

# BIOMARCADORES DE GENOTOXICIDADE APLICADOS AO DIAGNÓSTICO AMBIENTAL E AO BIOMONITORAMENTO DE POPULAÇÕES HUMANAS

**Vera Maria Ferrão Vargas**

**Fundação Estadual de Proteção Ambiental  
FEPAM – RS**

**Curso de Pós-Graduação em Ecologia  
UFRGS**

**[ecorisco@fepam.rs.gov.br](mailto:ecorisco@fepam.rs.gov.br)**



**EcoRISCO**

# ATUAÇÃO INSTITUCIONAL EM ECOTOXICOLOGIA

- PROJETOS DE PESQUISA EM ÁREAS CRÍTICAS DO ESTADO - 1982
- PROGRAMA DE MONITORAMENTO INDUSTRIAL - 1992
- ESTUDOS DE IMPACTO AMBIENTAL – 1996



DIAGNÓSTICO      LEGISLAÇÃO

## ATUAÇÃO INSTITUCIONAL EM ECOTOXICOLOGIA

▶ **Programa multidisciplinar**

▶▶ **Considerar aspectos**

**Físicos/ Químicos/ Biológicos**

**Padronizar metodologias**

## ATUAÇÃO INSTITUCIONAL EM ECOTOXICOLOGIA

### ► Analisar Interações entre os compartimentos ambientais

TRANSPORTE E TRANSFERÊNCIA DOS COMPOSTOS ENTRE OS COMPARTIMENTOS



TRANSFORMAÇÕES/ PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO/ INTERAÇÕES



MODIFICAÇÕES QUÍMICAS NA MISTURA ORIGINAL



FORMAÇÃO DE RADICAIS                      BIOACUMULAÇÃO  
BIOMAGNIFICAÇÃO

## ATUAÇÃO INSTITUCIONAL EM ECOTOXICOLOGIA

### ▶▶ Selecionar estratégias

- Medir impacto → Recursos hídricos, atmosféricos, solo...
- Realizar diagnóstico ambiental
- Atuar no licenciamento e controle de fontes
- Avaliar conseqüências na biota
- Investir em Biomonitoramento humano
- Favorecer medidas saneadoras

# CONTAMINANTES QUÍMICOS

## ▶ Misturas complexas

### ▶▶ Determinações químicas específicas

⇒ definir presença e dosar substâncias tóxicas específicas

⇒ avaliar curvas dose-resposta

⇒ estimar risco de exposição

### ▶▶ Biomarcadores e bioindicadores

## CONTAMINANTES QUÍMICOS

### ▶▶ Avaliação ecotoxicológica

- ⇒ definir presença de estressores com ação tóxica
- ⇒ relacionar com fontes, alterações climáticas, rotas

### ▶▶ Avaliação de genotoxicidade

- ⇒ estimar o efeito no material genético
- ⇒ definir presença de substâncias em baixas dosagens
- ⇒ identificar carcinogênicos - via mutagênica

### ▶▶ Identificação de disruptores endócrinos

# BIOMARCADORES DE DANO GENOTÓXICO

## Metodologias sensíveis para:

- Monitorar a ocorrência e o efeito de genotoxinas em amostras ambientais
- Detectar níveis, efeitos e rotas de poluentes ambientais
- Fornecer sinais precoces de dano ecológico e efeitos à saúde humana frente à misturas complexas
- Atuar como medida de controle da qualidade ambiental



# ENSAIO *SALMONELLA*/MICROSSOMA

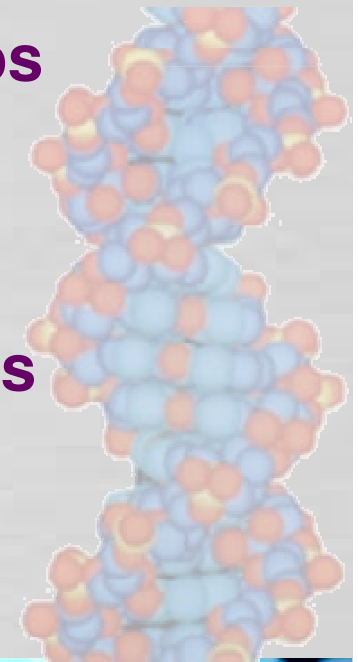
- Teste de curta duração  $\Rightarrow$  potencialidade carcinogênica de substâncias químicas
- Alta Correlação  $\Rightarrow$  organismos superiores

Aplicação: substâncias puras, fármacos  
insumos agrícolas

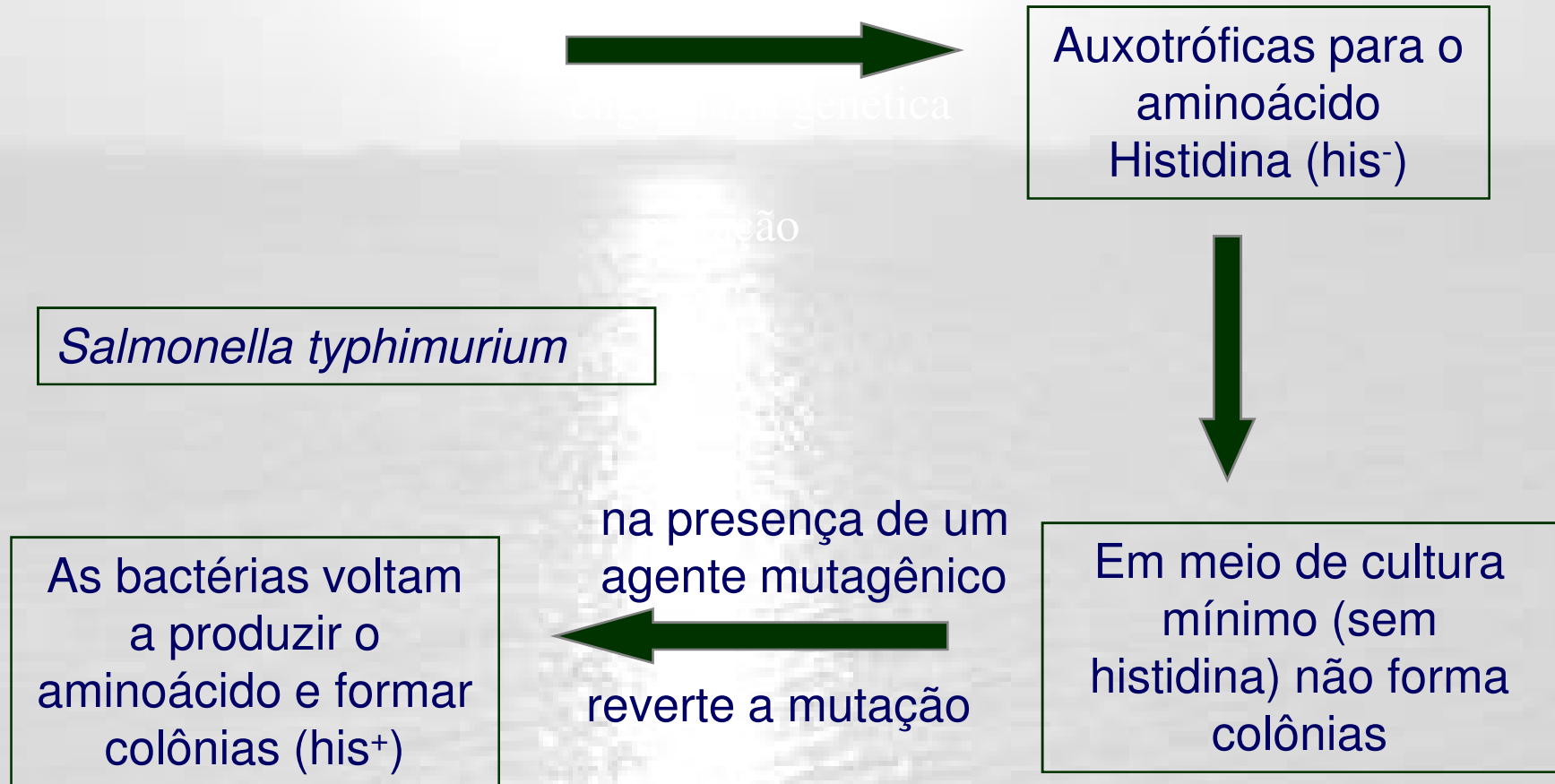
Uso em diagnóstico ambiental  
Utilizado em várias matrizes ambientais



**LEGISLAÇÃO**



# Ensaio *Salmonella*/microsossoma



# ENSAIO *SALMONELLA*/MICROSSOMA

- ⇒ Contínuo aprimoramento ⇒ validação internacional
- ⇒ Ferramenta fundamental no conjunto de testes que definem a potencialidade de compostos cancerígenos genotóxicos

Revertentes para histidina

⇒ Diferentes tipos de mutações no *operon* da histidina

# GENOTOXICIDADE

## ✓ Teste de Ames - Ensaio *Salmonella*/microsossoma

Metabolização hepática: fração microsossomal S9

Degrada as substâncias tornando-as menos complexas; expressão da atividade mutagênica de substâncias que precisam ser metabolizadas



# GENOTOXICIDADE

- ✓ **Teste de Ames - Ensaio *Salmonella*/microsossoma**
- ✓ **SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS**
- ✓ **AMOSTRAS DE ÁGUA – rios, efluentes industriais**
- ✓ **AMOSTRAS AMBIENTAIS SÓLIDAS – resíduos, sedimentos e solos**
- ✓ **COMPARTIMENTO ATMOSFÉRICO**  
gases e material particulado
- ✓ **Intensidade por unidade de amostra:**  
porção linear da curva dose-resposta; expresso como número de rev/g/L/m<sup>3</sup>
- ✓ **LEGISLAÇÃO AMBIENTAL**

# MÉTODOS CITOGENÉTICOS

Análise de Micronúcleos    Teste cometa

POLUIÇÃO AMBIENTAL

Estudos *in vitro*

Ensaaios em linhas celulares estabelecidas

❖ Bioensaaios com espécies

❖ adaptadas às condições de laboratório.

❖ Populações Naturais - expostas *in situ* às condições ambientais da área estudada.

DANOS OXIDATIVOS HEPÁTICOS - SISTEMA ENZIMÁTICO 450

POLUIÇÃO HÍDRICA

# MARCADORES GENÉTICOS EM POPULAÇÕES HUMANAS

**Micronúcleos**  
**Teste do cometa**

# APLICAÇÃO...

- ▶ **CONTROLE DE EFLUENTES INDUSTRIAIS**
- ▶ **POLUIÇÃO HÍDRICA**
- ▶ **POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA**
- ▶ **BIOMONITORAMENTO**
- ▶ **SÍTIOS DE SOLOS CONTAMINADOS**



## ▶ **CONTROLE DE EFLUENTES INDUSTRIAIS**

# LEGISLAÇÃO

**Nova Regulamentação foi aprovada pelo CONSELHO ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE - CONSEMA**



**-Resolução 128/2006**

**-<<http://www.sema.rs.gov.br/sema/html/pdf/Resolucao128Efluentes.pdf>>**



**-Resolução 129/2006**

**<<http://www.sema.rs.gov.br/sema/html/pdf/Resolucao129Toxicidade.pdf>>**

⇒ **NÍVEIS DE AVALIAÇÃO**

⇒ **Toxicidade aguda - Morte / Imobilidade**

⇒ **Toxicidade crônica - Alteração na fisiologia da vida**

⇒ ***GENOTOXICIDADE***

# TOXICIDADE AGUDA/CRÔNICA

1992 PROGRAMA FEPAM/GTZ

- **Diferentes níveis tróficos:**

- ▶ **PRODUTORES** ⇒ **algas** ⇒ *Scenedesmus subspicatus*

- ▶ **CONSUMIDORES PRIMÁRIOS** ⇒ **microcrustáceos**  
⇒ *Daphnia magna*

- ▶ **CONSUMIDORES SECUNDÁRIOS** ⇒ **peixes**  
⇒ *Danio rerio*

- ▶ **DECOMPOSITORES** ⇒ **bactérias**  
⇒ *Photobacterium phosphorium*

# PROGRAMA DE MONITORAMENTO INDUSTRIAL - 1992

- **GRUPO TÉCNICO DE TRABALHO**
  - ▶ **Conhecer os níveis de toxicidade aguda de diferentes ramos industriais do Estado**

- **Ramos industriais de maior impacto**
- **Classes de vazão**
- **Indústrias ligadas ao Sistema de Automonitoramento de efluentes líquidos – RS - SISAUTO**

- ▶ **PREPARAR E AVALIAR BANCOS DE DADOS**

SISAUTO - Portaria 01/85 - SSMA; Resolução CONSEMA 01/98.

# **CÂMARA TÉCNICA DE CONTROLE E QUALIDADE AMBIENTAL**

*Dispõe sobre a definição de critérios e  
padrões de emissão para Toxicidade de  
efluentes líquidos para o Estado do Rio  
Grande do Sul*

**RESOLUÇÃO CONSEMA N<sup>o</sup>  
129/2006**

**Aprovação em CÂMARA TÉCNICA**

**Discussão em CÂMARA JURÍDICA**

**Aprovação no CONSEMA**

## Resolução CONSEMA 129/06

- Fundamentos no histórico de toxicidade aguda de efluentes industriais obtido pela FEPAM
- Discussão ampla com técnicos de várias instituições, representadas na Câmara Técnica
- Apoio de consultoria EPA/EUA
- Regramento baseado na vazão do corpo receptor, vazão do efluente  $\Rightarrow$  toxicidade aguda e crônica, além de genotoxicidade
- Definição de prazos diferenciados de acordo com a classe de vazão do empreendimento
- Contempla também efluentes de origem doméstica

## ⇒ Aplicabilidade

**Aos efluentes líquidos industriais lançados em águas superficiais do Estado do Rio Grande do Sul**

**Aos efluentes líquidos domésticos com vazão máxima de lançamento igual ou superior a 10.000m<sup>3</sup>/d**

**Os padrões de emissão fixados devem ser utilizados como referência pelo órgão ambiental *no caso de lançamento ou disposição final, em locais não definidos como águas superficiais.***



# PRAZOS E CONDIÇÕES

⇒ Cinco classes segundo a vazão do efluente em  $m^3/d$

◆ Exemplo:

•  $< 100$  e ◆  $10000 < 30000$  Fator de toxicidade (FT) aguda em 3 níveis tróficos: FT 4 por até 4 anos e FT 1 em até 8 anos

Toxicidade crônica em até 12 anos - 2 níveis tróficos

***GENOTOXICIDADE AUSENTE EM ATÉ 14 ANOS***

≥ 10000: FT 1 aguda Ausente

Toxicidade crônica em até 2 anos - 2 níveis tróficos

***GENOTOXICIDADE AUSENTE EM ATÉ 2 ANOS***

# APLICAÇÃO...

- ▶ CONTROLE DE EFLUENTES INDUSTRIAIS
- ▶ **POLUIÇÃO HÍDRICA**
- ▶ POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA
- ▶ BIOMONITORAMENTO
- ▶ SÍTIOS DE SOLOS CONTAMINADOS

## *ATUAÇÃO INSTITUCIONAL EM ECOTOXICOLOGIA*

- **PROJETOS DE PESQUISA EM ÁREAS CRÍTICAS DO ESTADO - 1982**

**1982 - ESTUDOS EM TOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA**

**1984 – INÍCIO DOS ESTUDOS COM GENOTOXICIDADE AMBIENTAL**

**1988 – PRIMEIRAS PUBLICAÇÕES**

**1993 – PROJETOS AMPLOS MULTIDISCIPLINARES**

**1994- CONVÊNIOS INTER-INSTITUCIONAIS**

## CLASSIFICAÇÃO DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA PARA ÁGUAS SUPERFICIAIS NA AMÉRICA DO SUL

| Rio  | Amostra     | -S9          | +S9          | Fonte   |
|--|-------------|--------------|--------------|---|
| Caí,RS,Brasil                              | Água        | <b>E</b>     | <b>E</b>     | Petroquímicas/urban                                   |
| Sinos, RS<br>Brasil                        | Água        | <b>B</b>     | <b>B</b>     | Metais/ orgânicos                                     |
| Matanza-<br>Riachuelo,<br>Argentina        | Água<br>E O | <b>B</b>     | <b>B</b>     | Dejetos de<br>fazendas/efluentes<br>dom./ industriais |
| SP, Brasil                                 | E O         | <b>M</b>     | <b>A -M</b>  |   |
| Rio Tercero,<br>Argentina                  | E O         | <b>B</b>     | <b>B</b>     |   |
| Água<br>superficial,<br>SP,Brasil          | E O         | <b>B</b>     | <b>B</b>     |   |
| Canais entre<br>Ensenda e<br>Berisso, Arg. | E O         |              | <b>E</b>     | Petroquímica,<br>refinaria, ácido<br>sulfúrico        |
| SP, Brasil                                 | E O         | <b>E</b>     | <b>E</b>     |   |
| Cristais SP,<br>Brasil                     | E O         | <b>B - M</b> | <b>B - M</b> | Têxtil  |

Classificação: Baixa até 500 revertentes/ Lequivalente (rev/L) Moderada de 500 - 2500 rev/L;

Alta de 2500 – 5000 rev/L; Extrema além de 5000 rev/L Umbuzeiro et al, 2003; Ohe et al., 2004

**MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE**  
**CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE-**  
**CONAMA**

**RESOLUÇÃO Nº 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.*

## Seção II

### Das Águas Doces

**Art. 14. As águas doces de classe 1 observarão as seguintes condições e padrões:**

I - condições de qualidade de água:

- a) não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido.**

## RESOLUÇÃO Nº 357

**Art. 16. As águas doces de classe 3 observarão as seguintes condições e padrões:**

I - condições de qualidade de água:

a) **não verificação de efeito tóxico agudo** a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de **ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;**

# APLICAÇÃO...

- ▶ CONTROLE DE EFLUENTES INDUSTRIAIS
- ▶ POLUIÇÃO HÍDRICA
- ▶ **POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA**
- ▶ **BIOMONITORAMENTO**
- ▶ **SÍTIOS DE SOLOS CONTAMINADOS**



## ESTRATÉGIA DE TRABALHO

- ➔ Investigar a presença de compostos orgânicos com atividade mutagênica em material particulado atmosférico em áreas urbanas e urbana – industriais.
- ➔ Comparar estudos realizados com material particulado total – PTS (partículas  $<100 \mu\text{m}$ ) – com estudos empregando material particulado inalável PM10 (partículas  $<10 \mu\text{m}$ )
- ➔ Empregar como biomarcador respostas mutagênicas do tipo erro no quadro de leitura
- ➔ Comparar as respostas de atividade mutagênica com parâmetros de legislação ambiental
- ➔ Identificar a presença de compostos nitroderivados empregando linhagens específicas
- ➔ Quantificar HPAs em amostras mutagênicas
- ➔ Realizar monitoramento genético em populações expostas

## Diagnóstico da presença de Nitrocompostos (%)

| Município       | Nitroarenos | Dinitroarenos<br>aminas romáticas | Mistura |
|-----------------|-------------|-----------------------------------|---------|
| referencia 1    | 66,7        |                                   | 33,3    |
| Cidade<br>alvo2 |             | 83,4                              | 16,6    |

extratos orgânicos obtido a partir de material particulado PM10

## Diagnóstico da presença de Nitrocompostos (%)

| Município     | Nitroarenos | Dinitroarenos<br>aminas romáticas | Mistura |
|---------------|-------------|-----------------------------------|---------|
| Referencia 2  | 33,3        | 33,3                              | 33,3    |
| Cidade alvo 2 | 25          | 62,5                              | 12,5    |
| Cidade alvo3  | 20          | 69,5                              | 11,5    |

Extratos orgânicos obtido a partir de material particulado PTS

## CONSIDERAÇÕES

- ➡ **Áreas urbanas apresentam maior relação entre concentração de particulados e resposta mutagênica**
- ➡ **A resposta mutagênica em áreas urbano –industriais depende das substâncias adsorvidas no material particulado atmosférico**
- ➡ **Associar efeitos biológicos e análises químicas favorecem o emprego de medidas saneadoras**

# MARCADORES GENÉTICOS AMBIENTAIS E POPULACIONAIS

Marcadores ambientais: Ensaio *Salmonella*/microsossoma  
presença de compostos orgânicos com atividade  
mutagênica → particulados do ar

Cidade referência

Cidades alvo 1 e 2

## CONSIDERAÇÕES

- ▶ **Finalização das análises ambientais**
  - ▶ análises químicas
  - ▶ biomarcadores genéticos
- ▶ **Finalização das análises dos biomarcadores populacionais**
- ▶ **Complementação da análise estatística**
  - ▶ variáveis ambientais
  - ▶ características demográficas
  - ▶ biomarcadores populacionais



# APLICAÇÃO...

- ▶ CONTROLE DE EFLUENTES INDUSTRIAIS
- ▶ POLUIÇÃO HÍDRICA
- ▶ POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA
- ▶ BIOMONITORAMENTO
- ▶ **SÍTIOS DE SOLOS CONTAMINADOS**

# DESAFIOS E PERSPECTIVAS

**Definir e testar modelo para investigar riscos à saúde decorrentes da exposição a agentes tóxicos e genotóxicos a partir de sítios de solos contaminados por diferentes estressores ambientais.**

**Investigar danos populacionais associando dados clínicos, dosagens de contaminantes em material biológico e biomonitoramento genético.**

PROJETO ECRISCO SAÚDE – EM DESENVOLVIMENTO, COM APOIO CNPq  
FEPAM, FURG, UFRGS, SES/CEVS, PUCRS, UFPEL, CENPES, UFPA,, UFMA, UNICAMP, UNESP



# **EQUIPE**

**FEPAM:** Alda Corrêa, Andréa Cássia de Melo,  
Clarice Torres de Lemos, Eliana Casco Sarmiento,  
Jeane Lima, João Fabrício, Kelly Cristina Tagliari,  
Maria Helena Stringhini, Márcia Lemiezeck, Maria Elisa dos Santos Rosa, Nara  
Regina Terra, Rubem Horn  
Equipe de amostragem da FEPAM

**UFRGS:** Jandyra Fachel, Elina Caramão

## **CONSULTORES:**

Larry Claxton, Chon Shoaf, Matthew Lorber, James M. Lazorchak, E PA, USA  
Jorge Herkovits, SETAC-LA Argentina  
Jorge Camelo, ECLAMC, Argentina



APOIO: PADCT/FINEP; CNPq; FAPERGS



# **EQUIPE**

**Curso de Pós-Graduação em Ecologia UFRGS/FEPAM**

**Flávio Manoel Rodrigues da Silva Jr,  
Mariana Vieira Coronas, Tatiana da Silva Pereira**

**Universidade do Estado de São Paulo/UNESP/Botucatu**

**Daisy Maria Favero Salvadori**

**Universidade Estadual de Londrina**

**Ilce Mara de Syllos Cólus**

**Universidad Ramon Llull, Barcelona, Espanha**

**Luís Riera Comellas**

**Bolsistas IC/ AT: Ana Maria Azevedo Velho,  
Andréia Torres de Lemos, Daniel Meyer,  
Danielle Rosa, Ilda Feiden, Jocelita Vaz Rocha, Laiana Beltrami,  
Monice Santana, Simone Figueiró, Tatiane Cardozo**