma ETE na Itália. Em uma revisão

¹² Região do corpo receptor onde ocorre a diluição inicial de um efluente – Fonte: CONAMA 357/05.

bibliográfica, eles informam que outros estudos apresentaram índices de remoção menores, variando entre 41% e 66%. No entanto, é preciso avaliar caso a caso, inclusive outros fatores que podem influenciar a eficiência biológica da ETE como, por exemplo, a temperatura.

MA et al. (2005) detectaram presença de IE, a partir da constatação de presença de estrogenicidade no efluente de uma ETE em Beijing, China, cujo processo é típico na Ásia – não foram observadas informações mais detalhadas a respeito. Os testes realizados foram do tipo *in vivo*. Já o trabalho realizado por LEUSCH et al. (2006) avaliou o potencial de androgenicidade e estrogenicidade em 15 ETE's da Austrália, através de testes *in vitro*. As plantas apresentavam processos de tratamento por lodos ativados em sua grande maioria (doze das quinze ETE's), duas utilizavam processos por filtro biológico e a última um tanque de oxidação. Os testes apresentaram remoção de 100% (dentro do limite de detecção do método, que foi de 5 ng/L) para todos os processos. A eficiência não foi tão alta para outras substâncias, tais como o nonilfenol, octilfenol e o bisfenol A, embora algumas plantas de lodos ativados e a do tanque oxidativo tenham conseguido remove-las. Em geral, a estrogenicidade foi nula, com exceção para uma das plantas. Já a androgenicidade apresentou-se em várias ETE's, indicando que este é um efeito que também deve ser considerados em estudos relativos a estes tipos de processos.

TERNERS et. al. (1999) compararam diferentes capacidades de remoção entre ETE's similares – tratamento por lodos ativados - no Brasil (entre 83% e 78%) e outra na Alemanha (entre 64% e 68%) e atribuíram estas diferenças a, provavelmente, a temperatura, a atividade microbiológica e aos eventos de chuva que ocasionaram alteração no esgoto bruto.

Em um trabalho realizado para avaliar a eficiência de remoção de nonilfenol, quanto a sua eventual presença no lodo de ETE, verificou-se que os processos empregados que utilizaram tratamento aeróbico foram altamente eficientes, chegando até a 100% de remoção. Já o tratamento anaeróbio não foi capaz de remover esta substância (HERNANDEZ-RAQUET et al, 2007).

A capacidade de remoção de fármacos e produtos de higiene pessoal vem sendo amplamente discutida na literatura internacional e também no Brasil, dado o impacto deste grupo de compostos e a presença de substâncias classificadas como IE. Dados referentes à capacidade de remoção em ETE's no Brasil demonstram pouquíssima eficiência de remoção (GHISELLI, 2006).

Um estudo conduzido por NAKADA et al. (2006) buscou avaliar a capacidade de remoção de IE e fármacos em 5 ETE's existentes em Tóquio. Todas as ETE's apresentavam processos de tratamento por lodos ativados. A eficiência de remoção para os IE variou bastante, sendo alcançado valor mínimo de aproximadamente 32% a 65% para o octilfenol, entre 61 e 75% aproximadamente para o nonilfenol, 92% para o bisfenol A e entre 86% e 100% para alguns hormônios, como a estrona, o 17 β -estradiol e o estriol. Estes dados são bastante diferentes dos encontrados em trabalhos realizados no Brasil, citados em capítulos anteriores.

A variação na capacidade de remoção de uma ETE pode ser afetada por outros fatores que não os de projeto, tais com as características do esgoto bruto, as quais dependerão diretamente de uma série de variáveis, como a composição da população que efetivamente contribui para o afluente da ETE (idade, sexo); as condições sócio-econômicas e culturais, para as quais pode ser associado o potencial de acesso a determinados compostos que eventualmente sejam descartados no esgoto através da excreção, ou da

manipulação propriamente dita (uso de fármacos e produtos de higiene pessoal); ou outros produtos industrializados cujo uso ou intensidade de uso é restrito ou diferenciado, diretamente correlacionado com as características da população regional. Em suma, a qualidade e a variabilidade do efluente dependerão de uma série de variáveis que devem ser devidamente consideradas: as variações na qualidade do esgoto bruto, as condições ambientais nos reatores, a natureza do esgoto a ser tratado, a presença de substâncias tóxicas, as variações no processo de tratamento biológico, as características de projeto, as falhas mecânicas e humanas, sendo estes os possíveis fatores que podem ocasionar instabilidade no processo e variações na qualidade do efluente (HEMMING et. al, 2004; OLIVEIRA e VON SPERLING, 2005b; PETTERSSON et al., 2006; TESKE e ARNOLD, 2008).

CHRISTIANSEN et. al. (2002), em sua revisão bibliográfica sobre o tema afirmam que o tratamento convencional em ETE's não é barreira suficiente que garanta a remoção de IE.

Lagoas aeradas e seu impacto no meio ambiente foram analisadas por GAGNÉ et al. (2007), através de testes com bioindicadores. Os mexilhões utilizados no bioteste foram colocados cerca de 1 km a jusante do ponto de lançamento destas lagoas. Os resultados obtidos demonstraram que além de apresentar efeitos deletérios sobre o sistema endócrino também pôde ser observada toxicidade.

O uso de tratamento avançado tem sido foco de vários trabalhos científicos no mundo todo, para avaliação da capacidade de remoção de IE por processos físicos, químicos e biológicos, tais como o emprego de ozônio/peróxido de hidrogênio, a osmose reversa, a radiação ultravioleta, a aplicação de carvão ativado e o uso de membranas, entre outros.

PETTERSSON et al. (2006) avaliaram a eficácia de duas ETE 's suíças para remoção de IE, cujo processo de tratamento consistia na floculação, tratamento anaeróbio e aeróbio e filtração lenta. Interessante é que apenas uma das ETE's apresentou potencial de estrogenicidade, e sua eficiência de remoção para alguns IE monitorados foi bem menor comparado à da outra ETE. Estes resultados foram atribuídos ao menor tempo de retenção observado para a ETE com menor eficiência. O processo de filtração lenta apresentou uma boa eficiência de remoção.

É importante ressaltar que alguns processos geram subprodutos que precisam também ser considerados quanto a outros impactos que podem vir a causar. O tratamento por processos oxidativos avançados (POA), por exemplo, possui uma potencial eficiência de remoção associada à sua alta reatividade e baixa seletividade, o que torna esta alternativa bastante interessante, devido também as suas taxas de remoção para alguns tipos de IE e outras substâncias serem consideráveis. No entanto, relatos da literatura apontam para a produção de substâncias oriundas da degradação cuja toxicidade pode ser importante no resultado final do tratamento, e devem ser consideradas (MELO et al, 2009).

XU et al. (2005) constataram a capacidade de biodegradação de bactérias da espécie *pseudomonas fluorescens* B-1 para ftalatos, no caso para concentrações entre 2,5 e 10 mg/L de ester di-n-Butil ftalato. As bactérias levaram entre 72 e 96 horas, respectivamente, para degradar completamente a substância. A reação de biodegradação envolve a produção intermediária de um monoéster e posteriormente de um ácido ftálico, o qual finalmente é metabolizado para produzir dióxido de carbono e água. Os autores chamam a atenção para a necessidade de outras linhagens (espécies) de bactérias para diferentes tipos de ftalatos.

Um trabalho feito por LEE et. al. (2004) demonstrou que é possível diminuir a estrogenicidade em solução aquosa a partir da aplicação de cloro. Partindo do princípio que o anel fenólico é normalmente decomposto em soluções contendo cloro, e os estrógenos em geral possuem o anel fenólico em sua composição, este estudo comprovou a capacidade do cloro para este fim, cuja eficiência depende totalmente do tempo de contato e a concentração da solução.

WEBER et al. (2005) compararam a remoção de 17 β -estradiol e etinilestradiol em um processo de tratamento de esgotos por lodos ativados convencional e outro por membranas. O etinilestradiol não foi removido em ambos os processos. Já o hormônio 17 β -estradiol foi oxidado para estrona em apenas 7 horas no primeiro processo e em 3 horas no segundo. Após 72 horas este metabólito não foi mais detectado. Percebe-se uma mínima diferença de eficiência de remoção entre ambos os processos. Os testes incluíram a constatação de que houve crescimento bacteriano no lodo ativado quando da transformação do 17 β -estradiol para estrona, indicando de que este último poderia ser considerado um substrato para as bactérias.

A técnica de membranas em processos de remoção de IE por ultra e nanofiltração apresenta algumas limitações características deste processo. Uma delas seria relativa à presença de outras substâncias dissolvidas no meio e a competição entre si dada a seletividade das membranas quando no processo de filtração (CHANG et. al., 2002; LYKO et al., 2006).

A capacidade de remoção notadamente varia de acordo com o IE que se tem em vista e as concentrações presentes. A ultrafiltração pode chegar a remoções da ordem de 50-60% para o Bisfenol A e até 85% em um processo de osmose reversa. Outros IE presentes no ensaio tiveram resultados de remoção

diferentes para cada processo. Para algumas substâncias como o Bisfenol A, por exemplo, o tamanho dos poros das membranas é maior do que o das moléculas. Mas mesmo assim foram observadas remoções, as quais podem ser explicadas pela ocorrência de outros processos que não apenas os de remoção por meios físicos (GOMÉZ et al., 2007).

Outra técnica utilizada é a de utilização de polímeros com macroporos, na forma de gel, que sorveriam substâncias pré-determinadas, atuando por seletividade. A manipulação molecular destes polímeros permite sintetizar receptores artificiais de hormônios e, portanto, sua remoção. No entanto, os custos para esta tecnologia ainda são consideravelmente altos, embora sua eficiência de remoção seja bastante alta: testes de laboratório apresentaram 100% de capacidade de remoção para o 17 β -estradiol (LE NOIR et al, 2007).

Em um estudo abrangente realizado pela Comunidade Européia (EDEN, 2004) para avaliar sistemas de tratamento de água e esgotos quanto à capacidade de remoção de fármacos e produtos de higiene pessoal (FPHP) com potencial interferência endócrina, chegou-se às seguintes conclusões:

- ❖ A remoção de FPHP por sorção através de sólidos suspensos é um importante mecanismo para compostos hidrofóbicos e que possuem grupos funcionais com carga positiva, por ex., aminas (caféina);
- ❖ Quanto maior for o tempo de retenção maior a influência e eficiência biológica na degradação destas substâncias;
- ❖ Devido a cinética de primeira ordem de degradação para os FPHP a remoção é menor em um reator de mistura completa se comparado a reatores em série;
- ❖ O tratamento do efluente com ozônio reduz substancialmente a concentração destas substâncias, e seu custo foi considerado

acessível, com exceção para os compostos de contraste iodados utilizados em alguns procedimentos médicos analíticos;

- ❖ A pós-filtração atinge uma degradação parcial de alguns antibióticos não degradados em estágios anteriores do tratamento;
- ❖ A aeração não seria relevante na remoção destas substâncias;
- ❖ Os estrógenos podem ser removidos totalmente em processos de tratamento de esgoto através da aplicação de nitrificação e denitrificação, considerando o tempo de retenção de 15 dias; ou através da aplicação no efluente final de processos de ozonização, membrana filtrante ou carvão ativado;
- ❖ Recomenda-se o uso de produtos ecológicos, com menor geração de resíduos e que contenham IE em sua composição, além do uso do modelo europeu aplicado nas plantas de tratamento de esgotos, (o mesmo do Brasil), com separação das águas pluviais dos esgotos domésticos, visando aumentar a eficiência dos tratamentos de esgotos.

3.7.2. Processos de tratamento de água

Em estações para tratamento de água (ETA) para consumo humano alguns estudos vêm sendo realizados para avaliar a aplicabilidade de processos que possam ser acrescentados às plantas convencionais de tratamento visando à remoção de interferentes endócrinos.

Um estudo realizado pela EPA (USEPA, 2001) para vários tipos de pesticidas e organoclorados e vários tipos de processos de tratamento de água

indicou que a melhor remoção ocorre através da adsorção em carvão ativado granular (CAG). Em segundo lugar, em termos de eficiência, está o carvão ativado em pó (CAP). Conforme os autores, o CAP normalmente é utilizado em períodos distintos do ano, e seria adequado para casos em que a presença dos pesticidas fosse sazonal. Em outras situações, o CAG é o mais indicado, já que faria parte constante do processo.

A aplicação de fotocatalise com dióxido de titânio em água demonstra ser uma alternativa eficiente para remoção de IE, conforme testes realizados até o momento. Sua ação se dá a partir da oxidação dos compostos orgânicos presentes na água. Não foram encontrados dados na literatura que indiquem o custo benefício, tampouco o uso em escala real. Sua aplicação se daria com maior eficiência na água final, já que a turbidez e a presença de matéria orgânica dissolvida aumentaria a competição entre as substâncias a serem oxidadas, com provável diminuição da eficiência de remoção para os interferentes endócrinos (COLEMAN et al., 2005).

CARGOUËT et al. (2007) realizaram avaliações quanto à potencial estrogenicidade em três diferentes processos de tratamento de água de estações de Paris, França, conforme demonstra a Figura 7 a seguir. Os resultados obtidos quanto à concentração de Vtg para os pontos testados nos bioensaios *in vivo* foram inexpressivos, próximos aos dos peixes “branco” ou controles, demonstrando que não ocorreu estrogenicidade relacionada com a água potável, coletada antes da desinfecção.

Figura 7: Principais tratamentos usados nas três ETAs em cuja água potável foram realizados os testes com peixes.

Estação de tratamento A

Extraído de: CARGOUËT et al. (2007).

O relatório providenciado pela Comunidade Européia (EDEN, 2004) também se refere a resultados obtidos para sistemas de tratamento de água, no qual conclui:

- ❖ A ozonização é um processo muito eficiente para oxidação de FPHP's, e não existia até então informações sobre geração de subprodutos tóxicos;
- ❖ A desinfecção com cloro e dióxido de cloro não demonstrou ser eficiente na remoção ou oxidação destas substâncias;
- ❖ O carvão ativado é um processo altamente eficiente na remoção destas substâncias, com exceção para contrastes em meios iodados

e o antibiótico sulfametoxazol, os quais não apresentam suficiente afinidade para serem adsorvidos pelo carvão ativado;

- ❖ A coagulação e a floculação são inapropriados para remover os FPHP's.

3.8. Instrumentos legais

Em seu artigo, WAISSMANN (2002) chama a atenção para a necessidade de ações que visem atacar a causa/ fontes de Interferentes Endócrinos (IE) no meio ambiente ao invés da utilização de modelos de vigilância e atuação com foco no efeito. Conforme o autor, uma das mudanças necessárias para mitigação destes poluentes seria em relação ao arcabouço legal existente, não apenas no estabelecimento de limites de padrões de qualidade como também em um maior controle das substâncias que adentram o território nacional. Para tanto seria necessário um maior preparo dos órgãos públicos, mais especificamente da Vigilância Sanitária, de forma a se capacitarem para atender às demandas necessárias de pesquisa, conhecimento e controle destas substâncias.

No Brasil, a Lei 6.938/81 (BRASIL, 1981), define como um dos instrumentos necessários para a aplicação da Política Nacional do Meio Ambiente o estabelecimento de padrões de qualidade ambiental. Conforme já comentado em capítulos anteriores, não se verifica na legislação brasileira para meio ambiente ou mesmo para água potável tais instrumentos considerando os potenciais impactos dos IE.

Foram realizadas consultas em várias organizações do mundo visando obter informações a respeito de mecanismos legais existentes e que estabeleçam limites de emissão ou mesmo de níveis de concentração aceitáveis para IE. Nos artigos científicos consultados não foi possível encontrar qualquer menção a leis de outros países que limitassem as concentrações de agentes químicos classificados como IE, o que se justifica pela lacuna de conhecimento ainda existente sobre a relação dose-resposta para estas substâncias e seus efeitos deletérios no sistema endócrino.

A Comunidade Européia, em seu *site* sobre o assunto, informa uma série de ações e medidas que vêm sendo tomadas, principalmente no que diz respeito às pesquisas para compreensão dos mecanismos de ação dos IE no meio ambiente e na saúde. A aplicação de regulamentações é uma ação de longo prazo, a qual virá em seguida¹³.

A WHO (2006), em seu último relatório técnico com diretrizes para a qualidade da água potável cita a ação deletéria do endossulfan no sistema endócrino, constatada a partir de vários estudos. No entanto, a concentração em que se daria o efeito no sistema endócrino é maior do que a concentração em que se observam efeitos tóxicos, para o qual já existem limites impostos. Os limites definidos pela WHO são seguidos por vários países do mundo. O mesmo pode ser observado para várias outras substâncias as quais o relatório cita evidências de efeitos deletérios no sistema reprodutivo observados em testes laboratoriais com cobaias, mas cujas concentrações são maiores do que aquelas já limitadas e com foco em outros efeitos, tais como toxicidade. Ou mesmo, informa que alguns estudos realizados, por exemplo, para o dibromoacetona, embora demonstrem provável efeito no sistema reprodutor, não conseguiram obter uma relação dose-resposta.

¹³ European Commission – Research. [Acesso em 10 de maio de 2009]. Disponível em: http://ec.europa.eu/research/endocrine/index_en.html

A EPA disponibiliza em seu *site* informações sobre os limites para contaminantes em água potável¹⁴. Nesta lista é possível encontrar alguns IE, tais como o Glifosato, a Dioxina, entre outros, assim como suas concentrações limitantes, com foco principal nos efeitos tóxicos observados. Já os padrões de qualidade para águas superficiais preconizados pela EPA, seguem a avaliação de toxicidade crônica ou risco de câncer em humanos.

Para organismos aquáticos, a EPA (USEPA, 2008) elaborou relatório no qual aborda os “poluentes emergentes”, que na sua definição, tratam-se daquelas substâncias que não possuem base legal regulatória, foram recentemente detectadas no meio ambiente aquático (devido a falta de tecnologia apropriada) e são capazes de causar efeitos negativos na biota aquática. Entre eles estão os IE, os fármacos, POP's e outros. Este relatório apresenta limites de concentração máxima e concentração contínua, as quais se diferenciam pelo tempo e frequência de exposição a um determinado poluente emergente. No primeiro caso, 1 hora de exposição por uma vez a cada três anos. No segundo, quatro dias de exposição em média a cada três anos. Neste trabalho estão reunidas informações sobre o efeito de IE em várias espécies aquáticas e os limites recomendados no meio ambiente visando à proteção aquática. No entanto, ainda não é considerado para efeito de regulamentação.

Conclui-se, portanto, para a não existência, até o presente momento, de leis que regulamentem padrões de qualidade ambiental ou para saúde pública nos principais órgãos internacionais com este fim, no caso, a EPA e a WHO. Estes órgãos usualmente são consultados para a elaboração de normas e regulações em outros países e, finalmente, considera-se que não existem ainda dados e informações suficientemente confiáveis que permitam estabelecer tal instrumento de regulação.

¹⁴USEPA. [Acesso em 15 de mai de 2009]. Disponível em: www.epa.gov

3.9. Cenário no Brasil

No Brasil o uso de substâncias químicas com atividade (ou possível atividade) sobre o sistema endócrino é bastante amplo e disseminado em vários segmentos, em especial em atividades industriais e agrícolas.

No passado, o uso indiscriminado de substâncias químicas era assombroso, não apenas pelas quantidades aplicadas, mas também pelo descaso quanto aos riscos relacionados com a sua manipulação, que vai desde a ausência de leis que obrigassem ao uso de equipamentos de proteção e segurança adequados até o descaso dos próprios usuários devido ao desconhecimento quanto aos perigos que corria. A manipulação do DDT como defensivo agrícola, quando do seu preparo, tinha a sua diluição em água realizada em um recipiente onde a mistura era feita com o braço e a palma da mão aberta. Problemas de saúde seriam sentidos após 20 a 30 dias depois, já que a absorção pela pele é baixa. No entanto, após a entrada no país dos organofosforados, vários usuários vieram a falecer quando da sua manipulação, dada sua alta letalidade. O consumo de agrotóxicos varia bastante no território nacional. Seria de aproximadamente 11 kg/trabalhador/ano para a Região Sudeste, 3,1 kg/trabalhador/ano no Estado do Rio de Janeiro, mas neste mesmo Estado, na região serrana, o consumo é da ordem de 56,5 kg/trabalhador/ano. Um caso clássico de exposição a pesticidas ocasionada por deficiência na fiscalização e falta de conhecimento dos riscos envolvidos quanto a presença de um produto químico, mesmo que enterrado, é o ocorrido na região conhecida como “Cidade dos Meninos”. O local de uma antiga fábrica desativada produtora de pesticidas foi utilizado como abrigo para crianças carentes. A situação envolveu um contingente de cerca de 1000 pessoas, entre crianças, moradores e funcionários que foram expostos por um período de mais de 30 anos a estas substâncias (OLIVEIRA et al., 1995; PIMENTEL et al., 2006;

PERES e MOREIRA, 2007). A Tabela 4 a seguir apresenta a toxicidade e a persistência ambiental de alguns agrotóxicos.

Tabela 4: Toxicidade e persistência ambiental de alguns agrotóxicos (escala de 1 a 5).

Agrotóxicos	Toxicidade				Persistência no meio ambiente
	Mamíferos	Peixes	Aves	Insetos	
Permetrina	2	4	2	5	2
DDT	3	4	2	2	5
Lindano	3	3	2	4	4
Etil-paration	5	2	5	5	2
Malation	2	2	1	4	1
Carbaril	2	1	1	4	1

Fonte: Adaptado de PEREZ e MOREIRA (2007)

Segundo levantamentos feitos por ACSELRAD (2006), são produzidas anualmente no Estado do Rio de Janeiro cerca de 800 mil toneladas de resíduos industriais, dos quais 240 mil seriam tóxicos. Apenas 50% teriam algum tipo de controle pela Agência Ambiental regional. Além disso, estima-se que 24 mil indústrias funcionariam sem controle das Agências Ambientais neste Estado.

WAISSMANN (2002) faz uma revisão bibliográfica da problemática dos IE e o papel da Vigilância Sanitária (VS) brasileira. Segundo o próprio autor conclui-se que, “de abordagens centradas nos produtos e em ações cartoriais, há que se verter tanto para a análise do processo produtivo, de sua realização no consumo, na geração de contaminantes e nas alterações da saúde de trabalhadores e da população em geral” (p. 511) O autor discute “a dificuldade de avaliação do risco que representam e a suspensão da produção e uso de produtos com suas características e; a necessidade, que tais produtos exemplificam, de aprimoramento do inter-relacionamento entre todas as partes interessadas e de

transformação da VS em ambiente tecnológico de ponta, associada à academia e sob a tutela do interesse público” (p. 511). Deve-se considerar a necessidade urgente de mudanças, algumas já iniciadas no âmbito da VS, e ainda as deficiências normativas brasileiras relacionadas ao assunto.

STOPELLI (2005) buscou correlacionar o uso de defensivos agrícolas com as causas de doença em um município de São Paulo, Bariri, através dos levantamentos de casos de câncer. O resultado final do trabalho foi pela constatação de que os trabalhadores expostos a estas substâncias teriam 1,6 vezes mais chance de adoecer que os demais trabalhadores não expostos.

É importante destacar que não se trata de simplesmente tornar as leis mais duras ou mais restritivas, mas, sobretudo, aplicáveis. E a avaliação da aplicabilidade se faz através de um planejamento anterior a própria definição da lei. Um planejamento que preveja a real factibilidade de aplicação e fiscalização, que privilegie ações preventivas ou inovadoras, que incentive a busca por um ambiente sustentável não necessariamente através da punição, mas por parcerias entre os órgãos que fiscalizam e as entidades que são fiscalizadas, permitindo que ambos se aprimorem nos seus limites de atendimento e busquem saídas viáveis em prol do bem estar da sociedade. O que se sugere aqui seria uma espécie de estudo de viabilidade para antes da criação de uma lei ambiental, quanto ao seu cumprimento e reais benefícios ambientais, sociais e econômicos, além da previsão de capacidade de atendimento não apenas por aquele que deverá se sujeitar à lei, mas também pelo órgão fiscalizador, quanto a sua real capacidade de realizar a fiscalização e garantir que a lei seja efetivamente e eficazmente cumprida. A verificação da não viabilidade não implicaria na dispensa da lei, mas em um momento de reflexão sobre quais ações devem ser realizadas para que a sua aplicação seja factível, e a busca destas ações. A sociedade e sua participação são essenciais neste trabalho.

O IBAMA possui a prerrogativa, por lei, de avaliar o potencial de periculosidade ambiental de produtos químicos considerados como agrotóxicos, seus componentes e afins. Estas substâncias são classificadas quanto ao seu potencial de periculosidade ambiental, que se baseia nos parâmetros bioacumulação, persistência, transporte, toxicidade a diversos organismos, potencial mutagênico, carcinogênico e teratogênico do produto, e se dividem em quatro classes, de I a IV, que vai de produto altamente perigoso a produto pouco perigoso. É impedida a obtenção de registros de produtos que possuam características baseados nos parâmetros acima ou a não existência de métodos de desativação de componentes. Os testes a serem utilizados para tal avaliação seguem a metodologia e critérios disponibilizados pelo órgão ambiental (STOPELLI, 2005).

Em 27 de julho de 2005, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) lançou em seu site uma nota técnica que demonstrava a grande preocupação desta agência sobre o livre comércio de agrotóxicos entre os países do Mercado Comum do Sul (MERCOSUL), em relação às fragilidades detectáveis no Brasil. Segundo esta, embora o Brasil seja o 3º maior consumidor de agrotóxicos no mundo e o primeiro na América Latina, suas condições de controle sócio-sanitárias ainda são similares às de países em desenvolvimento. Conforme a Constituição Federal brasileira compete ao poder público assegurar que substâncias que adentrem o território nacional não atentem contra a qualidade de vida, à saúde e ao meio ambiente. Conforme a lei número 7.802, de 11 de julho de 1989, os setores de saúde e do meio ambiente devem atuar de modo a assegurar que qualquer produto agrotóxico não ofereça riscos. A nota técnica explana sobre a necessidade do registro como procedimento básico de controle de agrotóxicos, impedindo assim que produtos de risco inaceitável sejam produzidos, importados, exportados, comercializados ou utilizados. Conforme assevera a ANVISA, a

grande maioria dos produtos citados nas resoluções do MERCOSUL possui impurezas toxicologicamente significativas, inclusive produtos que já são proibidos ou severamente restritos quanto ao seu uso no Brasil. Verifica-se uma situação preocupante quanto aos processos fiscalizatórios e analíticos destes produtos, e as dificuldades devido à grande extensão territorial do Brasil, a diversidade dos produtos agrotóxicos, o grande número de culturas agrícolas e o alto custo para a realização de procedimentos de controle e monitoramento. Existe ainda uma preocupação quanto à Instrução Normativa 49/2002¹⁵ e da lei 10.603/2002 (BRASIL, 2002), que possibilitou às empresas a avaliação de equivalência com base nos critérios técnicos científicos internacionalmente aceitos. Neste sentido, a livre importação de agrotóxicos do MERCOSUL, ou uma “flexibilização” aquém das exigências de avaliação toxicológica ou ecotoxicológica, hoje procedidas pelo Brasil, constitui-se em um grande risco para o meio ambiente e à saúde pública, tanto dos trabalhadores expostos, quanto dos consumidores de produtos agrícolas tratados, devido à possibilidade de ser importado agrotóxicos com riscos inaceitáveis, o que pode implicar na perda de produção agrícola, agravos à saúde humana e animal, além de danos ambientais.

As principais matrizes ambientais receptoras deste tipo de poluição seriam os recursos hídricos. No Brasil, apenas em 1983, 100 milhões de kg de pesticidas foram consumidos. Algumas substâncias então utilizadas na época foram banidas a partir da implementação de legislação específica. No entanto, alguns deles ainda vêm sendo detectados no meio ambiente, inclusive na biota aquática. Alguns estudos evidenciaram a presença destes compostos em rios dos estados de São Paulo e Brasília, tanto nos peixes quanto nos sedimentos, chamando a atenção para o desafio imposto por substâncias persistentes que podem ocasionar impactos à saúde mesmo décadas após seu banimento. (PERES E MOREIRA, 2007; SILVA et al., 2008).

¹⁵Ministério da Saúde. [Acesso em 11 de mai de 2009]. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=535&word=equival%C3%Aancia>

A avaliação dos riscos inerentes aos produtos químicos utilizados no trato agrícola é complexa, principalmente diante da falta de dados que permitam o uso de técnicas específicas. Um estudo realizado para 27 pesticidas utilizados no Estado do Rio Grande do Sul demonstrou que pelo menos 19 deles ofereciam risco de contaminação para as águas de superfície e subterrâneas (CABRERA et al., 2008).

A água subterrânea e seu risco quanto aos IE dependerão da capacidade de mobilidade do mesmo ou da vulnerabilidade à exposição por parte do corpo d'água. Daí decorre a necessidade de uso efetivo das ferramentas disponíveis para proteção deste recurso hídrico, de forma preventiva. Além, é claro, do controle quanto ao uso destes compostos, verifica-se ainda a utilização indiscriminada e sem critérios dos corpos d'água subterrâneos. Existem normas que devem ser seguidas e sua aplicação deve ser cobrada pelos órgãos ambientais. Por exemplo, citamos a concessão de outorga de direito e uso, que envolve também o monitoramento sobre o encerramento do uso de um poço, evitando que este seja um meio de entrada para substâncias indesejáveis ao recurso hídrico que, após ser alcançado através da construção do poço, fica susceptível à entrada de poluição.

Do montante de pesticidas usualmente aplicados na agricultura, apenas 0,1% são efetivos contra as pragas, e 99,9% permaneceria disponível no meio ambiente para ser volatilizado, carreado, lixiviado, degradado, sorvido ou adsorvido. No Brasil, o monitoramento de corpos d'água subterrâneos ainda é incipiente, com algumas ações mais significativas no Estado de São Paulo, pela CETESB (CETESB, 2001). Mesmo assim, a lista dos pesticidas monitorados é limitada a poucos parâmetros, considerando a lista de substâncias anualmente manipuladas no território nacional e mesmo neste Estado (RIBEIRO et al.,

2007). Alguns trabalhos têm chamado a atenção para a necessidade de avaliação regional do possível impacto no uso de determinados defensivos agrícolas e os riscos inerentes para os corpos d'água subterrâneos. As grandes extensões geográficas, a variabilidade das características do solo e de suas propriedades físico-químicas, os tipos de cultura utilizados, entre outros, são fatores de risco que devem ser considerados caso-a-caso para cada aplicação destas substâncias.

Neste sentido, constata-se que o conhecimento brasileiro sobre o assunto é ainda bastante escasso, a não ser por algumas iniciativas isoladas, como por exemplo, os estudos referentes ao Aquífero Guarani, quanto ao risco de contaminação por hexazinone, realizado por QUEIROZ et al. (2009).

COELHO (2002) chama a atenção para a produção e uso de Bisfenol A no Brasil, muito utilizado em tratamentos dentários. Estudos têm encontrado esta substância na saliva de pessoas que ingerem alimentos cuja embalagem contenha esta substância ou que possuam amálgamas dentários feitos à base deste composto.

Entre os males atribuídos aos IE destaca-se o câncer no sistema reprodutivo. Levantamentos realizados há alguns anos no Brasil já chamavam a atenção para o aumento da incidência de todos os tipos de câncer, sendo que o que mais mata entre as mulheres são os cânceres de mama e de colo de útero cujos níveis são superiores ao de muitos países desenvolvidos (MENDONÇA, 1993). O aumento no número de casos de câncer de próstata em São Paulo também chamava a atenção. A evolução da mortalidade proporcional (%) por neoplasias malignas e doenças infecciosas e parasitárias, no Município de São Paulo, no período de 1930 a 1993 demonstra uma inversão no tipo mais freqüente de causa de morte. Em 1930, 39% das mortes eram causadas por doenças

infecciosas e parasitárias, e 4,2% por neoplasias malignas. Em 1993 são 3,5% e 14,4%, respectivamente, ou seja, um aumento de quase três vezes das causas de morte por câncer. As mortes causadas por câncer estão em segundo lugar, sendo em primeiro lugar as doenças do sistema respiratório (MIRRA, 1999).

BRAGA (2003) avaliou a exposição da população a partir da amostragem de leite materno em 10 áreas diferentes do país e o resultado foi comparado com outros 24 países que também fizeram parte desse estudo. O Brasil obteve as menores concentrações de dioxinas, furanos e PCBs, mas estas substâncias foram detectadas nas amostragens realizadas.

GODOI et al. (2003) relatam as concentrações detectadas de compostos organoestênicos em amostras de sedimento coletadas ao longo da costa brasileira. Estes compostos já foram testados em espécies aquáticas e tiveram confirmada a sua atuação como IE (MARTIN-SKILTON et al., 2006). Comparativamente a outros países, o Brasil apresenta concentrações significativamente altas. Os autores informam ainda que as concentrações mais altas foram detectadas em locais de maior movimento de barcos.

Outra fonte de poluição interessante é a atmosférica. O relatório da CETESB (2008) trata desta questão para a Região Metropolitana de São Paulo (RMSP), um dos maiores centros urbanos do mundo, e que conta com fontes de poluição de origem antropogênica e natural. Segundo este relatório, as fontes que se destacam são as oriundas de emissões da queima de combustíveis, dos processos industriais, da construção civil, da demolição, das indústrias processadoras de metais e petroquímicas bem como da queima de biomassa. Existem ainda as fontes móveis, ou seja, aquelas oriundas de veículos automotores que se dá através das emissões dos gases pelo cano de escapamento, entre outras. Das fontes naturais podem ser citados os incêndios

em florestas e aerossol dos corpos d'água. Dos resultados obtidos por esta Agência Ambiental entre os anos de 2000 a 2006 para amostragens realizadas na RMSP, pode-se afirmar que em termos de grandeza, a poluição particulada ultrapassa limites propostos pela EPA em até 48%, e em 100% quando comparados com os limites preconizados pela OMS. No entanto, devido às diferenças de metodologias, os dados não são diretamente ou totalmente comparáveis com estes limites orientativos, devido a frequência de medição realizada no Brasil, que foi menor. Este relatório baseia-se tão somente nas características físicas do material particulado, ou seja, quanto a suas dimensões. Seria interessante uma análise química associada a estas medições que permitisse identificar as substâncias presentes e suas concentrações.

CORREIA (2008) realizou testes com peixes na presença de alumínio em concentração igual a 0,5 mg/L em pH ácido, constatando que este metal causa interferências no sistema endócrino. Este resultado é particularmente interessante ao cruzá-lo com outras informações, tais como a característica de solos tropicais, encontrados no Brasil quanto à riqueza neste metal, conforme informa o relatório CETESB (2001). A Resolução CONAMA 357/05 (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2005) limita a concentração do alumínio dissolvido em 0,1 mg/L para águas doces classes 1 e 2, e em 0, 2 mg/L para as de classe 3. No entanto, o limite para águas salinas é de no máximo 1,5 mg/L, e o pH pode variar de 6,5 a 9,5. O relatório de qualidade das águas interiores da CETESB (2007) relata concentrações bem superiores deste metal em relação às preconizadas pela legislação, em alguns pontos de sua rede de monitoramento no Estado de São Paulo, com variações entre 1,77 e 3,48 mg/L em rios localizados no município de São Paulo, 9,06 mg/L em um rio do município de Mogi Guaçu e 1,39 mg/L em um rio do município de Itapeva. Todos estes pontos apresentaram também toxicidade.

Alguns estudos realizados no Brasil demonstraram a presença de alguns tipos de IE em efluente de ETE. O trabalho feito por TERNERS et. al (1999) evidenciou que a ETE da Penha, no Rio de Janeiro, apresentou uma capacidade média de remoção de estrona de 67%, para o efluente final tratado através de filtro biológico, e 83% para o processo de lodos ativados. No caso do 17 β - estradiol, para ambos os processos, a taxa de remoção ficou entre 92% e 99,9%, respectivamente, confirmando que o processo de lodos ativados possui melhor capacidade de remoção. A concentração destes estrógenos no afluente da ETE era em média entre 0,021 $\mu\text{g/L}$ até 0,040 $\mu\text{g/L}$. No entanto os autores não realizaram testes que visassem à avaliação do impacto da atividade estrogênica em um organismo vivo (testes *in vivo*).

GHISELLI (2006) apresentou resultados de eficiência de remoção de vários IE e fármacos em uma ETE de Campinas, São Paulo, a qual possui processo por lodos ativados, aeração prolongada e uma DBO_5 no efluente final inferior a 10 mg/L. Verifica-se que a capacidade de remoção para 17 β - estradiol, estrona e etinilestradiol é de 14,5%, 16,9% e 13,3% respectivamente. Estes resultados não são compatíveis com os encontrados em outros trabalhos para sistemas de tratamento similares, cujas remoções variaram de 78% a 99,8% para as mesmas substâncias (BILA e DEZOTTI, 2007). Além destas substâncias, outras consideradas IE pela literatura também foram detectadas neste trabalho realizado por GHISELLI (2006), as quais citamos a seguir com suas respectivas percentagens de remoção: 4-nonilfenol – 25,7%; Dibutilftalato – 88,5%; Bisfenol A – 7,9%; progesterona – 17,9%.

Tais fatos demonstram a real importância de um estudo mais aprofundado em solo nacional, avaliando-se não apenas a presença destas substâncias, mas também o potencial de dano à saúde animal, em primeira instância, através de ensaios *in vitro* e/ou *in vivo*, além das análises de identificação.

3.10. Ensaios analíticos para determinação de Interferentes Endócrinos

3.10.1. Desempenho dos métodos

Uma discussão que se faz necessária quando da necessidade de avaliar os resultados obtidos através de testes laboratoriais é quanto ao desempenho do método. Na dissertação de mestrado feita por ARAUJO (2006), a autora considera que, não obstante tenha detectado a presença de 17β - estradiol na entrada de uma ETE de Araraquara, São Paulo, o fato de esta substância não ter sido detectada no efluente final torna discutível a real eficiência da ETE, justamente pelo limite de detecção do método ser considerado alto. Esta conclusão demanda ao fim a necessidade de uso de equipamentos mais robustos e com limites de detecção menores, tais como os espectômetros de massa.

O que se deve depreender da conclusão desta autora é quanto à indiscutível necessidade de metodologias de detecção que sejam aplicáveis, eficientes e eficazes, e que efetivamente venham a fornecer dados confiáveis para futura análise. A validação do método de análise a ser utilizado deve ser realizada considerando os limites de detecção *versus* as concentrações provavelmente presentes no meio. Não se discute que um dos maiores desafios relacionados aos IE é quanto a sua presença em “traços”, ou seja, em concentrações que variam de algumas ng/L a µg/L. Desta forma, faz-se necessário um árduo trabalho preparatório da amostra, com técnicas de enriquecimento, isolamento dos compostos alvos e atingimento dos limites de

detecção e quantificação além, é claro, de equipamentos de utilização específicos e avançados (REIS FILHO et al., 2006).

O método a ser utilizado que vise à detecção de IE ou o seu potencial de estrogenicidade deve ser devidamente validado, apresentando seletividade, linearidade e faixa de aplicação, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação (Freitas apud ARAÚJO, 2005).

3.10.2. Técnicas de Bioensaio

Para iniciar este subcapítulo, transcrevemos a conclusão de GHISELLI (2006), a qual transmite com clareza a importância da aplicação de técnicas de bioensaio para IE:

Todavia, a simples presença de um determinado IE no meio ambiente não significa, necessariamente, que existe um risco a ele associado. Testes usualmente empregados para a determinação de toxicidade aguda de um dado IE tampouco são satisfatórios para a determinação da atividade endócrina do mesmo. Portanto, além do monitoramento das concentrações dos IE (...) presentes no meio ambiente, para se avaliar os riscos da exposição de organismos aquáticos a estas substâncias deve-se compreender também os mecanismos de degradação que as envolvem. Para isso deve-se recorrer aos ensaios biológicos *in vitro* e/ou *in vivo*. (p. 137)

No século XIX, foi a partir da observação do comportamento e das reações de animais e plantas no contato com contaminações da natureza, particularmente

da água, por produtos químicos, que se passou a considerar o emprego de organismos como indicadores de impactos ambientais, surgindo assim o termo “toxicologia de peixes” (PENNY e ADAMS, 1863 citado por KNIE e LOPES, 2004). Paulatinamente, propagou-se a idéia de utilizar para o controle da qualidade de ecossistemas, principalmente dos aquáticos, os seus próprios membros. Depois de anos seguidos de pesquisas e experiências com inúmeros organismos vegetais e animais, com a finalidade de encontrar as espécies mais indicadas para espelhar as realidades ecológicas, muitas espécies se mostraram potencialmente aptas para o monitoramento ambiental biológico.

Comprovou-se também que a reação – a sensibilidade das espécies isoladas – varia muito entre os diferentes grupos taxonômicos perante as mesmas substâncias químicas ou amostras ambientais. Igualmente, dentro do mesmo táxon existem diferenças consideráveis de sensibilidade entre as diversas espécies. Em meados da década de 50, vários países, como Alemanha, Estados Unidos, França e Inglaterra começaram a selecionar dentro do ponto de vista ecossistemático representantes típicos dos grupos mais importantes da biocenose aquática, levando em consideração os diferentes níveis tróficos. Alguns aspectos práticos foram levados em conta para definir as espécies, como facilidade de manejo e da cultura dos organismos em laboratório, por exemplo. Os critérios decisivos da escolha das espécies foram, sobretudo, as boas experiências com seu manuseio e a sua importância na cadeia alimentar, bem como a sua ampla disseminação e fácil disponibilidade. Ao mesmo tempo foram desenvolvidos e continuamente aperfeiçoados procedimentos técnicos e metodológicos nesses países, a fim de facilitar e garantir a aplicação uniforme dos bioensaios e sua divulgação.

Em princípio, os métodos de teste elaborados naquela época valem até hoje para os biotestes que ainda são usados. Ao longo dos anos, os métodos

somente foram adaptados e modificados em relação a novos conhecimentos. Os testes com esses organismos foram normalizados nos respectivos países de origem, logo após terem sido implementados. Depois, foram também padronizados internacionalmente, por exemplo, pela OECD e pela ISO (*International Organization for Standardization*). Essa circunstância se reveste de maior importância, pois a harmonização dos bioensaios possibilita a aplicação uniforme dos métodos de teste mundialmente, assegurando resultados comparáveis entre os diversos laboratórios (KNIE e LOPES, 2004).

Métodos biológicos utilizando linhagens celulares e os ensaios de ADN são apontados na literatura como alternativas ao monitoramento de atividade interferente. Do ponto de vista analítico, os métodos mais adequados para monitoramento dos IE em amostras ambientais incluem, genericamente, métodos biológicos e de separação. Entre os primeiros destacam-se principalmente os imunoensaios, cujo princípio é a produção de anticorpos e/ou ligação a receptores que se liguem específicos para as substâncias que apresentam atividade estrogênica. Com o intuito de análise em amostras ambientais, têm-se desenvolvido inúmeros anticorpos e receptores específicos para os mais diversos tipos de poluentes químicos, com elevada rapidez de resultado (NOGUEIRA, 2003).

EERTMANS et al. (2003) fazem uma revisão das metodologias existentes para análise de IE. Os bioensaios *in vitro* são necessários para identificação de novos interferentes endócrinos e para elucidar seus mecanismos de funcionamento. Estes ensaios em geral são bastante sensíveis e altamente específicos. Entretanto, existe a limitação quanto a extrapolar o resultado para seres vivos, e também a possibilidade de “falso negativo”, dada a complexidade dos eventos que envolvem o teste. Os testes *in vivo* são então mais “confiáveis” ou precisos que os primeiros. Alguns dos testes existentes são:

- ❖ Testes para mensurar a afinidade do IE com o receptor celular do hormônio, tais como os receptores de estrógenos α e β e os receptores de andrógenos. As principais limitações deste teste são a impossibilidade de fornecerem informações relativas à atividade hormonal, não sendo capazes de discriminar entre as ações agonísticas e antagônicas provocadas por um IE (Branham et al. apud EERTMANS et al., 2003);
- ❖ O ensaio *E-Screen* baseiam-se na linhagem celular MCF-7 de adenocarcinoma de mama humano, cuja proliferação ocorre em resposta a presença de estrógenos ou agentes ativadores de estrógenos. Trata-se de um ensaio de alta responsividade e sensibilidade para análise de estrogenicidade. Estes ensaios são capazes de distinguir entre estrógenos agonistas e antagonistas. Sua limitação se dá na presença de substâncias tóxicas, e sua variabilidade de resultados em testes inter e intralaboratoriais é alta, o que sugere uma grande incerteza metodológica (Lippman, Shafie et al., Soto, Rasmussen et al., apud EERTMANS et al., 2003).
- ❖ Ensaios de expressão genética, os quais medem a indução da transcrição genética após a ativação do hormônio receptor. Estes ensaios utilizam linhagens celulares de mamíferos ou leveduras, que possuem um gene de “informação”, como por exemplo, a luciferase, e um elemento de resposta hormonal. A luciferase, a partir da transcrição e da metabolização de um substrato específico, desenvolve uma cor, e a concentração pode então ser medida por um espectrofotômetro. Possui resultado estável, é de fácil uso, entre outras vantagens, mas é susceptível a substâncias tóxicas (Hoogenboom et al., Arnold et al., Gaido et al., McDonnell et al., Metzger et al. e De Boever et al., apud EERTMANS et al., 2003).

Os bioensaios *in vivo* complementam as informações dos bioensaios *in vitro*, por serem mais abrangentes quanto à resposta obtida. Entre os ensaios existentes, temos:

- ❖ Ensaio uterotrófico de três dias com roedores fêmeas, introduzido na década de 30, é uma análise básica para avaliar a atividade (anti-) estrogênica de substâncias químicas, os quais podem induzir uma série de efeitos deletérios a alguns órgãos, como útero e ovários. Os animais recebem injeções subcutâneas por três dias consecutivos, após o que são sacrificados e examinados;
- ❖ Ensaio de Hershberger de 5-7 dias com roedores machos, o qual mede a atividade (anti-) androgênica de substâncias químicas. A análise é voltada para a próstata e vesículas seminais (Hershberger et al. apud EERTMANS et al., 2003);
- ❖ Ensaio com roedoras fêmeas jovens (vinte dias), para detectar atividade estrogênica e da tireóide em fêmeas imaturas expostas a IE na puberdade; O ensaio examina anomalias associadas ao desenvolvimento dos órgãos sexuais e características sexuais secundárias (Gray et. al., apud EERTMANS et. al., 2003);
- ❖ Ensaio em roedor macho jovem (vinte dias), baseado no mesmo princípio para o ensaio de fêmeas jovens (Gray et. al., apud EERTMANS et. al., 2003);
- ❖ Ensaio de reprodução de peixes (ensaio de quarenta dias), usado para testar efeitos estrogênicos e androgênicos de IE. Peixes adultos, maduros e ativos são expostos a substâncias químicas por vinte e um dias. O ensaio examina anormalidades associadas à sobrevivência, comportamento reprodutivo, fecundidade, entre outros associados a interferências no sistema endócrino;
- ❖ O ensaio da metamorfose de rãs tem por base a avaliação da absorção de girinos e alterações do hormônio tireoidiano. Este ensaio é capaz de refletir

efeitos na tireóide de seres humanos (Yaoita et al. e Tietge et al. apud EERTMANS et al., 2003).

- ❖ Bioensaios para indução ou inibição de vitelogenina em vertebrados e invertebrados, através da exposição à IE. Este teste tem sido amplamente utilizado em testes científicos. Seus resultados são limitados quanto a eficiência para algumas espécies capazes de metabolizar determinados IE, mas é uma alternativa interessante para a determinação de ação de IE em ambientes aquáticos (MARIN e MATOZZO, 2004). Não se verifica na literatura uma padronização quanto ao período a ser aplicado para cada espécie.

Conforme pode ser constatado existem ainda lacunas a serem preenchidas e a necessidade de novos bioensaios capazes de modelar os efeitos dos IE no eixo hipotálamo-pituitária-gônadas, o qual exerce papel preponderante no desenvolvimento e funcionamento do sistema reprodutor. Novas metodologias vêm sendo estudadas visando obter alternativas de ensaios com menores custos, igualmente confiáveis e mais abrangentes. Alguns trabalhos científicos trazem métodos de detecção diferentes dos comerciais disponibilizados no mercado e que têm apresentado resultados promissores (CRAIK e HARVEY, 1984; GILLESPIE e PEYSTER, 2004; FALFUSHYNSKA e STOLYAR, 2009).

Pesquisas em que metodologias de análises *in vivo* e *in vitro* foram feitas para a mesma amostra demonstraram que a análise *in vitro* pode subestimar o potencial de interferência endócrina existente na amostra. Além disso, dadas as características dinâmicas e cinéticas dos IE em organismos vivos, os testes *in vitro* acabam sendo bastante limitados para algumas respostas que se deseja obter a respeito dos mecanismos em que ocorrem os impactos no sistema endócrino (GREIM, 2004; VAN DEL BELT et. al, 2004; CLODE, 2006; CARGOUËT et al., 2007).

Obviamente o método *in vivo* não possibilita a identificação do IE atuante, mas são considerados mais rápidos, sensíveis, específicos, apresentam limites de detecção relativamente baixos, da ordem de 0,1 ppb e por vezes menos onerosos (VILLENEUVE et al., 2002; NOGUEIRA, 2003; MARIN e MATOZZO, 2004). Os testes *in vitro* são capazes de fornecer uma medida de ação direta, por exemplo, no 4-nonilfenol, mas são ineficientes para modelar efeitos potenciais indiretos na homeostase endócrina no organismo como um todo, considerando que as trocas entre tecidos do sistema endócrino e nervoso não foram adequadamente modelados nestes testes, ainda (Stokes e Marafante apud VILLENEUVE et al., 2002).

Para chegar à identificação do(s) IE(s) utilizam-se métodos de separação com particular incidência para as técnicas cromatográficas e extração por fase sólida (NOGUEIRA, 2003; AGÜERA et. al, 2004; CHALER et. al, 2004; SOLIMAN et al., 2004; LIU et al., 2004; BILA e DEZOTTI, 2007). Mesmo estes métodos não são considerados compatíveis com a necessidade quanto ao tempo de resposta e ao número e grupo heterogêneo que compõe os IE. Num futuro próximo, se aposta na combinação de métodos biológicos, através de ensaios de imunoextração que consistem no isolamento seletivo de classes restritas de IE (NOGUEIRA, 2003).

As estratégias de monitoramento e avaliação dos efeitos dos IE são genericamente baseadas na combinação de estudos de curto prazo que incluem a identificação da atividade estrogênica *in vitro*, com estudos de longo prazo que incluem a identificação e pesquisas dos efeitos da atividade estrogênica *in vivo* e conseqüentemente, a avaliação do potencial de risco humano. Portanto, recomendam-se ambos os testes, sendo que o *in vivo* é capaz de indicar a

presença de outras substâncias que algumas vezes são de difícil detecção e identificação (VAN DEL BELT et. al, 2004; SHILLING e WILLIAMS, 2000).

3.10.2.1. Testes para a proteína Vitelogenina

A lipoproteína Vtg é encontrada em espécies ovíparas, normalmente em fêmeas adultas, e é sintetizada pelo fígado a partir da indução por estrógenos, a qual coincide com o desenvolvimento do oócito. Sua detecção indica o momento de maturidade sexual nas fêmeas, através de análise do plasma sanguíneo. Esta proteína serve como alimento na fase de desenvolvimento do embrião. A literatura científica mundial apresenta vários estudos onde é possível comprovar a ação dos IE através da liberação ou inibição da síntese da Vtg, nas mais variadas espécies, vertebrada ou invertebrada, em machos e fêmeas (MARIN e MATOZZO, 2004; JOBLING et al., 2004).

A concentração anormal da Vtg em peixes vem sendo utilizado como um indicador para a detecção de estrogenicidade ou mesmo inibição da formação de Vtg (GIMENO et al, 1998a, GIMENO et al., 1998b; SHILLING e WILLIAMS, 2000; HAHN et al., 2002; SOLÉ et al., 2002; VILLENEUVE et al., 2002; HENNIES et al., 2003; PORTER e JANZ, 2003; SOLÉ et al., 2003a; SOLÉ et al., 2003b; VAN DEL BELT et al., 2003; DENSLOW et al., 2004; HEMMING et al., 2004; JOBLING et al., 2004; LAVADO et al.; 2004; LAZORCHAK e SMITH, 2004; ME CARBALLO et al., 2005; DINIZ et al., 2005; DINIZ et al., 2005a; DORABAWILA e GUPTA, 2005; LETCHER et al., 2005; MA et al., 2005; MATOZZO e MARIN, 2005; ANDERSEN et al., 2006; HINCK et al., 2006; HOLBECH et al., 2006; MITCHELMORE e RICE, 2006; PETTERSSON et al., 2006; REMPEL et al., 2006; TOKISHITA et al., 2006;

ANDERSSON et al, 2007; BARSE et al., 2007a; BARSE et al., 2007b; CARGOUËT et al., 2007; FOSSI et al., 2007; GAGNÉ et al., 2007; HINCK et al., 2007; KRISTENSEN et al., 2007; Lv et al., 2007; MANDICH et al., 2007; TADA et al., 2007; REIS, 2008).

Existem vários ensaios diretos e indiretos, como o imunoensaio ELISA, radio-imunoensaios, determinação de VgmRNA por estratégias de hibridização do ADN, entre outras, as quais envolvem custos, tempo e tecnologia consideráveis para sua realização (MARIN e MATOZZO, 2004).

Em geral os métodos são específicos para determinadas espécies, não sendo aplicáveis em outras. As diferenças se dão principalmente quanto ao método de purificação da vitelogenina, os limites de detecção dada à variabilidade intrínseca à espécie quanto aos níveis de Vtg máximos e mínimos, entre outras. Os métodos cromatográficos usualmente dispendem tempo e são aplicados em etapas que podem causar incerteza nos resultados finais (MAGALHÃES et al., 2004).

O teste com kit ELISA vem sendo utilizado por vários pesquisadores para a detecção de IE (SHILLING e WILLIAMS, 2000; HENNIES et. al, 2003; HAHN et. al, 2002; MYLCHREEST et al., 2003; LAZORCHAK e SMITH, 2004; MATOZZO e MARIN, 2004). Várias pesquisas vêm sendo feitas para o aprimoramento da metodologia de detecção através de concentrações de Vtg, em várias espécies animais (SHILLING E WILLIAMS, 2000; KIM e TAKEMURA, 2001; CHIKAE et. al., 2002; MYLCHREEST et. al., 2003; BALCH et. al., 2004; BEEUMEN et. al, 2004; GUTZEIT et. al, 2004; MAGALHÃES et al., 2004; REIS, 2008). Outra metodologia muito utilizada é a extração da Vtg do plasma sanguíneo e sua análise por cromatografia (HENNIES et. al., 2003).

Com relação à sensibilidade da metodologia, reconhece-se que esta vai depender do tipo de teste efetuado e da espécie animal utilizada. Recomenda-se, portanto o uso de grupos de controle – que não tenham contato com o meio em estudo e estejam isentos da presença de interferentes endócrinos – para validação do método final. É importante notar que algumas espécies não são tão sensíveis a determinadas concentrações de IE quanto à indução de Vtg (MAGALHÃES et al., 2004; HOLBESH et al, 2006).

Alguns estudos realizados com peixes que vivem em ambientes receptores de efluentes de ETE demonstraram que, dependendo do fator de diluição no meio e da qualidade do efluente podem-se constatar alterações no sistema endócrino (SHILLING e WILLIAMS, 2000; PORTER e JANZ, 2003; DINIZ et al., 2005; MA et al, 2005). O tempo de indução da Vtg, em geral, variou entre 24 horas até vários dias ou meses, dependendo do tipo de meio de contato, se natural ou sintético, e das espécies estudadas entre outros fatores. (SHILLING e WILLIAMS, 2000; MATOZZO e MARIN, 2004). SHILLING e WILLIAMS (2000) em seu estudo com trutas verificaram que 48 horas de contato resultaram em significativa quantidade de Vtg no plasma de peixes machos, chegando ao ápice após 96 horas de contato.

Adicionalmente à análise de Vtg testes fisiológicos vêm sendo conduzidos para avaliação do espectro do impacto dos IE.

Trabalhos realizados com a espécie *Cyprinus Carpio* foram conduzidos por diversos autores, com resultados satisfatórios quanto a sua sensibilidade à ação de IE (GIMENO et al.,1998a; GIMENO et al.,1998b; VILLENEUVE et al.,2002; SOLÉ et al., 2003, MA et al., 2005; MITCHELMORE e RICE, 2006; BARSE et al., 2007; MANDICH et al., 2007)

3.10.2.2. A carpa comum (*Cyprinus carpio*)

Cyprinus carpio é o nome científico da carpa conhecida como “carpa comum”. Pertence ao Reino *Animalia*, Filos *Chordata*, Classe *Actinopterygii*, Ordem das *Cypriniformes* e Família *Cyprinidae*.

Sua origem é asiática, e foi introduzida no Brasil, no Estado de São Paulo, em 1904. É um peixe de água doce e de reprodução sexuada, bastante resistente, tolerante a baixos níveis de oxigênio dissolvido, variações na temperatura, se reproduz em cativeiro e é onívora. Em sua forma selvagem a carpa comum seria cor de oliva na parte superior (dorso) e amarelada dos lados e na barriga, mas a existência de vários híbridos amplia essa gama de cores para várias diferentes. Pode atingir entre 30 e 60 cm de comprimento, e pesar de 0,5 a 4 kg, ou até mais. A carpa possui uma espinha dorsal serrilhada, com escamas grandes e grossas. São encontradas em rios e lagos fundos, de pouca correnteza e com fundos barrentos ou arenosos¹⁶.

¹⁶Instituto horus. [Acesso em 15 de fev de 2009]. Disponível em: www.institutohorus.org.br

Materiais e métodos

4. Materiais e métodos

O desenvolvimento do trabalho experimental envolveu duas grandes etapas: amostragem em campo e as análises laboratoriais. As amostragens de água em campo tiveram por objetivo a coleta de um volume suficiente de amostra para a manutenção dos peixes para o teste *in vivo*.

O trabalho seguiu um cronograma de execução, dividido em duas sub-etapas analíticas, quanto aos testes *in vivo*:

1ª etapa – testes com a água do Reservatório do Guarapiranga, São Paulo, por 7 dias, em regime estático.

2ª etapa – testes com a água da ETE Barueri, SP, por 24 horas, em regime estático.

Os testes foram realizados no Laboratório Central da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP), situado na Zona Norte da cidade de São Paulo. O período de testes ocorreu entre os dias 17 de março e 1 de abril de 2009.

4.1. Pontos de amostragem

A ETE Barueri é operada pela SABESP, e o Reservatório Guarapiranga é utilizado por esta mesma companhia para captação e tratamento da água. Ambos os sistemas possuem características importantes que acabaram por despertar interesse nesta pesquisa, conforme será elucidado a seguir.

A SABESP é a maior concessionária de saneamento básico do Brasil. É uma empresa de economia mista, de capital aberto, e que tem como principal acionista o Governo do Estado de São Paulo. É uma concessionária de serviços sanitários, responsável pelo planejamento, construção e operação de sistemas de água e esgoto (doméstico e industrial) em 366 municípios paulistas. Sua matéria-prima é a água, o que leva a uma implicação direta com o meio ambiente e a saúde. A empresa realiza seu próprio controle e monitoramento tanto da água captada até a sua distribuição, quanto dos efluentes de esgoto de suas ETE, através de laboratórios próprios acreditados por normativas específicas, e é ainda fiscalizada pelos órgãos ambientais.

A ETE Barueri (Figura 8) é a maior planta de tratamento de esgotos da América Latina, e daí o interesse em avaliar a qualidade do seu tratamento, assim como seus possíveis impactos ao meio ambiente. Localiza-se na divisa no município de Barueri, SP. Teve seu início de operação em 1988, e atende a uma população de 4,4 milhões de habitantes da RMSP: a maior parte da cidade de São Paulo, além de Jandira, Itapevi, Barueri, Carapicuíba, Osasco, Taboão da Serra e partes de Cotia e Embu. O efluente final é lançado no Rio Tietê.

O processo de tratamento é por lodos ativados, do tipo convencional e em nível secundário, com grau de eficiência de 90% de remoção de carga orgânica medida em DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio). Os esgotos são transportados para a estação através de um sistema de esgotamento constituído por interceptores, sifões, travessias, emissários, totalizando 73 km de extensão com diâmetros entre 0,60 m e 4,50 m.

A vazão média de tratamento atual é de cerca de 7 mil litros por segundo, e a vazão média de projeto é de 9,5 mil litros por segundo, conforme informa a

SABESP, em seu site¹⁷. Em 1985, na Revisão e Atualização do Plano Diretor de Esgotos da RMSP - COPLADES, a vazão máxima planejada foi reduzida de 63 para 28,5 m³/s e cada módulo teve sua capacidade máxima recalculada. O módulo existente foi então adequado e hoje apresenta capacidade nominal de 9,5 m³/s (vazão média).

Figura 8: Imagem aérea da ETE Barueri.

Extraído de: Google Earth ®

Os processos unitários são compostos de:

- ❖ Unidades de fase líquida: poço distribuidor e elevatória final, grades médias mecanizadas, caixas de areia, decantadores primário, tanque de aeração e decantadores secundários;

¹⁷ www.sabesp.com.br

- ❖ Unidades de fase sólida: adensadores por gravidade, adensadores por flotação, digestores, condicionamento químico dos lodos e desidratação mecânica;
- ❖ Sistemas de apoio: edifício dos compressores, gasômetro/queimadores, edifício das caldeiras, sistema de água de utilidades e sistema elétrico.

A Represa Guarapiranga (Figura 9) é uma barragem brasileira situada na região sul da RMSP, no estado de São Paulo.

Figura 9: Foto área da Represa Guarapiranga.

Extraído de: Google Earth ®

Inaugurada em 1908, sua finalidade era, originalmente, atender às necessidades de produção de energia elétrica na Usina Hidrelétrica de Parnaíba. Atualmente é utilizada como fonte de abastecimento de água potável para a RMSP através da SABESP. Também é utilizada, além do controle de cheias, como local de esportes e lazer, em que se destaca a importância nos esportes de vela, tendo vários clubes de iatismo no seu entorno, como o Yacht Club Santo Amaro, berço de vários campeões. Este Reservatório apresenta um complexo sistema de abastecimento: além dos mananciais que a abastecem naturalmente, tais como o rio Guarapiranga e outros rios e córregos de menor porte, abrangendo áreas dos municípios de São Paulo, Itapeverica da Serra e Embu-Guaçu, também recebe o aporte das águas do Reservatório Billings, através da transposição das águas do Braço do Taquacetuba. Possui ainda a reversão do Rio Capivari através do Rio Embu.

Quanto à situação ambiental da Represa, é importante destacar a problemática do uso e ocupação solo locais, com aumento da população que vive ao redor em quase 40% apenas entre os anos de 1991 a 2000, a qual é estimada em cerca de 800 mil pessoas. O acesso à coleta e tratamento de esgotos é escasso e a SABESP possui planos de ampliação dos níveis de tratamento para os próximos anos.

A produção média de água potável aduzida deste Reservatório é de 14 m³/s, e a ETA atende a cerca de 3,7 milhões de pessoas. O processo de tratamento ocorre na ETA Alto da Boa Vista, (ETA ABV), localizada no município de São Paulo (Figura 10). O tratamento de água pode ser considerado avançado, já que além dos processos comuns de floculação, decantação, filtração e desinfecção, o mesmo possui a adição de carvão ativado em pó e permanganato de potássio.

Figura 10: Foto área da ETA ABV.

Extraído de: Google Earth ®

4.2. Métodos de análise

A metodologia de testes baseou-se nas referências encontradas em textos técnicos científicos para a determinação de variação de nível de concentração de Vtg em peixes machos da espécie *Cyprinus carpio*.

Foi utilizado o kit ELISA, fabricado pela *Biosense Laboratories*, número de referência: V01003401, para análise em carpas (*Cyprinus carpio*) e quantificação da concentração de Vtg. O kit utilizado foi de placas com 98 poços, e os limites

de detecção variam entre 0,98 a 125 ng de Vtg por mL. Segundo o fabricante o kit foi desenvolvido dentro dos testes padronizados pela OECD, e é utilizado em testes ecotoxicológicos no mundo todo¹⁸. A metodologia seguida foi a disponibilizada no manual junto ao kit.

O princípio do ensaio é a utilização de ligações específicas entre anticorpos e a Vtg, visando quantificá-la. Os poços presentes nas microplacas foram pré-revestidas com anticorpo de captura específico o qual liga-se à Vtg presente na amostra e nos padrões. Um anticorpo de detecção da Vtg é então adicionado, criando uma espécie de “sanduíche” com a Vtg e o anticorpo primário. Estas ligações são então detectadas com a enzima lábil do anticorpo secundário. A atividade enzimática é determinada através da adição de um substrato capaz de produzir cor, e a intensidade desta coloração é proporcional à quantidade de Vtg presente.

A quantificação da Vtg se faz através da passagem de padrões com valores de concentração conhecidos, e da elaboração de uma curva de calibração. Esta fase é relativamente rápida, pois se faz em equipamento de alta velocidade. A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro equipado com leitor de microplacas, em 492 nm. Para a quantificação dos resultados foi elaborada uma curva de calibração com os padrões fornecidos pelo kit e cuja concentração é conhecida. A absorbância, a correção e as concentrações a partir das diluições realizadas foram automaticamente calculadas pelo software do equipamento.

Para o processo analítico ainda são necessários outros equipamentos, tais como incubadora e micropipetas dosadoras. Os equipamentos utilizados foram:

- Espectrofotômetro Multiskan EX ® fabricado pela Labsystems (Figura 14).
- Centrífuga (Força: 1.380xG);

¹⁸ <http://www.biosense.com/comweb.asp?articleno=29&segment=3>

- Incubadora a seco;
- Micropipetas de 100 μ L e 1000 μ L, calibradas.

Alguns cuidados são de extrema importância durante a manipulação deste kit, relativos à segurança pessoal, tais como o uso de luvas e avental para evitar contato com as substâncias que são potencialmente cancerígenas.

4.2.1. Obtenção e manutenção dos peixes

As carpas foram obtidas junto a um distribuidor da cidade de Igaratá, São Paulo (Piscicultura Boa Vista¹⁹). Os peixes foram separados por especialistas (veterinário, biólogo) para atender aos requisitos necessários para os testes, ou seja, peixes machos com presença de maturidade sexual. A diferenciação foi feita através da constatação de líquido semiótico.

Todos os peixes foram alimentados com ração para carpas, adquirida no comércio local. Nos aquários foi bombeado oxigênio para garantir o nível de oxigênio dissolvido. Foi mantida a temperatura ambiente, entre 20°C e 25°C, e fotoperíodo de 12/12 horas. Os peixes foram previamente aclimatados por dois a seis dias antes de serem colocados nas águas de teste. Também foram observados ao longo de todo o período e não foram observados sinais de estresse nos peixes testados, tais como os citados por CORREIA (2008): agitação, descamação, falta de apetite ou agressividade. O volume da amostra do efluente diluído ou de água em que foram mantidos foi de aproximadamente 5 litros para cada peixe, ou seja: 20 litros para o teste da ETE (4 peixes), 20 litros

¹⁹ www.pisciculturaboavista.com.br

para o teste da água da Represa Guarapiranga (4 peixes), e em um aquário maior de 80 litros com água mineral, mantidos no período de aclimação (12 peixes).

Figuras 11 e 12: Um dos aquários em que foram mantidas as carpas para teste e material de teste.

Extraído de: Arquivo fotográfico da autora.

4.2.2. Coleta das amostras de água e efluente

A amostragem da água da Represa Guarapiranga foi realizada no ponto de amostragem existente dentro do Sistema Guarapiranga, dependências da SABESP. A água da Represa é bombeada para uma estação elevatória a qual permite um pré-tratamento com produtos químicos, antes de ir para a planta de tratamento. A amostragem se deu antes da adição destes produtos químicos. A amostra do efluente da ETE Barueri ocorreu no canal do efluente, também dentro das dependências da SABESP.

Ambas as amostras foram acondicionadas em galões de água mineral e preservados com gelo, a aproximadamente 4 °C. Seu uso nos testes se deu algumas horas após a coleta.

O teste realizado foi do tipo estático, ou seja, não houve passagem de água corrente pelos aquários e nem troca de água, visando evitar estresse dos animais e variações na qualidade das amostras em teste.

4.2.3. Ensaios realizados

Os ensaios foram divididos em três grupos:

- a) Grupo 1, peixes para “Controle” ou branco – mantidos em água mineral;
- b) Grupo 2, “Manancial” – 4 peixes que ficaram em contato direto com a água bruta ou *in natura* da Represa Guarapiranga;
- c) Grupo 3, “ETE” – 4 peixes que ficaram em contato com o efluente final da ETE Barueri.

Não se observa na literatura uma padronização para o tempo máximo ou mínimo de exposição de peixes para avaliação de interferência endócrina. Grande parte dos testes variam entre 28 dias a 3 meses, tratando-se portanto de testes ecotoxicológicos para observação de efeitos crônicos. Para os testes realizados foram adotadas como premissas que (1) o tempo de exposição deveria reproduzir minimamente a situação real encontrada no meio ambiente e, (2) dada a potencial agressividade do meio, devido às características das amostras, os testes deveriam se realizar no menor tempo possível, evitando-se desta forma mortandade entre os peixes, já que o objetivo principal do trabalho era a análise do plasma

sanguíneo para detecção de variação dos níveis de Vtg. Por isso, adotou-se como tempo de exposição para a amostra da ETE 24 horas e para a amostra da Represa Guarapiranga, 7 dias.

Para a amostra do efluente da ETE, no que diz respeito à diluição e ao período de exposição utilizado, levou-se em conta que a vazão do Rio Tietê a 1,2 km da ETE Barueri variam entre 38 a 107 m³/s, segundo dados do “Projeto Tietê”, link vinculado ao site da SABESP para o ano de 2007²⁰. Daí se deduz que a vazão de efluente da ETE Barueri, de 7 m³/s é ínfima em determinados períodos do ano em relação a vazão média anual do Rio Tietê, sendo a pluma de dispersão relativamente pequena. A diluição inicial deste efluente para a água no período de menor vazão é de aproximadamente 1:5, enquanto o de maior vazão seria de aproximadamente 1:15, dentro do histórico disponível.

Apesar de a menor diluição observada ser de 1:5 optou-se por tornar o meio um pouco mais agressivo, e foi utilizada a diluição 1:3, retratando uma situação de exposição menos favorável do que a provavelmente observada no meio. Dados da literatura confirmam a detecção de efeitos estrogênicos em peixes carpa machos expostos a efluente com concentração a partir de 5% (DINIZ et al, 2005a).

Já para os peixes expostos à água da Represa Guarapiranga, avaliou-se que a mesma não ofereceria ambiente tão inóspito. Portanto, o tempo de exposição foi maior, de sete dias consecutivos.

Optou-se pela análise do plasma do sangue dos peixes, embora o kit permita a utilização do corpo todo, devidamente preparado e homogeneizado.

20

http://www2.sabesp.com.br/projetotiete/monitoramento/ago08/ponto_ti_08_13_Campanhas2007.htm

Quando da coleta do sangue, os peixes foram anestesiados. O volume de sangue retirado variou entre 3 mL e 5 mL, retirado da veia caudal, com seringas contendo solução de heparina sódica. As amostras foram envasadas em tubos de coleta de sangue à vácuo, com gel separador de soro e plasma, (Figura 12) as quais foram mantidos conservadas em gelo até centrifugação. A centrifugação ocorreu a 2.000 rpm por 5 minutos. A seguir as amostras foram congeladas a -20°C e as análises foram realizadas no dia seguinte à amostragem. Após a extração os peixes foram sacrificados.

4.2.4. Leitura das amostras de plasma sanguíneo – aplicação do kit ELISA

As amostras de plasma foram descongeladas para preparo das diluições, as quais foram de 1:50, 1:5.000 e 1:500.000, com duplicatas para cada amostra, conforme recomendado pelo Manual do kit. Os padrões foram preparados para concentrações entre 250 ng/L e 0,24 ng/L, perfazendo um total de 11 diluições (Figura 13).

Os passos para realização do ensaio são descritos a seguir:

1. Preparo dos padrões e amostras (diluições) e aplicação em duplicatas na microplata e incubação por 1 hora a 37°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$);
2. Incubação com o anticorpo de detecção: adição do anticorpo de detecção aos padrões e amostras e incubação por 1 hora a 37°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$);
3. Incubação com o anticorpo secundário: adição do anticorpo secundário aos padrões e amostras e incubação por 1 hora a 37°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$);

4. Adição do substrato aos padrões e amostras, incubação por 30 minutos no escuro (protegido com papel alumínio) em temperatura ambiente;
5. Encerramento da reação através da adição de 50 μL de H_2SO_4 em cada poço;
6. Leitura dos padrões e amostras em absorbância a 492 nm (Figura 14).

Figuras 13 e 14: Material de teste e equipamento de leitura com microplacas e amostras já prontas para serem lidas.

Extraído de: Arquivo fotográfico da autora.

Resultados e Discussão

5. Resultados

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 5 e referem-se à diluição 1:50. As concentrações de vitelogenina (Vtg) no plasma dos peixes amostrados, nas diluições 1:5000 e 1:50.000 ficaram abaixo do limite de detecção do kit, exceto para uma das amostras da ETE, o qual foi considerado anômalo, já que não se confirmou na duplicata. No entanto, foi apresentado na Tabela 5. O coeficiente de correlação obtido para a curva dos padrões foi $R^2 = 0,993$, o que atende ao valor mínimo requerido pelo método, de $R^2 \geq 0,99$. A curva de calibração encontra-se disponível no Anexo 1.

A concentração de Vtg detectada no grupo de controle variou entre 11.100 ng/mL e 20.000 ng/mL, enquanto que nas carpas expostas ao efluente da ETE e da Represa Guarapiranga, as concentrações máximas detectadas foram de 18.200,00 ng/mL e 21.650,00 ng/mL, respectivamente. Os resultados encontram-se no Anexo 2.

Comparativamente aos dados da Tabela 6, as concentrações detectadas de Vtg para os peixes controle foram um pouco maiores do que os encontrados na literatura científica. No entanto ficaram claramente muito abaixo das concentrações esperadas para o caso de exposição a Interferentes Endócrinos (IE), mesmo para os peixes testados. Os resultados demonstram que as amostras testadas não apresentam potencial de estrogenicidade para a espécie de peixe testada, no caso, *Cyprinus carpio*.

A partir destes resultados é possível afirmar que, não obstante as amostras analisadas, tanto da água da Represa Guarapiranga quanto a do efluente da ETE

de Barueri possam apresentar dissolvidas substâncias que não foram foco de análise deste estudo, e eventualmente sejam consideradas IE, as mesmas não se encontravam na forma ativa capaz de causar efeitos estrogênicos nos peixes testados, no período de tempo em que ocorreu o teste.

Tabela 5: Resultados das análises de Vitelogenina nos grupos de controle, ETE Barueri e Represa Guarapiranga.

Matriz	Diluição do plasma	Dup. 1 – ng de Vtg por mL	Dup. 2– ng de Vtg por mL	ng de Vitelogenina por mL (média)
ETE	1/50	2.088	2.025	2.056
ETE	1/50	18.300	18.100	18.200
ETE	1/50	16.100	17.000	16.550
ETE	1/5000	5.076*	nd	-
ETE	1/50	2.046	2.060	2.053
REP	1/50	127	356	241
REP	1/50	7.755	7.831	7.793
REP	1/50	22.000	21.300	21.650
REP	1/50	7.498	7.713	7.606
CONTROLE	1/50	11.100	nd	11.100
CONTROLE	1/50	19.400	20.640	20.200

Fonte: Da autora.

Notas:

nd: não detectado

* Resultado considerado anômalo por não ter se confirmado na duplicata.

5.1. Discussão dos resultados

Para efeito de avaliação e comparação dos resultados obtidos, foi compilada a Tabela 6 a seguir, com dados da literatura para as concentrações de Vtg tipicamente detectadas em peixes machos da espécie *C. Caprio*, expostos e

não expostos a IE que possam induzir à estrogenicidade. As concentrações de Vtg detectadas no plasma sanguíneo dos peixes amostrados no presente trabalho apresentaram-se relativamente altos quando comparados aos dados da literatura para peixes da mesma espécie e machos, mas estão bem abaixo das concentrações detectáveis em peixes fêmeas para a mesma espécie. Além disso, permaneceram aproximadamente dentro da faixa das concentrações de Vtg detectadas nos peixes controle. Consideram-se estes dados adequados já que se trata de ensaio biológico e que os teores de concentração de Vtg não são conhecidamente padronizados para peixes machos. Em geral, faz-se uma comparação com peixes de controle do mesmo gênero, ou entre peixes machos e fêmeas e as magnitudes de concentrações usualmente detectáveis em espécimes considerados saudáveis.

Tabela 6: concentrações normalmente detectadas de Vtg em plasma sanguíneo de peixes carpa não expostas a IE e expostas a IE.

Concentração de Vtg (ng/mL)		Fonte
Controle	Após exposição	
Aprox. 10.000	10.000.000	GIMENO et al. (1998)
-	800.000 – 6.109.000	SOLÉ et al. (2001)
Aprox. 4.000	-	HENNIES et al. (2003)
190 – 250	-	DENSLOW et al. (2004)
Aprox. 40	-	CARBALLO et al. (2005)
-	249.570	DINIZ et al. (2005)
Aprox. 300	Aprox. 1.345.000	DINIZ et al. (2005a)
Aprox. 30	-	CARGOUËT et al. (2007)

Fonte: Vários autores, citados na Tabela 6.

A concentração de Vtg em peixes expostos a IE pode variar significativamente dependendo da espécie analisada e do ciclo de vida, além de que a interferência endócrina pode induzir a aumento de concentrações que variem desde ng/L até mg/L. Além disso, análises de plasma tendem a apresentar

concentrações mais elevadas para as substâncias testadas, como no caso da Vtg (Tyler et al, Arukwe e Goksør apud REIS FILHO, 2008).

Os resultados obtidos demonstraram uma baixa variabilidade entre as duplicatas. Já entre os peixes, individualmente, nota-se diferenças entre as concentrações, as quais podem estar associadas a vários fatores associados à própria fisiologia da espécie, os quais são desconhecidos. Conforme Sanches e Tarazona apud REIS FILHO (2008) o conhecimento acerca da fisiologia hormonal das espécies aquáticas é ainda muito limitada.

O método analítico utilizado apresenta algumas variáveis inerentes a um trabalho com tamanha complexidade. Estas variáveis vão desde o uso de organismos vivos sujeitos a diversos impactos não exatamente controláveis, ao longo de todo o processo, tais como estresse. E outras variáveis características do próprio método analítico. Todavia, o presente trabalho foi cercado do máximo possível de cuidados que contornassem estas variáveis, evitando-as ou minimizando-as, tais como: os peixes escolhidos eram indubitavelmente machos, e esta constatação se deu através de avaliação individual da presença de esperma, durante o processo seletivo na piscicultura; a aclimação dos peixes também é fator importante para minimizar o estresse, por isso buscou-se minimizar as alterações de ambiente utilizando-se durante o período de aclimação de dois dias um aquário com espaço suficiente para movimentação; o local escolhido era isolado da passagem de pessoas do laboratório; a alimentação foi feita com ração comercial; a temperatura ambiente era controlada; foi utilizada água mineral enquanto os peixes permaneceram aclimatando. Outra variável de extrema importância em um ensaio como este é o tempo de exposição dos peixes ao meio de teste. Os tempos de exposição estabelecidos foram adotados seguindo as premissas apresentadas no capítulo 4. 2.4.

A análise através do kit ELISA para análise de Vitelogenina em *Cyprinus carpio* inclui uma série de etapas já descritas no capítulo anterior, e uma série de procedimentos que visam evitar a degradação e possíveis contaminações da amostra. Além disso, a técnica utiliza volumes baixíssimos de reagentes e amostra, e uma série de diluições que contribuem como variáveis quanto ao resultado final. A técnica é aprovada pela OECD, tratando-se de um método validado. No entanto, durante sua manipulação são necessários cuidados para evitar pequenas falhas que podem ser magnificadas ao longo de todo o processo. A manipulação das amostras, padrões e reagentes foi realizada a baixas temperaturas, mantendo-as sempre conservadas em gelo ou na geladeira durante todo o período de ensaio. Desta forma, visou-se evitar ao máximo possíveis erros no resultado final. Mesmo assim, verificou-se para a amostra E5 um resultado anômalo, como se a amostra não tivesse sido diluída em 1:5.000.

5.2. Considerações finais

O presente trabalho visou avaliar a eventual presença de estrogenicidade em dois sistemas de extrema importância para a Região Metropolitana de São Paulo, no caso a água captada para tratamento proveniente da Represa Guarapiranga, e o efluente da Estação de Tratamento de Esgotos de Barueri. O uso da técnica de bioindicadores neste trabalho demonstrou relativa praticidade, necessidade de baixos investimentos quando comparado com técnicas analíticas de identificação de IE. Foi dispensada a determinação físico-química de eventuais substâncias presentes nestas amostras e potencialmente causadoras de interferência endócrina, pois se considerou que, mesmo que fosse detectada a presença de uma ou mais destas substâncias, as mesmas deveriam estar na

forma bioativa para que fosse possível associá-las a qualquer impacto que pudessem ocasionar. Desta forma, a não realização de uma etapa de caracterização da presença ou ausência destas substâncias mostrou-se interessante para o teste, já que o foco não era a detecção analítica de um ou mais IE, mas sim a potencial presença de estrogenicidade nos meios amostrados e analisados.

É importante lembrar que os IE podem apresentar outros mecanismos de ação que não a estrogenicidade: ainda podem apresentar efeitos antiestrogênicos, androgênicos e antiandrogênicos. Para estes seriam necessários outros protocolos de testes com focos específicos nestes tipos de impactos.

Sobre a técnica de avaliação da presença de estrogenicidade através do uso de carpas macho, embora venha sendo amplamente utilizada na comunidade científica, esta possui limitações quanto a determinação inequívoca para uma única substância agente e um efeito observado. Esta limitação se deve a uma série de fatores associados à amostra e ao próprio método, algumas já elencadas no capítulo anterior, e outras associadas à complexidade do *modus operandis* dos Interferentes Endócrinos e suas possíveis associações ou interações sinérgicas entre si e com outras substâncias. Para exemplificar a complexidade da questão, caso fosse detectada estrogenicidade nos testes realizados para o efluente da ETE, seria praticamente impossível afirmar qual ou quais substâncias presentes estariam causando o efeito estrogênico observado. Avançando um pouco mais neste raciocínio, mesmo que um método analítico fosse aplicado para detectar todas as substâncias presentes e, desta forma, inferir sobre a ação destas sobre o organismo testado, a ação sinérgica da mistura destas substâncias poderia estar influenciando no resultado, independente da ação individual de qualquer substância detectável. Além disso, é importante ressaltar que o presente estudo foi limitado a uma espécie aquática, e a um gênero, o que torna o resultado

relativamente limitado. No entanto, não se tem informações sobre a avaliação de estrogenicidade em efluentes de ETE no Brasil.

De tudo o que foi exposto neste trabalho, e a partir da revisão bibliográfica realizada, conclui-se que os IE estão inegavelmente inseridos no meio ambiente. Inclusive, que a sociedade e a vida selvagem em geral estão expostas a estas substâncias, a partir de pequenas doses diárias e através de diversas fontes.

Também é possível inferir que esta situação vem se apresentando há alguns anos. Na verdade, as descobertas dos efeitos destas substâncias no sistema endócrino bem como as técnicas de análise são recentes. Falta ainda elucidar os mecanismos através dos quais se dão os efeitos que vêm sendo observados ou são supostos. Mais ainda, resta avaliar como tratar estes produtos químicos, os quais têm sido grandes aliados na garantia do bem estar da sociedade, mas que ao mesmo tempo e em determinadas condições, passam a causar efeitos deletérios na saúde e no meio ambiente. Observando o cenário passado, quando do total desconhecimento dos efeitos de algumas destas substâncias, tais como o DDT, e o seu uso indiscriminado, percebe-se que alguns avanços aconteceram. Ocorre que novos compostos são desenvolvidos diariamente e são inseridos no meio ambiente sem que testes ecotoxicológicos sejam realizados.

Este é o cerne do grande desafio que envolve os IE. Sua capacidade de ação sinérgica, a necessidade de apresentar atividade biológica para que sua ação ocorra, a degradação de algumas substâncias com a formação de subprodutos, entre outras características, torna a tarefa de monitoramento e detecção analítica um trabalho infundável e exaustivo.

Questiona-se quanto à evolução dos impactos dos IE ao longo das últimas décadas e como estes vêm sido constatados, tanto no meio ambiente quanto na saúde humana. O sistema de saneamento no Brasil é precário ainda nos dias atuais. A existência de saneamento básico é indiscutivelmente importante e necessária, e conforme pode ser observado na literatura, mesmo que 100% dos esgotos gerados fossem tratados antes de lançados nos corpos d'água, a atual taxa de remoção de IE dos processos existentes e em operação tanto no Brasil quanto no mundo varia de nula ou muito baixa, até elevadas taxas de remoção, dependendo do tipo de tratamento e do tipo de IE a ser removido. Os IE são oriundos de diversas fontes, e sua presença no meio ambiente é possível de ser detectada nas várias matrizes ambientais.

O saneamento ambiental, algo mais abrangente e que poderia se mostrar uma solução mais coerente nas tratativas junto aos IE é algo distante da grande maioria dos municípios brasileiros e na maior parte dos países, nos quais se discute ainda mecanismos que visem mitigar a morbidade ou mortalidade por doenças de veiculação hídrica, típicas de países em desenvolvimento. Dar um salto, partindo das atuais soluções clássicas de tratamento de esgoto ou de água em busca de outras que visem ao saneamento ambiental requer um prévio planejamento quanto à possibilidade de atingimento desta situação a curto, médio e longo prazo no Brasil, onde a saúde e a qualidade do meio ambiente são distribuídas de forma heterogênea, e estas são diretamente associadas aos aspectos sócio-econômicos. Utilizar de políticas públicas isoladas, restritivas, dentro do modelo comando e controle, simplesmente limitando as concentrações em corpos d'água, efluentes ou na água potável pode ser traduzido como uma busca por soluções paliativas para este tipo de poluição. A aplicação de instrumentos de gestão ambiental abrangentes, que visem considerar todos os aspectos que eventualmente estejam contribuindo para o estado da qualidade do meio ambiente tende a ser a solução a busca da sustentabilidade.

Quando do estabelecimento do nexo causal entre um efeito e sua causa, ou sua fonte, este deve se der a partir de uma análise sistêmica e integrativa do cenário em estudo. Isto porque os métodos tradicionais de análise são em geral simplistas, utiliza-se de observações pontuais e de curto espaço de tempo, de forma isolada e sem considerar as misturas de várias substâncias e seus respectivos efeitos sinérgicos, antagônicos ou aditivos. Os efeitos da temperatura, da umidade, ventos, a sazonalidade, entre outros, que interferem sobremaneira nas características de disseminação de poluentes e nas reações químicas que podem ocorrer nas interações entre si também devem ser consideradas, tanto quanto o tempo de contato e exposição.

Conclusão e Recomendações

6. Conclusões e recomendações

O presente trabalho avaliou a qualidade da água da Represa Guarapiranga, a qual abastece parte da população da Região Metropolitana de São Paulo, e o efluente da Estação de Tratamento de Esgotos de Barueri, a maior planta de tratamento de esgotos da América Latina. Esta avaliação teve como foco detectar a presença de efeitos estrogênicos nas amostras destes dois sistemas através de testes *in vivo*, com peixes machos da espécie *Cyprinus carpio*, e método analítico de detecção de vitelogenina no plasma sanguíneo.

Em ambos os sistemas não foi constatada a presença de estrogenicidade, confirmado pela não indução à produção de Vitelogenina nos peixes testados. Devem ser consideradas, no entanto, o pequeno número de amostras testadas, assim como as condições em que o teste foi realizado. É importante ressaltar que o resultado observado para a Estação de Tratamento de Esgotos de Barueri coincide com os resultados encontrados na literatura científica, quanto a eficiência de degradação e/ou inativação para alguns tipos de interferentes endócrinos em processos de tratamento de esgotos através de lodo ativados. A técnica analítica *in vivo* possui interessante aplicação dada a complexidade relacionada aos interferentes endócrinos e sua detecção, já que a presença destas substâncias em uma matriz ambiental não significa que a mesma esteja ativa e agindo de forma deletéria no organismo contaminado. Por isso, técnicas que utilizam bioindicadores tendem a ser mais abrangentes e permitem uma avaliação do real impacto do meio em avaliação.

Finalmente, de tudo o que foi exposto neste trabalho através da revisão bibliográfica apresentada, conclui-se que a detecção e a determinação da ação destas substâncias constituem-se em um pequeno detalhe dentro da

complexidade inerente aos interferentes endócrinos e as ações se fazem necessárias na busca de soluções para este tipo de poluição. Conclui-se que os IE são um chamado para a sociedade, para uma mudança do “olhar” e pela necessidade de serem revistas as atuais tratativas dadas ao meio ambiente e à saúde, no Brasil e no mundo. O tema traz um imenso desafio e uma grande oportunidade: a de evoluir das atuais ações relacionadas ao meio ambiente, saindo de um modelo cartesiano, responsivo e reativo para outro que seja preventivo e prime pela parceria entre os vários atores da sociedade. Não será através de fiscalizações, controles e monitoramentos clássicos que se obterá uma resposta adequada e que reverta o atual quadro de degeneração ambiental, onde os IE, uma real ameaça de extinção para várias espécies, é apenas uma das ameaças para a saúde e o meio ambiente. A reversão deste quadro possivelmente se dará a partir de outras iniciativas, principalmente aquelas que incluam a sociedade e evoluam da realidade regional para a global, dentro de uma visão multidisciplinar, com ética ambiental. Tudo isso provavelmente exigirá que, anteriormente à transformação da natureza, ocorra uma transformação do próprio homem.

Por fim, as recomendações que se fazem necessárias são:

- ❖ Fomentação a trabalhos que visem ao desenvolvimento de técnicas de Avaliação Ambiental Estratégica em território nacional, considerando todas as matrizes ambientais, fontes de poluição e suas possíveis interações e impactos no meio ambiente, através de análises de múltiplos fatores;
- ❖ Desenvolvimento de novas metodologias de bioindicadores ambientais e com espécies nacionais, a custos menores, tais como a de identificação e correlação do cálcio e fósforo presentes no plasma sanguíneo aos níveis de vitelogenina, em peixes;

- ❖ Aprimoramento e utilização de metodologias de análise de risco ambiental, como exigências para empreendimentos com potencial risco de poluição;
- ❖ Elaboração de estudos visando à elucidação dos mecanismos de atuação dos interferentes endócrinos;
- ❖ Utilização de bioindicadores e determinação da ação deletéria quando na realização de estudos relacionados aos interferentes endócrinos, já que a simples presença de uma ou mais destas substâncias não representa, necessariamente, a existência de riscos ao meio ambiente e à saúde. Este fato deve ser considerado quando do uso de modelos clássicos de controle e fiscalização, devido aos efeitos sinérgicos, aditivos e antagônicos que podem existir nas misturas destas substâncias, que no meio ambiente dificilmente ocorrem sozinhas. A definição de limites máximos de concentração não significa a eliminação de riscos.

Referências Bibliográficas

1.Referências Bibliográficas

Acserald H. Tecnologias sociais e sistemas locais de poluição. Horiz. Antropológicos. 2006; 12 (25): 117-138.

Agüera A, Fernández-Alba AR, Hernando MD, Gómez MJ, Malato O, Mezcua M. Comparative study of analytical methods involving gas chromatography-mass spectrometry after derivatization and gas chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of selected endocrine disrupting compounds in wastewaters. J. of Chromatography A. 2004; 1047: 129-135.

Anderson, L. M. Introduction and overview: Perinatal carcinogenesis: growing a node for epidemiology, risk management, and animal studies. Toxicology and Applied Pharmacology. 2007; 199: 85– 90.

Andolz P, Bielsa MA, Vila J. Evolution of semen quality in North-eastern Spain: a study in 22.759 infertile men over a 36 year period. Human Reprod. 1999; 14(3): 731-735.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota técnica sobre livre comércio de agrotóxicos. 2005. Avaliable from: <URL: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2005/270705>> [2005 Ago 5]

Andersen L, Goto-Kazeto R, Trant JM, Nash JP, Korsgaard B, Bjerregaard P. Short-term exposure to low concentrations of the synthetic androgen methyltestosterone affects vitellogenin and steroid levels in adult male zebrafish (Danio rerio). Aqu. Toxicology. 2006; 76: 343–352.

Assunção JV, Pesquero CR. Dioxinas e furanos: origens e riscos. Rev. Saúde Pública. 1999; 33 (5): 523-530.

Araki N, Ohno K, Nakai M, Takeyoshi M, Iida M. Screening for androgen receptor activities in 253 industrial chemicals by in vitro reporter gene assays using AR-EcoScreenTM cells. *Toxicol. in Vitro*. 2005; 19: 831–842.

Araujo JC. Estudo da eficiência do tratamento de efluentes domésticos da cidade de Araraquara-SP na remoção de hormônios sexuais [dissertação de mestrado]. São Carlos: Instituto de Química da USP; 2006.

Awofolu OR. Elemental contaminants in groundwater: A study of trace metals from residential area in the vicinity of an industrial area in Lagos, Nigeria. *Environmentalist*. 2006; 26:285–293.

Balch GC, Grober MS, Janz DM, Lonergan W, Metcalfe, CD, Poznanski AA, Stokes EA, Weber LP. Decreased apoptosis in the forebrain of adult male medaka (*Oryzias latipes*) after aqueous exposure to ethinylestradiol. *Compar. Bioch. and physiology*. 2004; 138 (part C): 163-167.

Band PR, Le ND, Fang R, Deschamps M. Carcinogenic and endocrine disrupting effects of cigarette smoke and risk of breast cancer. *The Lancet*. 2002; 360: 1044:1049.

Bandelj E, Van Den Heuvel MR, Leusch FDL, Shannon N, Taylor S, McCarthy LC. Determination of the androgenic potency of whole effluents using mosquitofish and trout bioassays. *Aquatic Toxic*. 2006; 80: 237–248.

Barse AV, Chakrabarti T, Gosh, TK, Pal AK, Jadhao, SB. Endocrine disruption and metabolic changes following exposure of *Cyprinus carpio* to diethyl phthalate. *Pestic. Bioch. and Physiology*. 2007a; 88: 36–42.

Barse AV, Chakrabarti T, Gosh TK, Pal AK, Jadhao SB. One-tenth dose of LC50 of 4-tert-butylphenol causes endocrine disruption and metabolic changes in *Cyprinus carpio*. *Pestic. Bioch. and Physiology*. 2007b; 88: 36–42.

Beard J. DDT and human health. *Sc. of the Total Environment*. 2006; 355: 78– 89.

Benachour AN, Moslemi S, Sipahutar H, Seralini G. Cytotoxic effects and aromatase inhibition by xenobiotic endocrine disrupters alone and in combination. *Toxicol. and Applied Pharmacology*. 2007; 222: 129–140.

Bianca S, Li Volti G, Caruso-Nicoletti M, Ettore G, Barone P, Lupo L, Li Volti S. Elevated incidence of hypospadias in two sicilian towns where exposure to industrial and agricultural pollutants is high. *Reprod. Toxicology*. 2003; 17: 539–545.

Bila DM, Dezotti M. Fármacos no meio ambiente. *Quím. Nova*. 2007; 26 (4): 523-530.

Binelli A, Bacchetta R, Mantecchia P, Provini A, Ricciard F, Vailati G. DDT in zebra mussels from Lake Maggiore (N. Italy): level of contamination and endocrine disruptions. *Aqu. Toxicology*. 2004; 69: 175-188.

Boenke A, Searle C, Karjalainen T. Contribution of European research to endocrine disruptors. *Analyt. Chimica Acta*. 2002; 473: 161–165.

Boo OY, Koyanagi S, Asano T, Hara M, Higuchi A. Removal of endocrine disruptors by selective sorption method using polydimethylsiloxane membranes. *J. of Membrane Science*. 2003; 213: 137–144.

Braga, A. M. C. B. Dioxinas, furanos e PCBs em leite humano no Brasil [Tese de doutorado]. Campinas: Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP; 2003.

Brasil. Lei 6.938, de 31 de agosto de 1981. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 02 set. 1981; p. 16509.

Brasil. Lei nº 6.938, de 17 de dezembro de 2002. Dispõe sobre a proteção de informação não divulgada submetida para aprovação da comercialização de produtos e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 dez. 2002; p. 1.

Brasil. Lei nº 10.603, de 31 de agosto de 1981. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2 set. 1981; Seção 1, p. 16.509.

Bridges, JW, Bridges, O. Integrated risk assessment and endocrine disrupters. *Toxicology*. 2004; 205: 11–15.

Britton LN. Surfactants and the Environment: Review. *J. of Surfactants and Detergents*. 1998; 1 (1): 109-117.

Brooks BW, Foran CM, Huggett DB, La Point TW, Marsh KE, Peterson B, et al. Comparison of in Vitro and in Vivo bioassays for estrogenicity in effluent from north american municipal wastewater facilities. *Toxic. Sciences*. 2003; 72: 77-83.

Cabrera L, Costa FP, Primel EG. Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região sul do estado do RS. *Quim. Nova*. 2008; 31 (8): 1982-1986.

Calamandrei a G, Maranghi F, Venerosi A, Alleva E, Mantovani A. Efficient testing strategies for evaluation of xenobiotics with neuroendocrine activity. Review. *Reprod. Toxicology*. 2006; 22: 164–174.

Calderón J, Ortiz-Pérez D, Yáñez L, Díaz-Barriga F. Human exposure to metals. Pathways of exposure, biomarkers of effect, and host factors. *Ecotox. and Envir. Safety*. 2003; 56: 93–103.

Canosa P, Morales S, Rodríguez I, Rubí E, Cela R, Gómez M. Aquatic degradation of triclosan and formation of toxic chlorophenols in presence of low concentrations of free chlorine. *Anal. Bioanal. Chem.* 2005; 383: 1119–1126.

Capello SA, Giorgi Jr. LJ, Kogan BA. Orchiopexy Practice Patterns in New York State From 1984 to 2002. *The J. of urology.* 2006; 176: 1180-1183.

Carballo M, Aguayo S, De La Torre A, Muñoz MJ. Plasma vitellogenin levels and gonadal morphology of wild carp (*Cyprinus carpio* L.) in a receiving rivers downstream of Sewage Treatment Plants. *Sc. of the Total Environmental.* 2005; 341: 71-79.

Cargouët M, Perdiz D, Levi Y. Evaluation of the estrogenic potential of river and treated waters in the Paris area (France) using in vivo and in vitro assays. *Ecotox. and Env. Safety.* 2007; 67: 149–156.

Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ.* 1992; 305 (6854): 609-613.

Carson R. *Silent Spring.* New York: Houghton Mifflin; 1962.

Castanho ADA. Propriedades ópticas das partículas de aerossol e uma nova metodologia para a obtenção de espessura óptica via satélite sobre São Paulo. [tese de doutorado]. São Paulo: Instituto de Física da USP; 2005.

Castellia M, Rossib B, Corsettia F, Mantovania A, Sperac G, Lubranoc C, et al. Levels of cadmium and lead in blood: an application of validated methods in a group of patients with endocrine/metabolic disorders from the Rome area. *Microchemical J.* 2005; 79: 349– 355.

Cezar-Vaz MR, Soares MCF, Martins SR, Sena J, Santos LR, Rubira LT, et al. Saber ambiental: instrumento interdisciplinar para a produção de saúde. Texto Contexto Enferm. 2005; 14(3): 391-7.

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Relatório de estabelecimento de Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo: relatório técnico. São Paulo, 2001.

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Qualidade das águas interiores no Estado de São Paulo: relatório técnico. São Paulo, 2007.

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Material particulado inalável fino ($MP_{2,5}$) e grosso ($MP_{2,5 - 10}$) na atmosfera da região metropolitana de São Paulo (2000 – 2006): relatório técnico. São Paulo, 2008.

Chaler R, Cantón L, Grimalt J, Vaquero M. Identification and quantification of n-octyl esters of alkanolic and hexanedioic acids and phthalates as urban wastewaters markers in biota and sediments from estuarine areas. J. of chromatography A. 2004; 1046: 203-210.

Chang S, Waite D, Schsfer AI, Faneb AG. Adsorption of trace steroid estrogens to hollow fibre membranes hydrophobic. Desalination. 2002; 146: 381-386.

Chikae YH, Hatano Y, Mizukami H, Nishi K, Sakakibara R, Tamiya E, et al. Development and application of a monoclonal antibody-based sandwich ELISA for quantification of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) vitellogenin. Comp. bioch. and physiology. 2002; 132 (part C): 161-169.

Choe S, Choi Y, Kim H, Kim S, Kim Y, Lee JH. Evaluation of estrogenicity of major heavy metals. The sc. of the total environment. 2003; 312: 15-21.

Christiansen LB, Helweg C, Winther-Nielsen, M. Feminisation o fish – the effect of estrogenic compounds and their fate in sewage treatment plants and nature. Technical Report. Danish Envir. Prot. Agency; 2002.

Clode SA. Assessment of in vivo assays for endocrine disruption. *Best Practice & Res. Clin. Endoc. & Metabolism*. 2006; 20 (1): 35–43.

Coelho AJM. Endocrine disruptors and dental materials: health implications associated with their use in Brazil. *Cad. Saúde Pública*. 2002; 18(2):505-509.

Coleman HM, Abdullah MI, Eggins BR, Palmer FL. Photocatalytic degradation of 17b-oestradiol, oestriol and 17a-ethynyloestradiol in water monitored using fluorescence spectroscopy. *Appl. Catalysis B: Env*. 2005; 55: 23–30.

COM. Committee on the Environment, Public Health and Consumer Policy of the European Parliament on the Commission Communication to the Council and European Parliament on the Community Strategy for Endocrine Disrupters. *Estratégia comunitária em matéria de desreguladores endócrinos – substâncias suspeitas de interferir com os sistemas hormonais dos seres humanos e dos animais*. (Report A5-0197/2000, 706 final). Bruxelas; 1999.

COM Committee on the Environment, Public Health and Consumer Policy of the European Parliament on the Commission Communication to the Council and European Parliament on the Community Strategy for Endocrine Disrupters. *Comunicação da comissão ao conselho, ao parlamento europeu e ao comité económico e social europeu – uma estratégia europeia de ambiente e saúde*. (Report 52003DC0338, 0338). 2003.

Comhaire FH, Mahmoud AMA, Schoonjans F. Sperm quality, birth rates and the environment in Flanders (Belgium). *Reprod. Toxicology*. 2007, 23: 133–137.

COMPREHEND: Community programme of research on endocrine disrupters and environmental hormones. ENV4-CT98-0798. Report. United Kingdom; 2002.

Correia TG. Influência do alumínio e do pH ácido sobre a fisiologia reprodutiva de peixes teleósteos continentais [dissertação de mestrado]. São Paulo: Instituto de Biociências da USP; 2008.

Correa-Reyes G, Viana MT, Marquez-Rocha, FJ, Licea AF, Ponce E, Vazquez-Duhalt R. Nonylphenol algal bioaccumulation and its effect through the trophic chain. *Chem.* 2007; 68: 662–670.

Costa CR, Olivi P, Botta CMR, Espindola ELG. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Quim. Nova.* 2008; 31 (7): 1820-1830.

Craik JCA, Harvey SM. A biochemical method for distinguishing between the sexes of fishes by the presence of yolk protein in the blood. *J. Fish Biol.* 1984; 25: 293-303.

CSTE – Scientific committee on toxicity, ecotoxicity and the environment. Two study reports on endocrine disrupters by WRc-NSF and BKH Consulting Engineers - WRc-NSF Ref: UC 6052; BKH Ref: M0355037: Report: Brussels; 2003 (C2/GF/csteeop/ ED/12-131103D(03)).

Damiani D, Damiani D. Manejo farmacológico da baixa estatura: o papel dos inibidores da aromatase. *J. Pediatr.* 2007; 83 (5): 172:177.

Daston GP, Cook JC, Kavlock RJ. Uncertainties for endocrine disrupters: our view on progress. *Toxicological sc.* 2003; 74: 245-252.

Dalvie MA, Dyer S, Kruger P, Millar R, Molekwa J, Myers JE, et al. The hormonal effects of long-term DDT exposure on malaria vector-control workers in Limpopo Province, South Africa. *Envir. Research.* 2004; 96: 9-19.

Darras VM. Endocrine disrupting polyhalogenated organic pollutants interfere with thyroid hormone signalling in the developing brain. *The Cerebellum*. 2008; 26–37

Delgado JM, Dufour L, Grimaldo JI, Carrizales L, Rodríguez VM, Jiménez-Capdeville, ME. Effects of arsenite on central monoamines and plasmatic levels of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in mice. *Toxic. Letters*. 2000; 117: 61–67.

Denslowa ND, Gross T, Holm SE, Kocerha J, Sepúlveda MS. Gene expression fingerprints of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) exposed to pulp and paper mill effluents. *Mutation Res*. 2004; 552: 19-34.

Diniz MS, Peres I, Pihan JC. Comparative study of the estrogenic responses of mirror carp (*Cyprinus carpio*) exposed to treated municipal sewage effluent (Lisbon) during two periods in different seasons. *Sc. of the Total Environment*. 2005; 349: 129– 139.

Diniz MS, Peres I, Magalhães-Antoine I, Falla J, Pihan JC. Estrogenic effects in crucian carp (*Carassius carassius*) exposed to treated sewage effluent. *Ecotoxicology and Env. Safety*. 2005; 62: 427–435.

Dorabawila N, Gupta G. Endocrine disrupter—estradiol—in Chesapeake Bay tributaries. *J. of Hazardous Materials*. 2005; A120: 67–71.

Dubner SJ, Levitt S. *Freakonomics: o lado oculto e inesperado de tudo que nos afeta: as revelações de um economista original e politicamente incorreto*. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.

Duft M, Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Tillmann M, Weltje L. Stimulated embryo production as a parameter of estrogenic exposure via sediments in the freshwater mudsnail *Potamopyrgus antipodarum*. *Aq. Toxicology*. 2003; 64: 437-449.

EDEN – Endocrine Disrupter Research - Exploring Novel Endpoints, Exposure, Low-dose- and Mixture-Effects in Humans, Aquatic Wildlife and Laboratory Animals. Final report: 2007 (Contract No. QLK4-CT2002-00603).

EDEN – Endocrine Disrupter Research - Assessment of Technologies for the Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Sewage and Drinking Water Facilities to Improve the Indirect Potable Water Reuse. Executive summary: 2003 (Contract N° EVK1-CT-2000-00047).

Eertmans F, Dhooge W, Stuyvaert S, Comhaire F. Endocrine disruptors: effects on male fertility and screening tools for their assessment. Review. Toxic. in Vitro. 2003; 17: 515–524.

Eidem JK, Kleivdal H, Kroll K, Denslow N, Aerle R, Tyler C, et al. Development and validation of a direct homologous quantitative sandwich ELISA for fathead minnow (*Pimephales promelas*) vitellogenin. Short communication. Aq. Toxicology. 2006; 78: 202–206.

Falfushynska HI, Stolyar OB. Responses of biochemical markers in carp *Cyprinus carpio* from two field sites in Western Ukraine. Ecot. and Env. Safety. 2009; 72: 729– 736.

Ferrara F, Fabietti F, Delise M, Funari E. Alkylphenols and alkylphenol ethoxylates contamination of crustaceans and fishes from the Adriatic Sea (Italy). Chemosphere. 2005; 59: 1145–1150.

FESPSP – Fundação Escola de Sociologia de São Paulo. Programa Rodoanel Mario Covas - Trecho Sul modificado): Relatório de Impacto Ambiental; 2004.

Fink-Gremmels J, Malekinejad H. Clinical effects and biochemical mechanisms associated with exposure to the mycoestrogen zearalenone. Review. Animal Feed Sc. and Techn. 2007; 137: 326–341.

Fisher JS. Are all EDC effects mediated via steroid hormone receptors? *Toxicology*. 2004; 205: 33-41.

Flament S, Kuntz S, Chesnel A, Grillier-Vuissoz I, Tankozic C, Penrad-Mobayed M, et al. Effect of cadmium on gonadogenesis and metamorphosis in *Pleurodeles waltl* (urodele amphibian). *Aq. Toxicology*. 2003; 64: 143 a 153.

Fossi, MC, Casini S, Marsili L. Potential toxicological hazard due to endocrine-disrupting chemicals on Mediterranean top predators: State of art, gender differences and methodological tools. *Envir. Research*. 2007; 104: 174–182.

Foster WG, Chan S, Hughes CL, Platt, L. Human developmental exposure to endocrine active compounds. *Envir. Toxic. and pharmacology*. 2002; 12: 75-81.

Freire MTA, Bottoli CBG, Fabris S, Reyes FGR. Contaminantes voláteis provenientes de embalagens plásticas: Desenvolvimento e validação de métodos analíticos. *Revisão. Quim. Nova*. 2008; 31 (6): 1522-1532.

Fromme H, Mattulat A, Lahrz T, Rüden. Occurrence of organotin compounds in house dust in Berlin (Germany). *Chemosphere*. 2005; 58: 1377–1383.

Gagné F, Blaise C, André C, Gagnon C, Salazar M. Neuroendocrine disruption and health effects in *Elliptio complanata* mussels exposed to aeration lagoons for wastewater treatment. *Chemosphere*. 2007; 68: 731–743.

Gagnon E, Hontela A, Jumarie C. Reciprocal inhibition of Cd and Ca uptake in isolated head kidney cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxic. in Vitro* 2007; 21: 1077–1086.

Ghiselli, G. Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento publico na região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes

endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP) [Tese de doutorado]. Campinas: Instituto de Química da UNICAMP; 2006.

Ghiselli G, Jardim W. Interferentes endócrinos no meio ambiente. *Quim. Nova*. 2007; Vol. 30, Nº. 3: 695-706.

Gillespie DK, Peyster A. Plasma calcium as a surrogate measure for vitellogenin in fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Ecot. and Envir. Safety*. 2004; 58: 90–95.

Gimeno S, Komen H, Jobling S, Sumpter J, Bowmer T. Demasculinisation of sexually mature male common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to 4-tert-pentylphenol during spermatogenesis. *Aq. Toxicology*. 1998a; 43: 93–109.

Gimeno S, Komen H, Gerritsen AGM, Bowmer T. Feminisation of young males of the common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to 4-tert-pentylphenol during sexual differentiation. *Aq. Toxicology*. 1998b; 43: 77–92.

Godoi AFL, Favoreto R, Santiago-Silva M. Contaminação ambiental por compostos organoestânicos. *Quím. Nova*. 2003; 26 (5): 708-716.

Gómez M, Garralón G, Plaza F, Vílchez R, Hontoria E, Gómez MA. Rejection of endocrine disrupting compounds (bisphenol A, bisphenol F and triethyleneglycol dimethacrylate) by membrane Technologies. *Desalination*. 2007; 212: 79–91.

Gorbel F, Boujelbene M, Makni-Ayadi F, Guermazi F, Croute F, Soleilhavoup JP, El Fekia A. Exploration des effets cytotoxiques du plomb sur la fonction sexuelle endocrine et exocrine chez le rat pubère mâle et femelle. Mise en évidence d'une action apoptotique. *C. R. Biologies*. 2002; 325: 927–940.

Gregoraszczyk EL. Dioxin exposure and porcine reproductive hormonal activity. *Cad. Saúde Pública*. 2002; 18(2):453-462.

Greim HZ. The endocrine and reproductive system: adverse effects of hormonally actives substances. *Pediatrics*. 2004; 113 (4): 1070-1075.

Gutzeit HO, Hamann J, Kordes C, Scholz S. Induction of vitellogenin in vivo and in vitro in the model teleost medaka (*Oryzias latipes*): comparison of gene expression and protein levels. *Marine envir. research*. 2004; 57: 235-244.

Hahn T, Schenk K, Schulz R. Environmental chemicals with known endocrine potential affect yolk protein content in the aquatic insect *Chironomus riparius*. *Envir. Pollution*. 2002; 120: 525-528.

Hardell L, Björnfoth H, Carlberg M, Graflund M, Orgum P, Sörensen CS, Van Bavel B. Adipose tissue concentration of *p,p'*-DDE and the risk of endometrial cancer. *Gynec. Oncology*. 2004; YGYNO-70523: 1-6.

Harrison PTC, Holmes P, Humfrey CDN. Reproductive health in humans and wildlife: are adverse trends associated with environmental chemical exposure? *The sc. of the total environment*. 1997; 205: 97-106.

Hayashi T, Okamoto Y, Ueda K, Kojima N. Formation of estrogenic products from benzophenone after exposure to sunlight. *Toxic. Letters*. 2006; 167: 1–7.

Hemming JM, Allen HJ, Thuesen KA, Turner PK, Waller WT, Lazorchak JM, et al. Temporal and spatial variability in the estrogenicity of a municipal wastewater effluent. *Ecot. and Environ. Safety*. 2004; 57: 303–310.

Hennies M, Allner B, M; Sauerwein, H Wiesmann, M. Vitellogenin in carp (*Cyprinus carpio*) and perch (*Perca fluviatilis*): purification, characterization and development of an ELISA for the detection of estrogenic effects. *The Sc. Of The Total Environmental*. 2003; 309: 93-103.

Hernandez-Raquet G, Soef A, Delgene N, Balaguer P. Removal of the endocrine disrupter nonylphenol and its estrogenic activity in sludge treatment processes. *Wat. Research*. 2007; 41: 2643 – 2651.

Hinck JE, Schmitt CJ, Blazer VS, Denslow ND, Bartish TM, Anderson PJ, et al. Environmental contaminants and biomarker responses in fish from the Columbia River and its tributaries: Spatial and temporal trends. *Sc. of the Total Environment*. 2006; 366: 549–578.

Holbech H, Kinnberg K, Petersen GI, Jackson P, Hylland K, Norrgren L, et al. Detection of endocrine disrupters: Evaluation of a Fish Sexual Development Test (FSDT). *Comp. Bioch. and Physiology*. 2006; Part C (144): 57–66.

Hsu P, Guo YL, Li M. Effects of acute postnatal exposure to 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl on sperm function and hormone levels in adult rats. *Chemosphere*. 2004; 54: 611-618.

IBAMA. Relatório GEO-Brasil – Perspectivas do meio ambiente no Brasil. Programa das nações unidas para o meio ambiente. Relatório Técnico. 2002 (PNUMA).

Instrução Normativa Interministerial Nº 49 de 20 de Agosto de 2002. Of. EI. Nº 587/2002.

IPCS. Global Assessment of the state-of-the-science of endocrine Interferentes. Report. 2002.

Jen J, Liu T. Determination of phthalate esters from food-contacted materials by on-line microdialysis and liquid chromatography. *J. of Chromatography A*. 2006; 1130: 28–33.

Jjemba PK. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. *Ecotoxic. and Environ. Safety*. 2006; 63: 113–130.

Jobling S, Casey D, Rodgers-Gray T, Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Pawlowski S, et al. Comparative responses of molluscs and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. *Aq. Toxicology*. 2004; 66: 207–222.

Johnson AC, Belfroid A, Di Corcia A. Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. *The sc. of the total environment*. 2000; 256: 163-173.

Kim BH, Takemura A. Effects of estradio 17β treatment in vitro and in vivo synthesis of two distinct vitellogenins in tilapia. *Comp. bioch. and physiology*. 2001; 129 (part A): 641-651.

Kime DE, McAllister BG. Early life exposure to environmental levels of the aromatase inhibitor tributyltin causes masculinisation and irreversible sperm damage in zebrafish (*Danio Rerio*). *Aq. toxicology* 2003; 65: 309-316.

Kloas W, Lutz I. Amphibians as model to study endocrine disrupters. *J. of Chromatography A*. 2006; 1130: 16–27.

Knie JLW, Lopes EWB. Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis. FATMA/GTZ; 2004.

Kristensen T, Edwards TM, Kohno S, Baatrup E, Guillette Jr LJ. Fecundity, 17β -estradiol concentrations and expression of vitellogenin and estrogen receptor genes throughout the ovarian cycle in female Eastern mosquitofish from three lakes in Florida. *Aqu. Toxicology*. 2007; 81: 245–255.

Lafuente A, González-Carracedo A, Romero A, Cano A, Esquifino AI. Cadmium exposure differentially modifies the circadian patterns of norepinephrine at the

median eminence and plasma LH, FSH and testosterone levels. *Toxic. Letters*. 2004; 146: 175–182.

Lavado R, Thibaut R, Raldúa D, Martín R, Porte C. First evidence of endocrine disruption in feral carp from the Ebro River. *Toxic. and App. Pharmacology*. 2004; 196: 247– 257.

Lazorchak JM, Smith ME. National screening survey of EDCs in municipal wastewater treatment effluents. Report. 2004. (EPA/600/R-04/171)

Le Noir M, Plieva F, Hey T, Guieysse B, Mattiasson B. Macroporous molecularly imprinted polymer/cryogel composite systems for the removal of endocrine disrupting trace contaminants. *J. of Chromatography A*. 2007; 1154: 158–164.

Letcher RJ, Sanderson JT, Bokkers A, Giesy JP, Berg M. Effects of bisphenol A-related diphenylalkanes on vitellogenin production in male carp (*Cyprinus carpio*) hepatocytes and aromatase (CYP19) activity in human H295R adrenocortical carcinoma cells. *Toxic. and Applied Pharmacology*. 2005; 209: 95 – 104.

Lee B, Akatsuka Y, Kamata M, Kamei T, Magara Y, Ohno K, Takeda M. Effects of chlorine on the decrease of estrogenic chemicals. *Wat. Research*. 2004; 38: 733-739.

Lee M H, Kim E, Kim, T. Exposure to 4-*tert*-octylphenol, an environmentally persistent alkylphenol, enhances interleukin-4 production in T cells via NF-AT activation. *Toxic. and App. Pharmacology* 2004a; 197: 19– 28.

Leusch FDL, Chapman HF, van den Heuvel MR, Tan BLL, Gooneratne SR, Tremblay LA. Bioassay-derived androgenic and estrogenic activity in municipal sewage in Australia and New Zealand. *Ecot. and Environmental Safety*. 2006; 65: 403–411.

Lewis AV, Cosier G, Hughes PM. Dimensions of change — a better picture of disruption. *BT Technol J* October 2001; 19 (4): 15-23.

Li D, Kim M, Kwon Y, Shim WJ, Yim UH, Oh J. Seasonal flux of nonylphenol in Han River, Korea. *Chemosphere*. 2004; 56: 1-6.

Lind PM, Erksen EF, Lind L, Örberg J, Sahlin L. Estrogen supplementation modulates effects of the endocrine disrupting pollutant PCB126 in rat bone and uterus. Diverging effects in ovariectomized and intact animals. *Toxicology*. 2004; 199: 129–136.

Liu R, Wilding A, Zhou JL. Microwave-assisted extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry for the determination of endocrine disrupting chemicals in river sediments. *Journal of chromatography A*. 2004; 1038: 19-26.

Lv X, Zhou Q, Song M, Jiang G, Shao J. Vitellogenic responses of 17 β -estradiol and bisphenol A in male Chinese loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). *Envir. Tox. and Pharmacology*. 2007; 24: 155–159.

Lyko S, Salehi F, Melin T. Mass transfer of trace contaminants in porous and dense membranes effects of water matrices. *Desalination*. 2006; 199: 315–316.

Ma T, Wan X, Huang Q, Wang Z, Liu J. Biomarker responses and reproductive toxicity of the effluent from a Chinese large sewage treatment plant in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*. 2005; 59: 281–288.

McLachlan JA, Simpson E, Martin M. Endocrine disrupters and female reproductive health. *Best Pr. & Res. Clinical Endoc. & Metabolism*. 2006; 20 (1): 63–75.

Magalhães I, Ledrich M, Pihan J, Falla J. One-step, non-denaturing purification method of carp (*Cyprinus carpio*) vitellogenin. *J. of Chromatography B*. 2004; 799: 87–93.

Mandich A, Bottero S, Benfenati E, Cevasco A, Erratico C, Maggioni S, et al. In vivo exposure of carp to graded concentrations of bisphenol A. *Gen. and Comp. Endocrinology*. 2007; 153: 15–24.

Maranghi F, Rescia M, Macrì C, Consiglio E, Angelis G, Testai E, et al. Lindane may modulate the female reproductive development through the interaction with ER- β : an in vivo–in vitro approach. *Chemico-Biol Interactions*. 2007;169:1–14

Marin MG, Matozzo V. Vitellogenin induction as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic environments. *Marine pollution bul.* 2004; 48: 835-839.

Martin-Skilton R, Coughtrie MWH, Porte C. Sulfotransferase activities towards xenobiotics and estradiol in two marine fish species (*Mullus barbatus* and *Lepidorhombus boscii*): Characterization and inhibition by endocrine disrupters. *Aq. Toxicology*. 2006; 79: 24–30.

Matozzo V, Marin MG. Can 4-nonylphenol induce vitellogenin-like proteins in the clam *Tapes philippinarum*? *Envir. Research*. 2004; 97: 43-49.

McAllister BG, Kime DE. Early life exposure to environmental levels of the aromatase inhibitor tributyltin causes masculinisation and irreversible sperm damage in zebrafish (*Danio rerio*). *Aq. Toxicology*. 2003; 65: 309–316.

Melo SLS, Trovó AG, Bautitz IR, Nogueira RFP. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. *Quim. Nova*. 2009; 32 (1): 188-197.

Mello-da-Silva CA, Fruchtengarten L. Riscos químicos ambientais à saúde da criança. *J Pediatr*. 2005; 81(5 Supl): 205-211.

Mendes JJA. The endocrine disrupters: a major medical challenge. Food and ch. Toxicology. 2002; 40: 781-788.

Mendonça GAS. Câncer na população feminina brasileira. Rev. de Saúde Pública. 1993; 27 (1): 68-75.

Meyer A, Sarcinelli PN, Moreira JC. Estarão alguns grupos populacionais brasileiros sujeitos à ação de Interferentes endócrinos? Cad. de saúde pública. 1999; 15(4): 845-850.

MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO. Lei sobre Proteção de Informação Não Divulgada Relativa a Registros de Comercialização. LEI No 10.603, DE 17 DE DEZEMBRO DE 2002. Dispõe sobre a proteção de informação não divulgada submetida para aprovação da comercialização de produtos e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 dez. 2002. p. 1-2.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n.º 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 mar. 2005. p. 58.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Portaria n.º 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 mar. 2004. p. 266.

Mirra AP. Incidência de Câncer no Município de São Paulo, Brasil : 1983-1988-1993 : Tendência no período 1969-1993. Brasília; 1999. Ministério da Saúde.

Mitchelmore CL, Rice CP. Correlations of nonylphenol-ethoxylates and nonylphenol with biomarkers of reproductive function in carp (*Cyprinus carpio*) from the Cuyahoga River. *Sc. of the Total Environment*. 2006; 371: 391–401.

Montagner CCR. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do Rio Atibaia [dissertação de mestrado]. São Paulo: Instituto de química da UNICAMP; 2007.

Moreira FR, Moreira JC. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. *Rev. Panam. Salud Publica*. 2004; 15(2): 119–29.

Mylchreest E, Ankley GT, Korte JJ, Snajdr S. Comparison of ELISAs for detecting vitellogenin in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Comp. Bioch. and physiology*. 2003; 134: pp. 251-257.

Nakada N, Tanishima T, Shinohara H, Kiri K, Takada H. Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment. *Wa. Research*. 2006; 40: 3297 – 3303.

Newbold RR, Haseman J, Jefferson WN, Padilla-Banks E. Developmental exposure to diethylstilbestrol (DES) alters uterine response to estrogens in prepubescent mice: low versus high dose effects. *Reprod. toxicology*. 2004; 18: 399-406.

Nilsson R. Control of chemicals in Sweden: an example of misuse of the “precautionary principle”. *Ecot. and Envir. Safety*. 2004; 57: 107–117.

Nogueira JMF. Desreguladores endócrinos - efeitos adversos e estratégias para monitorização dos sistemas aquáticos. *Bol. sociedade portuguesa de química*. 2003; 88: 65-71.

Nordberg M, Winblad B, Basun H. Cadmium concentration in blood in an elderly urban population. *BioMetals*. 2000; 13: 311–317.

Oliveira RM, Brilhante OM, Moreira JC, Miranda AC. Contaminação por hexaclorociclohexanos em área urbana da região Sudeste do Brasil. *Rev. Saúde Pública*. 1995; 29 (3): 228-233.

Oliveira SMAC, Von Sperling M. Avaliação de 166 ETEs em operação no país, compreendendo diversas tecnologias. Parte 1 – análise de desempenho. *Eng. sanit. ambient*. 2005; 10 (4): 347-357.

Oliveira SMAC, Von Sperling M. Avaliação de 166 ETEs em operação no país, compreendendo diversas tecnologias. Parte 2 – influência de fatores de projeto e operação. *Eng. sanit. ambient*. 2005a; 10 (4): 358-368.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. Atenção Primária Ambiental (OPAS/BRA/HEP/001/99). Relatório. Washington; 1999.

Panesar NS, Chan KW. Decreased Steroid Hormone Synthesis from Inorganic Nitrite and Nitrate: Studies *in Vitro* and *in Vivo*. *Toxic. App. Pharmacology* 2000;169: 222–230.

Pasqualotto FF, Lucon AM, Sobreiro BP, Pasqualotto EB, Arap S. Effects of medical therapy, alcohol, smoking, and endocrine disruptors on male infertility. *Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo* 2004; 59(6): 375-382.

Pei-Jen C, Rosenfeldt E.J, Kullman, SW, Hinton DE, Linden, KG. Biological assessments of a mixture of endocrine disruptors at environmentally relevant concentrations in water following UV/H₂O₂ oxidation. *Sc. of the Total Environment*. 2007; 376: 18–26.

Peres F, Moreira JC. Saúde e ambiente em sua relação com o consumo de agrotóxicos em um pólo agrícola do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad. Saúde Pública*. 2007; 23 (4): 612-621.

Pettersson M, Adolfsson-Erici M, Parkkonen J, Förlin L, Asplund L. Fish bile used to detect estrogenic substances in treated sewage water. *Sc. of the Total Environment*. 2006; 366: 174– 186.

Petrelli G, Mantovani A. Environmental risk factors and male fertility and reproduction. *Contraception*. 2002; 65: 297-300 – Review article.

Pimentel LCF, Chaves CR, Freire LAA, Afonso JC. O inacreditável emprego de produtos químicos perigosos no passado. *Quim. Nova*. 2006; 29 (5): 1138-1149.

Porter CM, Janz JM. Treated municipal sewage discharge affects multiple levels of biological organization in fish. *Ecot. and Envir. Safety*. 2003; 54: 199–206.

Queiroz SCN, Ferracini VL, Gomes MAF, Rosa MA. Comportamento do herbicida hexazinone em área de recarga do aquífero Guarani cultivada com cana-de-açúcar. *Quim. Nova*. 2009; 32 (2): 378-381.

Rasier G, Toppari J, Parent A-S, Bourguignon J-P. Female sexual maturation and reproduction after prepubertal exposure to estrogens and endocrine disrupting chemicals: A review of rodent and human data. *Mol. Cel. Endocrinology*. 2006; 254–255: 187–201.

Reis Filho, RW. Hormônios estrógenos no Rio Monjolinho, São Carlos – SP: uma avaliação da problemática dos desreguladores endócrinos ambientais [tese de doutorado]. São Paulo: Escola de Engenharia de São Carlos, USP; 2008.

Reis Filho RW, Araújo JC, Vieira EM. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. *Quim. Nova*. 2006; 29 (4): 817-822.

Rempel MA, Reyes J, Steinert S, Hwang W, Armstrong J, Sakamoto K, et al. Evaluation of relationships between reproductive metrics, gender and vitellogenin expression in demersal flatfish collected near the municipal wastewater outfall of Orange County, California, USA. *Aq. Toxicology*. 2006; 77: 241–249.

Reynolds P, Hurley SE, Goldberg DE, Yerabati S, Gunier RB, Hertz A, et al. Residential proximity to agricultural pesticide use and incidence of breast cancer in the California Teachers Study cohort. *Envir. Research* 2004; 96: 206-218.

Ribeiro H. Saúde Pública e Meio Ambiente: evolução do conhecimento e da prática, alguns aspectos éticos Saúde e Sociedade. 2004; 13 (1): 70-80.

Ribeiro ML, Lourencetti C, Pereira SY, Marchi MRR. Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. *Quim. Nova*. 2007; 30 (3): 688-694.

Rittler M, Castilla EE. Endocrine disruptors and congenital anomalies. *Cad. Saúde Pública* 2002; 18(2): 421-428.

Rouvalis A, Karadima K, Zioris IV, Sakkas VA, Albanis T, Iliopoulou-Georgudaki J. Determination of pesticides and toxic potency of rainwater samples in western Greece. *Ecotox. and Envir. Safety*. 2009; 72: 828–833.

Safe S. Endocrine disruptors and human health: is there a problem? *Toxicology* 2004; 205: 3–10.

Scholz S, Kordes C, Hamann J, Gutzeit HO. Induction of vitellogenin in vivo and in vitro in the model teleost medaka (*Oryzias latipes*): comparison of gene expression and protein levels. *Marine Envir. Research*. 2004; 57: 235–244.

Servos MR, Bennie DT, Burnison BK, Jurkovic A, McInnis R, Neheli T, et al. Distribution of estrogens, 17beta-estradiol and estrone, in Canadian municipal wastewater treatment plants. *Sci Total Environ.* 2005; 336(1-3): 155-70.

Setzer J. Panorama do princípio da precaução: o direito do ambiente face aos novos riscos e incertezas. [Dissertação de mestrado]. São Paulo: Programa de Ciência Ambiental da USP. 2007.

Shilling AD, Williams DE. Determining relative estrogenicity by quantifying vitellogenin induction in rainbow trout liver slices. *Toxic. and app. Pharmacology.* 2000; 164: 330-335.

Shintani H. Determination of the Endocrine Disrupter Bisphenol-A in the Blood of Uremia Patients Treated by Dialysis. *Chromatographia.* 2001; 53: 331-333.

Shore LS, Reichmann O, Shemesh M, Wenzel A, Litaor MI. Washout of accumulated testosterone in a watershed. *Sc. of total environment.* 2004; 332: 193-202.

Silva DML, Camargo PB, Martinelli LA, Lanças FM, Pinto JSS, Avelar WEP. Organochlorine pesticides in Piracicaba River Basin (São Paulo/Brazil): a survey of sediment, bivalve and fish. *Quim. Nova.* 2008; 31 (2): 214-219.

Sodré FF, Montagner CC, Locatelli MAF, Jardim W. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da região de Campinas (SP, Brasil). *J. Braz. Ecotoxicol.* 2007; 2 (2): 187-196.

Solé M, Barceló D, Porte C. Seasonal variation of plasmatic and hepatic vitellogenin and EROD activity in carp, *Cyprinus carpio*, in relation to sewage treatment plants. *Aq. Toxicology.* 2002; 60: 233–248.

Solé M, Raldúa F, Piferrer F, Barcelo D, Porte C. Feminization of wild carp, *Cyprinus carpio*, in a polluted environment: plasma steroid hormones, gonadal

morphology and xenobiotic metabolizing system. *Comp. Bioch. and Physiology*. 2003a; 136 (Part C): 145–156.

Solé M, Raldua D, Barceló D, Porte C. Long-term exposure effects in vitellogenin, sex hormones, and biotransformation enzymes in female carp in relation to a sewage treatment work. *Ecotox. and Envir. Safety*. 2003b; 56: 373–380.

Soliman MA, Pedersen JA, Suffet IH. Rapid gas chromatography-mass spectrometry screening method for human pharmaceuticals, hormones, antioxidants and plasticizer in water. *J. of chromatography A*. 2004; 1029: 223-237.

Stopelli IMBS. Agricultura, saúde e ambiente: uma abordagem sobre o risco do contato com agrotóxicos a partir de um registro hospitalar de referência municipal [tese de doutorado]. São Paulo: Escola de Engenharia de São Carlos; 2005.

Stokesa EA, Lonergana W, Weberb LP, Janzb DM, Poznanskic AA, Gordon CB, Metcalfed CD, Grober MS. Decreased apoptosis in the forebrain of adult male medaka (*Oryzias latipes*) after aqueous exposure to ethinylestradiol. *Comp. Bioch. and Physiology*. 2004; 138 (Part C): 163–167.

Tada N, Saka M, Shiraishi F, Kamata Y. A field study on serum vitellogenin levels in male Reeves' pond turtles (*Chinemys reevesii*) from estrogen-contaminated sites and a reference site. *Sc. of the Total Environment*. 2007; 384: 205–213.

Takemura A, Kim BH. Effects of estradiol-17 β treatment on in vitro and in vivo synthesis of two distinct vitellogenins in tilapia. *Comp. Bioch. and Physiology*. 2001; 129 (Part A): 641 a 651.

Terners TA, Haberer K, Mueller J, Servos M, Stumpf M, Wilken RD. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *The sc. of the total environment*. 1999; 225: 81-90.

Teske SS, Arnold RG. Removal of natural and xeno-estrogens during conventional wastewater treatment. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 2008; 7: 107–124.

Tokishita S, Kato Y, Kobayashi T, Nakamura S, Ohta T, Yamagata H. Organization and repression by juvenile hormone of a vitellogenin gene cluster in the crustacean, *Daphnia magna*. *Bioch. and Bioph. Research Communications.* 2006; 345: 362–370.

Tollefsen K, Finne EF, Romstad R, Sandberg C. Effluents from oil production activities contain chemicals that interfere with normal function of intra- and extra-cellular estrogen binding proteins. *Mar. Envir. Research.* 2006; 62: 191–194.

Toppari J, Haavisto A, Alanen M. Changes in male reproductive health and effects of endocrine disruptors in Scandinavian countries. *Cad. Saúde Pública* 2002; 18(2):413-420.

UNITED States environmental Protection Agency. An examination of EPA risk assessment principles and practices. Report. 2004 (EPA/100/B-04/001).

UNITED States environmental Protection Agency. EPA's report of the environment. Report. 2008 (EPA/600/R-07/045F).

UNITED States environmental Protection Agency. Removal of Endocrine Disruptor Chemicals Using Drinking Water Treatment Processes. Report. 2001 (EPA/625/R-00/0152001)

UNITED States environmental Protection Agency. White Paper. Aquatic life criteria for contaminants of emerging concern. Part I. General challenges and recommendations. Report. 2008. Acesso em 17/05/09. Disponível em: <http://www.epa.gov/waterscience/criteria/library/sab-emergingconcerns.pdf>

UNL – Universidade Nova Lisboa. Relatório de factores críticos – Avaliação ambiental estratégica das propostas de programas operacionais, no âmbito do QREN (2007-2013) e Directiva Europeia 2001/42/CE: relatório técnico. Lisboa, 2006.

Van Den Belt K, Berckmans P, Vangenechten C, Verheyen, R, Witter H. Comparative study on the in vitro/in vivo estrogenic potencies of 17 β -estradiol, estrone, 17 α -ethynylestradiol and nonylphenol. *Aq. Toxicology*. 2004; 66: 183–195.

Verwer CM, van der Ven LTM, van den Bos R, Hendriksen CFM. Effects of housing condition on experimental outcome in a reproduction toxicity study. *Reg. Toxic. and Pharmacology*. 2007; 48: 184–193.

Villa S, Negrelli C, Finizio A, Flora O, Vighi M. Organochlorine compounds in ice melt water from Italian Alpine Rivers. *Ecot. and Envir. Safety*. 2006; 63: 84–90.

Villeneuve DL, Villalobos AS, Keith TL, Snyder EM, Fitzgerald SD, Giesy JP. Effects of waterborne exposure to 4-nonylphenol on plasma sex steroid and vitellogenin concentrations in sexually mature male carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere*. 2002; 47: 15–28.

Virtanen HE, Meyts ER, Main KM, Skakkebaek NE, Toppari J. Review: Testicular dysgenesis syndrome and the development and occurrence of male reproductive disorders. *Toxic. and App. Pharmacology*. 2005; 207: 501 – 505.

Wang J, Xie P, Kettrup A, Schramm K. Inhibition of progesterone receptor activity in recombinant yeast by soot from fossil fuel combustion emissions and air particulate materials. *Sci. of the Total Environment*. 2005; 349: 120– 128.

Waring RH, Harris RM. Review - Endocrine disrupters: A human risk? *Mol. and Cellular Endocrinology*. 2005; 244: 2–9.

Waissmann W. Health surveillance and endocrine disruptors. *Cad. Saúde Pública* 2002; 18(2):511-517.

Weber S, Leuschner P, Kämpfer P, Dott W, Hollender J. Degradation of estradiol and ethinyl estradiol by activated sludge and by a defined mixed culture. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2005; 67: 106–112.

Weber LP, Dubé MG, Rickwood CJ, Driedger K, Portt C, Brereton C, Janz DM. Effects of multiple effluents on resident fish from Junction Creek, Sudbury, Ontario. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2008; 70: 433–445.

Whitehead SA, Rice S. Endocrine-disrupting chemicals as modulators of sex steroid synthesis. *Best Pr. & Res. Clinical Endoc. & Metabolism*. 2006; Vol. 20, nº 1: 45–61.

WHO. World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality. Report. Geneva; 2004.

Witorsch RJ. Endocrine Interferentes: can biological effects and environmental risks be predicted? *Reg. toxic. and pharmacology*. 2002; 36: 118-130.

Xu X, Li H, Gu J. Biodegradation of an endocrine-disrupting chemical di-n-butyl phthalate ester by *Pseudomonas fluorescence* B-1. *Internat. Biodeterioration*. 2005; 55 (1): 9-15.

Zaki A, Chaoui AA, Talibi A, Derouiche AF, Aboussaouira T, Zarrouck K, Chait A, Himmi T. Impact of nitrate intake in drinking water on the thyroid gland activity in male rat. *Toxic. Letters*. 2004; 147: 27-33.

Zou E, Fingerman M. Effects of Estrogenic Xenobiotics on Molting of the Water Flea, *Daphnia magna*. *Ecot. and environmental safety* 1997; 38: 281-285.

Anexos

Anexo 1 – Curva de calibração

Linear Polynomial : $\text{Signal} = A + (B * \text{Conc})$
A = 0.138674, B = 0.007217
Weighted : NO; summed (residuals)² = 0.006420
Regression coefficient = 0.992999

Anexo 2 – Resultados

LABSYSTEMS GENESIS V3.03 Results Wednesday, 01 April 2009 15:36
 Raw data filename : C:\arquiv~1\genesis\protocol\010409\01APR09W.001
 Processed by Protocol : c:\arquiv~1\genesis\protocol\010409.prt
 Plate layout file : c:\arquiv~1\genesis\protocol\010409.plt
 Reading type : Single Wavelength, One Reading
 Instrument version : MULTISKAN EX PRIMARY EIA V. 2.1-0
 Filter 1 : 492nm
 Lag time : 00:00:05
 Mix : YES
 Mix RPM : Low
 Mix ON period : 00:00:05
 Mix OFF period : 00:00:00

Raw data values (calculated):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.108	1.863	1.120	0.647	0.433	0.264	0.188	0.146	0.125	0.118	0.132	0.136
B	0.102	1.919	1.049	0.691	0.471	0.257	0.172	0.137	0.121	0.117	0.111	0.115
C	0.440	0.101	0.104	2.775	0.127	0.102	2.459	0.146	0.115	0.434	0.110	0.128
D	0.431	0.102	0.106	2.751	0.134	0.120	2.590	0.132	0.122	0.436	0.114	0.112
E	0.157	0.099	0.104	1.258	0.115	0.109	3.310	0.810	0.134	1.221	0.108	0.117
F	0.190	0.112	0.098	1.269	0.113	0.119	3.210	0.859	0.140	1.252	0.104	0.110
G	1.738	0.122	0.102	2.939	0.247	0.101	0.107	0.103	0.105	0.103	0.110	0.125
H	1.783	0.138	0.102	3.114	0.276	0.116	0.102	0.119	0.120	0.128	0.126	0.131

Linear Polynomial : Signal = A + (B * Conc)

A = 0.138674, B = 0.007217

Weighted : NO; summed (residuals)^2 = 0.006420

Regression coefficient = 0.992999

Standards curve used:

STANDARD	Status	Absorb.	Conc.	Unit	%CV	Std Dev
0.000	A01	0.108	-4.250			
	B01	0.102	-5.082			
Mean		0.105	-4.666	ng/ml	0.000	0.588
0.240	A12	0.136	-0.370			
	B12	0.115	-3.280			
Mean		0.126	-1.825	ng/ml	0.000	2.058
0.490	A11	0.132	-0.925			
	B11	0.111	-3.835			
Mean		0.122	-2.380	ng/ml	0.000	2.058
0.980	A10	0.118	-2.865			
	B10	0.117	-3.003			
Mean		0.117	-2.934	ng/ml	0.000	0.098
1.950	A09	0.125	-1.895			
	B09	0.121	-2.449			
Mean		0.123	-2.172	ng/ml	0.000	0.392
3.910	A08	0.146	1.015			
	B08	0.137	-0.232			
Mean		0.141	0.392	ng/ml	225.18	0.882
7.810	A07	0.188	6.835			
	B07	0.172	4.618			
Mean		0.180	5.726	ng/ml	27.377	1.568
15.600	A06	0.264	17.365			
	B06	0.257	16.395			
Mean		0.261	16.880	ng/ml	4.063	0.686
31.300	A05	0.433	40.782			
	B05	0.471	46.048			
Mean		0.452	43.415	ng/ml	8.576	3.723
62.500	A04	0.647	70.435			
	B04	0.691	76.531			
Mean		0.669	73.483	ng/ml	5.867	4.311

125.00	A03	1.120	135.97			
	B03	1.049	126.14			
Mean		1.085	131.06	ng/ml	5.308	6.956

250.00	A02	1.863	238.93			
	B02	1.919	246.68			
Mean		1.891	242.81	ng/ml	2.260	5.487

UNKNOWNNS

U1 :

Well	Absorb.	Diln.	Conc.	Unit
C01	0.440	50.000	2087.6	
Mean	0.440		2087.6	ng/ml

U2 :

Well	Absorb.	Diln.	Conc.	Unit
C02	0.101	5000.0	-2.6E4	<<<
Mean	0.101		-2.6E4	ng/ml

U3 :

Well	Absorb.	Diln.	Conc.	Unit
C03	0.104	5.00E5	-2.4E6	<<<
Mean	0.104		-2.4E6	ng/ml

U4 :

Well	Absorb.	Diln.	Conc.	Unit
C04	2.775	50.000	1.83E4	>>>
Mean	2.775		1.83E4	ng/ml

U5 :

Well	Absorb.	Diln.	Conc.	Unit
C05	0.127	5000.0	-8088	<<<
Mean	0.127		-8088	ng/ml

U6 :

Well	Absorb.	Diln.	Conc.	Unit
C06	0.102	5.00E5	-2.5E6	<<<
Mean	0.102		-2.5E6	ng/ml

U7 :

Well	Absorb.	Diln.	Conc.	Unit
C07	2.459	50.000	1.61E4	>>>
Mean	2.459		1.61E4	ng/ml

U8 :

Well	Absorb.	Diln.	Conc.	Unit
C08	0.146	5000.0	5075.6	
Mean	0.146		5075.6	ng/ml

U9 :

Well	Absorb.	Diln.	Conc.	Unit
C09	0.115	5.00E5	-1.6E6	<<<
Mean	0.115		-1.6E6	ng/ml

U10 :

Well	Absorb.	Diln.	Conc.	Unit
C10	0.434	50.000	2046.0	
Mean	0.434		2046.0	ng/ml

U11 :

Well	Absorb.	Diln.	Conc.	Unit
C11	0.110	5000.0	-2.0E4	<<<
Mean	0.110		-2.0E4	ng/ml

U12 :

Well	Absorb.	Diln.	Conc.	Unit
C12	0.128	5.00E5	-7.4E5	<<<
Mean	0.128		-7.4E5	ng/ml

U13 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
D01 0.431 50.000 2025.3
Mean 0.431 2025.3 ng/ml

U14 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
D02 0.102 5000.0 -2.5E4 <<<
Mean 0.102 -2.5E4 ng/ml

U15 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
D03 0.106 5.00E5 -2.3E6 <<<
Mean 0.106 -2.3E6 ng/ml

U16 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
D04 2.751 50.000 1.81E4 >>>
Mean 2.751 1.81E4 ng/ml

U17 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
D05 0.134 5000.0 -3238 <<<
Mean 0.134 -3238 ng/ml

U18 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
D06 0.120 5.00E5 -1.3E6 <<<
Mean 0.120 -1.3E6 ng/ml

U19 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
D07 2.590 50.000 1.70E4 >>>
Mean 2.590 1.70E4 ng/ml

U20 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
D08 0.132 5000.0 -4624 <<<
Mean 0.132 -4624 ng/ml

U21 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
D09 0.122 5.00E5 -1.2E6 <<<
Mean 0.122 -1.2E6 ng/ml

U22 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
D10 0.436 50.000 2059.9
Mean 0.436 2059.9 ng/ml

U23 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
D11 0.114 5000.0 -1.7E4 <<<
Mean 0.114 -1.7E4 ng/ml

U24 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
D12 0.112 5.00E5 -1.8E6 <<<
Mean 0.112 -1.8E6 ng/ml

U25 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
E01 0.157 50.000 126.97
Mean 0.157 126.97 ng/ml

U26 :
Well Absorb. Diln. Conc. Unit
E02 0.099 5000.0 -2.7E4 <<<
Mean 0.099 -2.7E4 ng/ml

```

U27 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
E03       0.104  5.00E5  -2.4E6  <<<
Mean      0.104          -2.4E6  ng/ml

U28 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
E04       1.258  50.000  7754.8
Mean      1.258          7754.8  ng/ml

U29 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
E05       0.115  5000.0  -1.6E4  <<<
Mean      0.115          -1.6E4  ng/ml

U30 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
E06       0.109  5.00E5  -2.1E6  <<<
Mean      0.109          -2.1E6  ng/ml

U31 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
E07       3.310  50.000  2.20E4  >>>
Mean      3.310          2.20E4  ng/ml

U32 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
E08       0.810  5000.0  4.65E5
Mean      0.810          4.65E5  ng/ml

U33 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
E09       0.134  5.00E5  -3.2E5  <<<
Mean      0.134          -3.2E5  ng/ml

U34 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
E10       1.221  50.000  7498.4
Mean      1.221          7498.4  ng/ml

U35 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
E11       0.108  5000.0  -2.1E4  <<<
Mean      0.108          -2.1E4  ng/ml

U36 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
E12       0.117  5.00E5  -1.5E6  <<<
Mean      0.117          -1.5E6  ng/ml

U37 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
F01       0.190  50.000  355.59
Mean      0.190          355.59  ng/ml

U38 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
F02       0.112  5000.0  -1.8E4  <<<
Mean      0.112          -1.8E4  ng/ml

U39 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
F03       0.098  5.00E5  -2.8E6  <<<
Mean      0.098          -2.8E6  ng/ml

U40 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
F04       1.269  50.000  7831.0
Mean      1.269          7831.0  ng/ml

```

```

U41 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
F05       0.113  5000.0  -1.8E4  <<<
Mean      0.113          -1.8E4  ng/ml

U42 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
F06       0.119  5.00E5  -1.4E6  <<<
Mean      0.119          -1.4E6  ng/ml

U43 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
F07       3.210  50.000  2.13E4  >>>
Mean      3.210          2.13E4  ng/ml

U44 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
F08       0.859  5000.0  4.99E5
Mean      0.859          4.99E5  ng/ml

U45 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
F09       0.140  5.00E5  9.19E4
Mean      0.140          9.19E4  ng/ml

U46 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
F10       1.252  50.000  7713.2
Mean      1.252          7713.2  ng/ml

U47 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
F11       0.104  5000.0  -2.4E4  <<<
Mean      0.104          -2.4E4  ng/ml

U48 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
F12       0.110  5.00E5  -2.0E6  <<<
Mean      0.110          -2.0E6  ng/ml

U49 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
G01       1.738  50.000  1.11E4
Mean      1.738          1.11E4  ng/ml

U50 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
G02       0.122  5000.0  -1.2E4  <<<
Mean      0.122          -1.2E4  ng/ml

U51 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
G03       0.102  5.00E5  -2.5E6  <<<
Mean      0.102          -2.5E6  ng/ml

U52 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
G04       2.939  50.000  1.94E4  >>>
Mean      2.939          1.94E4  ng/ml

U53 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
G05       0.247  5000.0  7.50E4
Mean      0.247          7.50E4  ng/ml

U54 :
Well      Absorb. Diln.  Conc.  Unit
G06       0.101  5.00E5  -2.6E6  <<<
Mean      0.101          -2.6E6  ng/ml

```

Currículo Lattes

José Luiz Negrão Mucci

possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade de Santo Amaro (1980) , mestrado em Ecologia pela Universidade de São Paulo (1986) e doutorado em Saúde Pública pela Universidade de São Paulo (1993) . Atualmente é professor Livre-docente da Universidade de São Paulo. Tem experiência na área de Ecologia , com ênfase em Ecologia Aplicada. Atuando principalmente nos seguintes temas: Indicadores biológicos de poluição hídrica.

(Texto gerado automaticamente pela aplicação CVLattes)

Última atualização do currículo em 24/04/2009

Endereço para acessar este CV:

<http://lattes.cnpq.br/0289549606567555>

**Certificado
pelo autor em
24/04/09**

**Links para
Outras Bases:**

[SciELO - artigos em
texto completo](#)

Dados pessoais

Nome José Luiz Negrão Mucci

**Nome em citações
bibliográficas** MUCCI, José Luiz Negrão

Sexo Masculino

Endereço profissional Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Saúde Ambiental.
Av. Dr. Arnaldo, 715 - 1º andar Depto. de Saúde Ambiental
Jardim Paulista
01246904 - Sao Paulo, SP - Brasil
Telefone: (11) 30667712 Ramal: 219 Fax: (11) 30667732
URL da Homepage: <http://www.fsp.usp.br>

Formação acadêmica/Titulação

2002 Livre-docência.
Faculdade de Saúde Pública.
Título: Índices biológicos de poluição hídrica com ênfase no fitoplâncton e sua aplicação em hidrobiologia sanitária, *Ano de obtenção:* 2002.
Palavras-chave: Indicadores biológicos de poluição hídrica.
Grande área: Ciências Biológicas / *Área:* Ecologia / *Subárea:* Ecologia Aplicada / *Especialidade:* Limnologia Aplicada.
Setores de atividade: Captação, tratamento e distribuição de água, limpeza urbana, esgoto e atividades conexas.

1988 - 1993 Doutorado em Saúde Pública
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: A Influência da Decomposição da Vegetação na Qualidade da Água de Reservatórios, *Ano de Obtenção:* 1993.
Orientador: Aristides Almeida Rocha.
Palavras-chave: Qualidade da água; Reservatórios; Vegetação Terrestre.
Grande área: Ciências Biológicas / *Área:* Ecologia / *Subárea:* Ecologia Aplicada / *Especialidade:* Limnologia Aplicada.
Setores de atividade: Produtos e serviços voltados para a defesa e proteção do meio ambiente, incluindo o desenvolvimento sustentado; Captação, tratamento e distribuição de água, limpeza urbana, esgoto e atividades conexas.

1983 - 1986 Mestrado em Ecologia
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Dinâmica da Autodepuração de Águas Residuárias da Industrialização do Palmito, *Ano de Obtenção:* 1986.
Orientador: Aristides Almeida Rocha.
Palavras-chave: Autodepuração; Resíduos; Sucessão Ecológica.
Grande área: Ciências Biológicas / *Área:* Ecologia / *Subárea:* Ecologia Aplicada / *Especialidade:* Limnologia Aplicada.
Setores de atividade: Produtos e serviços voltados para a defesa e proteção do meio ambiente, incluindo o desenvolvimento sustentado.

1977 - 1980 Graduação em Ciências Biológicas. Universidade de Santo Amaro, UNISA, Brasil.

Atuação profissional

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Vínculo institucional

Ana Lúcia Silva

Graduação em Engenharia Química - Faculdades Osvaldo Cruz (1998); Mestrado em Engenharia Civil, sub-área Recursos Hídricos, pela Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (2003). Doutoranda em Saúde Ambiental pela Faculdade de Saúde Pública da USP (conclusão em 2009). Experiência na área de Engenharia Sanitária Ambiental, atuando principalmente nos seguintes temas: qualidade da água, cargas difusas, índices de qualidade gerenciais, modelagem matemática, projetos de ecoeficiência em processos de tratamento de água e esgotos, interferentes endócrinos e parâmetros emergentes.

(Texto informado pelo autor)

Última atualização do currículo em 21/05/2009

Endereço para acessar este CV:

<http://lattes.cnpq.br/2384037030521734>

**Certificado
pelo autor em
21/05/09**

**Links para
Outras Bases:**

[SciELO - artigos em
texto completo](#)

Dados pessoais

Nome	Ana Lúcia Silva
Nome em citações bibliográficas	SILVA, Ana Lúcia
Sexo	Feminino

Formação acadêmica/Titulação

2005	Doutorado em Saúde Pública . Universidade de São Paulo, USP, Brasil. <i>Título:</i> Avaliação de interferentes endócrinos nos recursos hídricos da Região Metropolitana de São Paulo., <i>Orientador:</i> José Luiz Negrão Mucci.
1999 - 2003	Mestrado em Recursos Hídricos. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, POLI/USP, Brasil. <i>Título:</i> A utilização do modelo WinHSPF no estudo das cargas difusas de poluição na bacia de Ribeirão da Estiva, SP., <i>Ano de Obtenção:</i> 2003. <i>Orientador:</i> Monica Ferreira do Amaral Porto. <i>Palavras-chave:</i> carga difusa; qualidade da água; modelagem matemática. <i>Grande área:</i> Engenharias / <i>Área:</i> Engenharia Sanitária / <i>Subárea:</i> Recursos Hídricos / <i>Especialidade:</i> Planejamento Integrado dos Recursos Hídricos.
1993 - 1998	Graduação em Engenharia Química. Faculdades Osvaldo Cruz, FOC*, Brasil. <i>Título:</i> Estudo sobre trihalometanos na água potável. <i>Orientador:</i> Cláudia Mota Santos.

Formação complementar

2007 - 2008	MBA em Gerenciamento Estratégico e Econômico de Projetos. (Carga Horária: 460h). Fundação Getúlio Vargas - SP, FGV-SP, Brasil.
2004 - 2004	Heavy Metals And Other Hazardous Substances Pollut. (Carga horária: 400h). Japan International Cooperation Agency.

Atuação profissional

Companhia de Saneamento Básico de São Paulo, SABESP, Brasil.

Vínculo institucional

1992 - Atual	Vínculo: Celetista, Enquadramento Funcional: Engenheira, Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva.
---------------------	--

Atividades

8/2004 - Atual	Outras atividades técnico-científicas , Diretoria de Operacao Metropolitana, Departamento de Controle de Qualidade.
-----------------------	---