



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PERÍCIAS CRIMINAIS AMBIENTAIS

Mateus Valente Machado

**Avaliação ecotoxicológica de amostras de efluentes originados pelo Hospital  
Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis - SC**

Florianópolis-SC

2019

Mateus Valente Machado

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE AMOSTRAS DE EFLUENTES  
ORIGINADOS PELO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO POLYDORO ERNANI DE SÃO  
THIAGO, FLORIANÓPOLIS - SC**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Perícias Criminais Ambientais da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Perícia Criminal Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Claus Tröger Pich

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Henrique Lemos Soares

Florianópolis, SC, Brasil

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Machado, Mateus

Avaliação ecotoxicológica de amostras de efluentes originados pelo Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis - SC / Mateus Machado ; orientador, Claus Tröger Pich, coorientador, Carlos Henrique Lemos Soares, 2020.

93 p.

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Perícias Criminais Ambientais, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Perícias Criminais Ambientais. 2. EFLUENTE HOSPITALAR. 3. ECOTOXICOLOGIA. 4. RESÍDUOS LÍQUIDOS HOSPITALARES. I. Tröger Pich, Claus. II. Lemos Soares, Carlos Henrique. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Perícias Criminais Ambientais. IV. Título.

Mateus Valente Machado

**Avaliação ecotoxicológica de amostras de efluentes originados pelo Hospital  
Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis – SC**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora  
composta pelos seguintes membros:

Prof.<sup>a</sup> Catia Regina Silva de Carvalho Pinto, Dra.

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Carlos José de Carvalho Pinto, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi  
julgado adequado para obtenção do título de mestre em Perícias Criminais Ambientais.

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Prof. Claus Tröger Pich, Dr.

Orientador

Florianópolis, 2019.

Este trabalho é dedicado à minha querida e amada mãe.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos que estiveram de uma forma ou outra envolvidos nesta grande etapa da minha vida. Foram três anos de aprendizado e engrandecimento intelectual que sem ajuda de muitos, não seria possível.

Primeiramente agradecer a minha mãe, Denise, que foi o motivo de tudo isso. Desde sempre incentivando e financiando todo meu estudo. Sempre acompanhando de longe essa longa caminhada que agora se finda (por enquanto). É com muito carinho e orgulho que ofereço a ti essa vitória. Obrigado, mãe! Por tudo, sempre!

Aos professores Claus, Carlos e Ivana que deram muitos puxões de orelha e foram peças-chave para que esse trabalho fosse finalizado. Muito obrigado!

Aos colegas de laboratório Flávia, Guilherme Costa e Nayara que sempre ajudaram nas minhas mais tolas perguntas e riam das piadas mais idiotas, fazendo a alegria de se trabalhar lá. Valeu galera!

Aos companheiros de laboratório em Araranguá Bárbara e Guilherme Gabriel, que ajudaram da mesma forma, porém, um agradecimento aqui mais especial ao 'Gui', que teve o desprivilegio de me hospedar muitas vezes e me aturar durante semanas. Muito obrigado, mano! Foste o 'cara'!

Por fim, agradecer a minha família e amigos que estiveram (e estão!) sempre nos meus pensamentos e a minha esposa, Scarlett, que esteve ao meu lado desde o choro no resultado da aprovação para este programa até o último caractere digitado neste trabalho. Obrigado, Amor!

## RESUMO

Os efluentes hospitalares são considerados poluidores potencialmente perigosos. A carência de regulamentações acerca do tema para definir o gerenciamento e tratamento desses efluentes antes do descarte é preocupante. Desse modo, buscou-se caracterizar o efluente do hospital universitário da cidade de Florianópolis-SC, através de testes físico-químicos e ecotoxicológicos. Foram feitas análises físico-químicas dos parâmetros amônia, nitrato, fosfato, fenóis totais e cromatografia gasosa, e testes ecotoxicológicos agudos em diferentes concentrações com organismos de diferentes níveis tróficos (*S. subispicatus*, *D. magna*, *Artemia* sp., *D. rerio*, *L. sativa* e *A. cepa*). Foram identificadas características de esgoto *in natura* através da cromatografia e relações entre as concentrações encontradas nos testes físico-químicos e os comportamentos dos modelos testados nos bioensaios. Nos testes agudos encontrou-se estimulação da taxa de crescimento algal na maioria das concentrações testadas com *S. subispicatus* e em alguns dos pontos testados, interferência dos baixos índices de fosfato onde não houve crescimento e do alto índice de nitrato e amônia onde ocorreu inibição. Houve estimulação do crescimento total de *L. sativa* na maioria das concentrações e onde não houve crescimento os valores de amônia estavam elevados. Notou-se inibição do crescimento apical das raízes de *A. cepa* na maioria das concentrações, entretanto onde os índices de nitrato estavam mais baixos, as raízes cresceram iguais ao controle. Encontrou-se toxicidade para *Artemia* sp. principalmente nas concentrações onde os índices de amônia estavam mais altos. Ocorreram mortalidades, deformações e atrasos morfológicos nos modelos de *D. rerio*, onde os valores de amônia e nitrato estavam mais altos, as mortalidades também foram superiores. Nenhuma alteração ou mortalidade foi registrada nas concentrações testadas com *D. magna*, cujo modelo é um dos principais organismos-testes utilizados como referência na atual legislação. Conseqüentemente, faz-se necessária adoção de lei mais rigorosa e específica para esse tipo de efluente, sugere-se a revisão dos modelos utilizados pela legislação como parâmetros de qualidade ambiental, bem como o aumento de investimentos e incentivos para novos estudos nesta área.

**Palavras-chave:** Efluente hospitalar 1. Ecotoxicologia 2. Resíduos líquidos hospitalares 3.

## ABSTRACT

Hospital effluents are considered potentially hazardous pollutants. The lack of regulations on the subject to define the management and treatment of these effluents before disposal is worrying. Thus, we sought to characterize the effluent from the university hospital in the city of Florianópolis-SC, through physical-chemical and ecotoxicological tests. Physico-chemical analyzes of the parameters ammonia, nitrate, phosphate, total phenols and gas chromatography, and acute ecotoxicological tests in different concentrations with organisms of different trophic levels (*S. subispicatus*, *D. magna*, *Artemia* sp., *D. rerio*, *L. sativa* and *A. cepa*). Characteristics of fresh sewage were identified through chromatography and relationships between the concentrations found in the physical-chemical tests and the behaviors of the models tested in the bioassays. In the acute tests, stimulation of the algal growth rate was found in most of the concentrations tested with *S. subispicatus* and in some of the tested points, interference from the low levels of phosphate where there was no growth and the high level of nitrate and ammonia where inhibition occurred. Total growth of *L. sativa* was stimulated in most concentrations and where there was no growth, ammonia values were high. Inhibition of apical growth of *A. cepa* roots was observed in most concentrations, however where nitrate levels were lower, the roots grew equal to the control. Toxicity to *Artemia* sp. mainly in concentrations where the ammonia levels were higher. Mortalities, deformations and morphological delays occurred in the models of *D. rerio*, where the values of ammonia and nitrate were higher, the mortalities were also higher. No changes or mortality were recorded in the concentrations tested with *D. magna*, whose model is one of the main test organisms used as a reference in current legislation. Consequently, it is necessary to adopt a more rigorous and specific law for this type of effluent, it is suggested to revise the models used by the legislation as parameters of environmental quality, as well as to increase investments and incentives for further studies in this area.

**Keywords:** Hospital effluent 1. Ecotoxicology 2. Hospital Wastewater 3.



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
1.1	RESÍDUOS LÍQUIDOS HOSPITALARES.....	12
<b>1.1.1</b>	<b>Composição dos Resíduos Líquidos Hospitalares.....</b>	<b>13</b>
1.1.1.1	<i>Antibióticos encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares .....</i>	<i>14</i>
1.1.1.2	<i>Antivirais encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares .....</i>	<i>14</i>
1.1.1.3	<i>Analgésicos e anti-inflamatórios encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares.</i> .....	<i>14</i>
1.1.1.4	<i>Drogas psiquiátricas encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares.....</i>	<i>15</i>
1.1.1.5	<i>Detergentes e desinfetantes encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares.....</i>	<i>15</i>
1.1.1.6	<i>Produtos químicos de laboratório encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares</i> .....	<i>15</i>
1.1.1.7	<i>Meios de contraste de raios X encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares.....</i> .....	<i>16</i>
1.1.1.8	<i>Metais pesados e fármacos em geral encontrados em Resíduos Líquidos</i> <i>Hospitalares.....</i>	<i>16</i>
<b>1.1.2</b>	<b>Tratamento de Resíduos Líquidos Hospitalares.....</b>	<b>16</b>
1.2	LEGISLAÇÃO .....	18
<b>1.2.1</b>	<b>Legislação Federal pertinente sobre Resíduos Líquidos Hospitalares .....</b>	<b>19</b>
<b>1.2.2</b>	<b>Legislação Estadual pertinente sobre Resíduos Líquidos Hospitalares .....</b>	<b>20</b>
<b>1.2.3</b>	<b>Legislação Municipal pertinente sobre Resíduos Líquidos Hospitalares.....</b>	<b>20</b>
1.3	TOXICOLOGIA E TOXICOLOGIA AMBIENTAL.....	20
<b>1.3.1</b>	<b>Genotoxicidade e Ecotoxicidade dos Resíduos Líquidos Hospitalares .....</b>	<b>21</b>
<b>1.3.2</b>	<b>Avaliações Ecotoxicológicas e Genotoxicológicas em Resíduos Líquidos</b> <b>Hospitalares.....</b>	<b>22</b>
1.3.2.1	<i>Amostragem de Resíduos Líquidos Hospitalares .....</i>	<i>24</i>
<b>1.3.3</b>	<b>Bioindicadores utilizados em Avaliações Ecotoxicológicas.....</b>	<b>24</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO.....</b>	<b>26</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	26
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	26
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
3.1	AMOSTRAGEM.....	27

3.1.1	<b>Hospital.....</b>	<b>27</b>
3.1.2	<b>Pontos de coleta.....</b>	<b>28</b>
3.2	TESTES FÍSICO-QUÍMICOS .....	30
3.2.1	<b>Cromatografia.....</b>	<b>30</b>
3.2.1.1	<i>Preparação de amostra .....</i>	<i>30</i>
3.2.1.2	<i>Análises por GC-MS.....</i>	<i>31</i>
3.3	TESTES ECOTOXICOLÓGICOS .....	31
3.3.1	<b>Teste de toxicidade aguda em <i>Scenedesmus subspicatus</i>.....</b>	<b>31</b>
3.3.2	<b>Teste de toxicidade aguda em <i>Allium cepa</i> .....</b>	<b>32</b>
3.3.3	<b>Teste de toxicidade aguda em <i>Lactuca sativa</i>. .....</b>	<b>33</b>
3.3.4	<b>Teste de toxicidade aguda em <i>Artemia sp.</i>.....</b>	<b>33</b>
3.3.5	<b>Teste de toxicidade aguda em <i>Daphnia magna</i>.....</b>	<b>34</b>
3.3.6	<b>Teste de toxicidade aguda em <i>Danio rerio</i> .....</b>	<b>35</b>
4	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>36</b>
4.1	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	36
4.1.1	<b>Fenóis totais.....</b>	<b>37</b>
4.1.2	<b>Fosfato.....</b>	<b>38</b>
4.1.3	<b>Nitrogênio .....</b>	<b>39</b>
4.1.3.1	<i>Amônia.....</i>	<i>39</i>
4.1.3.2	<i>Nitrato.....</i>	<i>40</i>
4.1.4	<b>Análise Cromatográfica .....</b>	<b>43</b>
4.2	TESTE DE TOXICIDADE AGUDA EM SCENEDESMUS SUBSPICATUS ...	45
4.2.1	<b>Ponto A .....</b>	<b>46</b>
4.2.2	<b>Ponto B.....</b>	<b>48</b>
4.2.3	<b>Ponto C .....</b>	<b>50</b>
4.3	TESTE DE TOXICIDADE AGUDA EM <i>ALLIUM CEPA</i> .....	53
4.3.1	<b>Ponto A .....</b>	<b>53</b>
4.3.2	<b>Ponto B.....</b>	<b>54</b>
4.3.3	<b>Ponto C .....</b>	<b>56</b>
4.3.4	<b>Determinação de EC<sub>50</sub> das concentrações de efluente que promovem a redução de 50% (EC<sub>50</sub>) no crescimento de raízes e peso médio de raiz .....</b>	<b>58</b>
4.4	TESTE DE TOXICIDADE AGUDA EM <i>LACTUCA SATIVA</i> .....	59
4.4.1	<b>Ponto A .....</b>	<b>59</b>

4.4.2	<b>Ponto B.....</b>	<b>61</b>
4.4.3	<b>Ponto C .....</b>	<b>63</b>
4.5	TESTE DE TOXICIDADE AGUDA EM <i>ARTEMIA SP</i> .....	65
4.6	TESTE DE TOXICIDADE AGUDA EM <i>DAPHNIA MAGNA</i> .....	68
4.7	TESTE DE TOXICIDADE AGUDA EM <i>DANIO RERIO</i> .....	68
4.7.1	<b>Ponto A .....</b>	<b>69</b>
4.7.2	<b>Ponto B.....</b>	<b>72</b>
4.7.3	<b>Ponto C .....</b>	<b>75</b>
4.8	ANÁLISE COMPARATIVA DOS RESULTADOS .....	79
5	<b>CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES ????</b> .....	<b>84</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>86</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A água é um recurso de fundamental importância para os organismos vivos e imprescindível às diversas atividades humanas, sendo que as atividades antrópicas podem promover o comprometimento da qualidade dos recursos hídricos (BRUNCHCHEN et al. 2013). Todos os resíduos são provenientes de ações antrópicas, ou seja, oriundos do descarte do que não necessitamos mais, e o impacto desses resíduos na sociedade e no meio ambiente é um problema atual, e que vem tornando-se cada vez mais preocupante ao longo dos anos (VIEIRA, 2013).

Apesar da preocupação crescente com o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, acredita-se que pouca atenção venha sendo dada para o esgoto gerado nestes estabelecimentos (hospitais, clínicas, laboratórios), assim como para o seu tratamento e descarte adequados (VIEIRA, 2013). De fato, em quase todos os países do mundo, nenhuma distinção é feita entre as águas residuárias e os efluentes urbanos, e eles, juntamente com suas cargas potencialmente perigosas, são geralmente lançados diretamente na rede pública de esgoto. (VERLICCHI et al., 2012).

Hospitais são considerados como a maior fonte de contaminantes emergentes devido a suas diferentes atividades, e ao uso de uma grande variedade de substâncias para fins médicos, laboratoriais e em pesquisas. Após aplicações de medicamentos, desinfetantes e produtos farmacêuticos não metabolizados excretados pelos pacientes se tornam resíduos e juntam-se, tornando-se um efluente carregado de diferentes substâncias. Essa grande quantidade diferente de compostos é encontrada nos efluentes, que além de alterações físico-químicas, podem conferir características ecotoxicológicas e genotoxicológicas aos mesmos (PENAGOS, 2012).

Dado o grande número de substâncias usadas em hospitais, é necessário avaliar os riscos que representam para os ecossistemas aquáticos. Uma vez que os efluentes hospitalares além de apresentarem risco biológico, carregam produtos farmacêuticos, substâncias químicas, desinfetantes e reagentes, além de sangue, fezes, urina e líquidos serosos, também carregam consigo uma grande porcentagem de microrganismos (ORIAS, 2013).

Sendo uma fonte de bactérias multirresistentes e genes de resistência a antibióticos, hospitais põem a prova a necessidade de avaliações de processos capazes de controlar a descarga de medicamentos antimicrobianos em águas residuais (HOCQUET, 2016). Também considerando as múltiplas pesquisas e atividades laboratoriais realizadas nessas estruturas, bem como os tratamentos realizados e os medicamentos administrados e excretados dentro deles,

uma ampla gama de concentrações de substâncias perigosas estão presentes no efluente hospitalar (VERLICCHI et al., 2010).

### 1.1 RESÍDUOS LÍQUIDOS HOSPITALARES

Os Resíduos Líquidos Hospitalares (RLH) são compostos pelos efluentes de diferentes serviços: cozinha, lavanderia interna, sistemas de aquecimento e resfriamento, laboratórios, departamentos de radiologia, ambulatórios, centros de transfusão e enfermarias (VERLICCHI et al., 2012).

Os RLH são gerados de todas as atividades do hospital, incluindo serviços médicos (operações, emergências e primeiros socorros, laboratórios, diagnóstico, radiologia etc.) e não médicos (banheiros, cozinhas e atividades de lavanderia etc.), e estes podem ser classificados em duas categorias principais: descargas domésticas (de cozinhas, lavanderias e banheiros de enfermarias normais) e descargas específicas, geradas por atividades de cuidado, análise e pesquisa (CARRARO et al., 2016).

O consumo de água nos hospitais pode variar entre 400 e 1200 litros por leito ao dia, valor semelhante para os países em desenvolvimento que estaria em torno de 500 litros por leito ao dia. Este grande consumo, em relação à média de uma família, em torno de 100 litros por habitante ao dia, contribui para a geração de um grande volume final de efluente nestas instituições (SILVA, 2011).

A participação dos fluxos totais de águas residuais que são produzidas pelos hospitais é baixa e representa 0,2 e 2%. Os RLH são descarregados nos sistemas de esgotos, rios, lagos, e mares sem tratamento prévio. Em países de baixa renda, águas residuais podem ser em alguns casos liberadas diretamente em águas superficiais (HOCQUET, 2016).

Os RLH oriundos de serviços de saúde, têm sido cada vez mais estudados em função dos riscos ambientais gerados aos ecossistemas aquáticos, principalmente pelos descartes irregulares destes efluentes potencialmente perigosos e a sua ligação direta ao esgotamento urbano sem tratamento prévio, que posteriormente chegam a águas superficiais, compondo um dos principais problemas ambientais causados por eles (KUMAR, 2007)

Ressalta-se que os RLH constituem um risco potencial para o equilíbrio biológico dos ecossistemas aquáticos, especialmente gerados nas áreas de internamento, suportam muitas vezes substâncias com atividade genotóxica e citotóxica, dessa maneira, eles representam um risco potencial para a saúde pública através da circulação de agentes no ambiente e devem ser tratados antes da descarga (ORTOLAN, 2007).

Muito raramente, regulamentações nacionais ou regionais têm sido estabelecidas para definir o gerenciamento e tratamento dos RLH antes do descarte. O fato é que RLH foram e ainda são geralmente considerados com a mesma natureza poluidora dos efluentes domésticos e, portanto, comumente descartados nas redes públicas de esgoto urbano onde são sujeitos aos tratamentos convencionais. Essa prática é muito comum e relatada em diversos estudos recentes, salientando ainda que altas concentrações de fármacos, desinfetantes e até mesmo meios de contrastes para raios-x decorrentes dos hospitais, além da alta carga microbiológica, mostram-se altamente resistentes a esse tipo de tratamento (VERLICCHI, 2015).

Segundo Vieira (2013), até o presente momento não há gestão de RLH em nosso país, salvo pontuais exceções, e embora sejam poucos estudos sobre este tipo de efluente, é possível questionar quanto ao perigo que os RLH podem representar para a saúde pública, uma vez que eles são geralmente dispensados diretamente aos recursos hídricos sem tratamento.

Leprat (1999), na avaliação de RLH do Complexo Universitário Hospitalar de Limoges na França, observou que a contagem de microrganismos do efluente era menor do que a observada em esgotos domésticos. Esta redução foi atribuída às grandes concentrações de substâncias cloradas, metais pesados, além de outras propriedades tóxicas e bactericidas. No entanto, observou que os microrganismos presentes eram, em geral, multirresistentes, provavelmente em função da adaptação destes ao ambiente onde se encontram, podendo constituir vetores de risco à saúde pública.

### **1.1.1 Composição dos Resíduos Líquidos Hospitalares**

Os RLH podem conter potencialmente algumas substâncias perigosas com atividade genotóxica ou citotóxica, produtos químicos tóxicos e perigosos, resíduos farmacêuticos e agentes radioativos e infecciosos (WHO, 2013).

Uma preocupação emergente com os RLH são os produtos químicos encontrados em sua composição sem status regulatório, cujo impacto no meio ambiente e na saúde humana é pouco compreendido. Além de fezes contagiosas, líquidos biológicos, resíduos de drogas, radioelementos metálicos e muitos outros produtos químicos (ácidos, álcalis, solventes, benzeno, hidrocarbonetos, corantes, etc.) (CARRARO et al., 2016).

Esses dados confirmam a evidência da grande variabilidade de características dos RLH devido às muitas variáveis que entram em jogo. Além disso, estas substâncias podem ter comportamentos diferentes nas Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR's) devido às suas diferentes solubilidades, volatilidade, peso molecular, adsorvibilidade e

biodegradabilidade, polaridade, estabilidade, meia-vida e persistência (CARRARO et al., 2016).

#### *1.1.1.1 Antibióticos encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares*

Grandes quantidades de antibióticos são descartadas em águas residuais e exercem pressão seletiva contínua sobre bactérias. Essa pressão seletiva antimicrobiana é particularmente elevada em hospitais, um estudo mostra que 20 a 30% dos pacientes europeus internados recebem tratamento com antibióticos durante a internação hospitalar, o que conseqüentemente, torna os hospitais nichos ecológicos para resistência a antibióticos (HOCQUET et al, 2016).

Estudos que focalizam comparações entre RLH e efluentes urbanos mostraram que a concentração de fármacos nos efluentes hospitalares é maior do que em efluentes urbanos para quase todos os compostos, em especial antibióticos (CARRARO et al., 2016).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou um Plano de Ação Global sobre Resistência Antimicrobiana (AMR) em 2015 e exige que todos os países criem um plano de ação nacional (WHO, 2015).

#### *1.1.1.2 Antivirais encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares*

Entre os fármacos mais avaliados, os antibióticos são sempre super-representados, já por outro lado os antivirais estão geralmente quase ausentes dos estudos. Alguns antivirais são compostos predominantemente bioacumuláveis, como o ritonavir encontrado em RLH. Essa observação ilustra a importância de se avaliar outros compostos não tão consumíveis e comumente citados como os antibióticos e detergentes, e atentar para outros critérios, como a bioacumulação, para a escolha dos compostos a serem avaliados (ORIAS, 2013).

#### *1.1.1.3 Analgésicos e anti-inflamatórios encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares*

Os fármacos mais frequentemente detectados, e muitas vezes em concentrações mais elevadas, pertencem ao grupo analgésicos e anti-inflamatórios. Uma razão possível para os altos níveis desses compostos pode ser sua acessibilidade e uso extensivo pelos consumidores (GUERRA et al., 2014).

A fonte de contribuição de analgésicos e anti-inflamatórios ao meio ambiente é a atividade antropogênica que inclui principalmente a excreção humana, o descarte de efluentes nas linhas de fabricação ou o despejo direto de produtos vencidos. Estes compostos atingem o esgoto urbano e, conseqüentemente, as ETAR's, onde passam por vários processos biológicos ou físico-químicos diferentes, dependendo das características do composto alvo e dos parâmetros operacionais da estação. As eficiências de remoção destes compostos nas ETAR's são altamente variáveis e além disso, também há um grande número de compostos que atualmente não está sujeito à legislação de qualidade da água, em parte devido à falta de conhecimento de seu destino e impacto nas águas residuais e no meio ambiente (GALLARDO-ALTAMIRANO et al., 2018).

#### *1.1.1.4 Drogas psiquiátricas encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares*

Compostos psiquiátricos como uma classe importante de produtos farmacêuticos têm atraído grande atenção. Esses produtos farmacêuticos comumente incluem ansiolíticos, sedativos, hipnóticos, antiepilépticos, antidepressivos e outros. Alguns pesquisadores descobriram que esses compostos causam potenciais efeitos negativos em organismos aquáticos não-alvo, mesmo em concentrações muito baixas (XIANG, 2018).

#### *1.1.1.5 Detergentes e desinfetantes encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares*

A ampla gama de atividades realizadas pelos hospitais (cuidados, diagnósticos, higiene, manutenção, etc.) leva ao uso de uma grande variedade substâncias potencialmente ecotóxicas, tais como surfactantes e desinfetantes (ORIAS, 2013).

#### *1.1.1.6 Produtos químicos de laboratório encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares*

O principal risco físico derivado de RLH está associado a substâncias radioativas nos efluentes, que são utilizadas em terapias de medicina nuclear (CARRARO et al., 2016).

Nos últimos anos, a questão dos compostos farmacêuticos em águas residuais tornou-se uma grande preocupação para saúde pública e meio ambiente. Isso levou ao lançamento de vários estudos de monitoramento sobre os compostos mais comumente encontrados em efluentes e águas superficiais. (VERLICCHI et al., 2012)



A Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou que os serviços de saúde contribuem com até 5% da liberação de mercúrio a massas de água através de águas residuais não tratadas (CARRARO et al., 2016).

#### *1.1.1.7 Meios de contraste de raios X encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares*

O meio de contraste de raios X é a fonte de compostos de AOX (em particular moléculas de iodo). Estes compostos são tóxicos para peixes e outros organismos aquáticos em baixas concentrações (CARRARO et al., 2016).

Produtos usados para diagnósticos, estão presentes em grandes quantidades tanto nos efluentes hospitalares quanto no meio ambiente. Além de que praticamente não há dados ecotoxicológicos relacionados a esses compostos (ORIAS, 2013).

#### *1.1.1.8 Metais pesados e fármacos em geral encontrados em Resíduos Líquidos Hospitalares*

Os metais pesados são determinantes quanto à toxicidade que os mesmos representam ao ecossistema, quando lançados aos recursos hídricos, sendo acumulados nas bases dos níveis tróficos e conseqüentemente se estendendo por toda a teia alimentar desses ecossistemas. Entre as classes de vertebrados, os peixes representam o último nível trófico de transferência dos metais pesados (SILVEIRA, 2004).

Metais pesados e desinfetantes com atividades antibacterianas também podem favorecer persistência de bactérias multirresistentes no microbioma de águas residuais (HOCQUET, 2016).

Alguns fármacos como ansiolíticos, sedativos, hipnóticos, antiepiléticos e antidepressivos são capazes de causar efeitos adversos nos seres humanos até mesmo em baixas concentrações. (XIANG, 2018).

### **1.1.2 Tratamento de Resíduos Líquidos Hospitalares**

Dado a concentração e diversidade, e sabendo das conseqüências que podem causar os poluentes que contém um hospital, aumenta-se o estímulo à pesquisa sobre instrumentos que minimizem tal impacto, desse modo, considera-se que o pré-tratamento seria um instrumento de auxílio útil para a reduzir o impacto dos RLH (VIERA, 2013).

Devido à natureza e à quantidade dos micropoluentes que abrigam, como as substâncias ativas de medicamentos e seus metabólitos, produtos químicos, metais pesados, desinfetantes, esterilizadores e marcadores radioativos, que normalmente estão presentes em concentrações de  $\mu\text{g/L}$ , eles devem ser tratados com um cuidado especial (VERLICCHI et al., 2012).

No entanto, Estações de Tratamento (ET's) geralmente não são adaptadas para tratar os poluentes presentes nesses efluentes específicos. Além de que, os RLH podem ser mais de 150 vezes mais concentrados em micropoluentes do que efluentes urbanos, merecendo assim atenção diferenciada (VERLICCHI, 2010).

É necessário que se estabeleça um pré-tratamento eficiente e que não gere resíduos, reduzindo os custos gastos com a utilização de métodos para a eliminação total de microrganismos, inclusive a redução de gastos com energia e com medicina curativa para tratar as doenças adquiridas pela população através da má qualidade da água (VIERA, 2013).

Os RLH em todo o mundo são carregados com bactérias multirresistentes, entretanto, apenas poucos países recomendam tratamentos específicos antes do lançamento. Na natureza as bactérias podem rapidamente adaptar-se, usualmente pela transferência horizontal de genes, sendo notável hoje a resistência delas a diversos antibióticos (XU, et al., 2007).

Especialmente nos hospitais, é de se esperar que haja formação de um considerável banco genético associado à resistência bacteriana, principalmente se levar-se em consideração que exista um acúmulo de bactérias patogênicas e não-patogênicas sob constante pressão de seleção evolutiva exercida pelo tratamento de pacientes com antibióticos. Desse modo, seria prudente que resíduos hospitalares fossem sempre tratados com especial atenção, dificultando a disseminação de agentes infecciosos no ambiente (VECHIA, 2009).

Para Verlicchi (2015), a segregação e tratamento especial parecem adequados para efluentes específicos, incluindo efluentes gerados nas áreas de radiologia, também para o efluente de lavanderias, setores oncológicos e laboratórios de análises clínicas.

Nos estabelecimentos assistenciais de saúde, são geradas grandes quantidades de resíduos líquidos provenientes de fármacos e, portanto, devem possuir unidade própria e adequada para tratamento de esgoto. Para a realização de um tratamento de RLH é preciso que se estabeleça um local propício a receber este efluente, uma vez que hospitais em funcionamento, muitas vezes edificações antigas e que dispõem de pouco espaço físico para novas construções, tornam a proposta de um tratamento compacto ser a mais indicada (PAIVA, 2011).

O gerenciamento e tratamento de RLH, está estritamente correlacionada ao tamanho do hospital e a dimensão da área de captação, e deve ser definido com base em um estudo de viabilidade técnica e econômica que se concentraria na adoção de medidas adequadas e capazes de reduzir a carga poluente (macro e micro) descarregada no ecossistema aquático (VERLICCHI, 2015).

Estes estudos merecem ser completados pela caracterização da ecotoxicidade do efluente e pelos compostos que transportam, tendo em conta os efeitos potenciais causados mesmo por concentrações muito baixas de certos compostos presentes (ORIAS, 2013).

No entanto, os estabelecimentos de saúde, públicos e privados deixam de cumprir as determinações legais devido à ausência de fiscalização ou dificuldade de implantação dos instrumentos de tratamento prévio do efluente antes do descarte na rede pública de saneamento básico (VIERA, 2013).

## 1.2 LEGISLAÇÃO

No Brasil há uma série de legislações e normatizações sobre a questão dos resíduos sólidos, tanto domésticos quanto de serviços de saúde. Vieira (2013) diz que a base do marco legal sobre resíduos sólidos de saúde é fornecida pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA).

A Lei de Crimes Ambientais estabelece que a responsabilidade sobre os resíduos gerados, que está plenamente cumprida quando os materiais são reciclados ou reaproveitados e permanece mesmo após o tratamento e a disposição adequada de qualquer tipo de resíduo gerado. Mas ainda assim, através de estratégias jurídicas, é tangenciada a questão dos RLH.

Dessa forma, fez-se necessária a adoção de medidas e parâmetros a fim de caracterizar estes efluentes, como por exemplo, o que é estabelecido pelas Resoluções do CONAMA nº 357, de Março de 2005; e nº 430, de Maio de 2011, 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.

Mais uma vez Vieira (2013) afirma que há falhas no sistema de fiscalização das legislações vigentes tornando leviana a ação dos estabelecimentos de saúde que, por redução de custos ou outro, deixam de realizar o tratamento adequado dos RLH, que possuem uma legislação vigente que não é fiscalizada e, por isso e por falhas na formação e orientação dos profissionais de saúde, não é cumprida.

É notável que não exista um claro empenho na iniciativa de criar-se mais normativas para gestão dos RLH. Faltam políticas que mostrem a preocupação governamental que o tema exige, por sua complexidade e impacto direto na sociedade. Vieira (2013) acredita que sob a ótica da gestão ambiental percebe-se que urge a necessidade de adotar medidas de gestão acerca deste silencioso impacto que, por esse motivo carece de fiscalização sob as leis vigentes

E como conclui muito bem, Vieira (2013) nota ao longo de toda a legislação a necessidade de integração dos órgãos ambientais e de saúde na gestão eficaz dos resíduos e na minimização dos impactos à saúde pública e ao meio ambiente. Estes órgãos possuem o caráter fiscalizador, mas, especialmente os órgãos de saúde, tem a responsabilidade de adequar as atividades dos estabelecimentos de saúde às diretrizes por eles elaboradas e fiscalizadas. Ou seja, constata-se que os estabelecimentos subordinados ao Ministério da Saúde, por exemplo, não cumprem o que o próprio Ministério legisla e fiscaliza.

### **1.2.1 Legislação Federal pertinente sobre Resíduos Líquidos Hospitalares**

- *Lei N° 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 (BRASIL).

- *Lei N° 8.080, de 19 de setembro de 1990.* Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências (BRASIL).

- *Lei N° 9.433, de 8 de janeiro de 1997.* Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, cria o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos (BRASIL).

- *Lei N° 9.605, de 12 de fevereiro de 1998.* Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências (BRASIL).

- *Lei N° 12.305, de 2 de agosto 2010 -* Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos (BRASIL).

- *Resolução CONAMA N° 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 (BRASIL).

- *Resolução CONAMA N° 358, de abril de 2005.* Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências (BRASIL).

- *Resolução CONAMA N° 430, de 13 de maio 2011.* Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n° 357/2005 (BRASIL).

- *Resolução RDC N° 33, de 25 de fevereiro de 2003.* Regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de saúde (BRASIL).

- *Resolução RDC N° 306, de 7 de dezembro de 2004.* Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde (BRASIL).

- *Resolução RDC N° 222, de 28 de março de 2018.* Regulamenta as Boas Práticas de Gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde e dá outras providências (BRASIL).

### **1.2.2 Legislação Estadual pertinente sobre Resíduos Líquidos Hospitalares**

- *Lei N° 14.675, de 13 de abril de 2009.* Institui o Código Estadual do Meio Ambiente e estabelece outras providências (SANTA CATARINA).

- *Lei N° 9.748, de 30 de novembro de 1994.* Dispõe sobre a Política Estadual de Recursos Hídricos e dá outras providências (SANTA CATARINA).

### **1.2.3 Legislação Municipal pertinente sobre Resíduos Líquidos Hospitalares**

- *Lei N° 1.224, de 02 de setembro de 1974.* Institui o Código de Posturas Municipal (FLORIANÓPOLIS).

- *Lei N° 4.645, de 21 de junho de 1995.* Institui a Fundação municipal do meio ambiente (FLORIANÓPOLIS).

## **1.3 TOXICOLOGIA E TOXICOLOGIA AMBIENTAL**

A toxicologia é uma ciência que estuda os efeitos nocivos decorrentes das interações de substâncias químicas com o organismo sob condições específicas de exposição (SANTUCCI, 2016). A toxicologia ambiental por sua vez, investiga a conexão entre a exposição do ambiente a agentes e seus efeitos nas populações e ecossistemas, estudando assuntos como problemas reprodutivos, declínios populacionais e a disposição de contaminantes na cadeia trófica (DA SILVA et al., 2003).

A toxicologia ganhou maior importância no Brasil nos anos 80, devido aos possíveis danos causados pelas atividades humanas, como a geração de efluentes e resíduos sólidos,

líquidos e gasosos que comumente acumulam-se na atmosfera, no solo ou na água (SANTUCCI, 2016).

A comunidade científica como um todo admite hoje que a saúde humana depende da saúde ambiental e que a contínua degradação ameaça a qualidade de vida (DA SILVA et al., 2003). Neste ponto, a ecotoxicologia, ramo da toxicologia voltado à ecologia, estuda a interação dos seres vivos entre si e com o meio ambiente em que vivem. A Ecotoxicologia é conceituada como o estudo dos efeitos tóxicos de substâncias químicas e efluentes industriais em uma população, na comunidade e também no ecossistema, bem como das medidas necessárias para prevenir, conter ou tratar os danos causados (OGA et al., 2014).

Em estudos ecotoxicológicos o maior objetivo é a detecção da causa-efeito entre sistemas biológicos e as misturas complexas de poluentes ao quais são expostos. Muitos dos contaminantes presentes em nosso ambiente afetam os organismos de forma direta, sendo de efeito agudo e de rápida detecção, podendo causar distúrbios fisiológicos, problemas no desenvolvimento e/ou diminuindo o tempo de vida (DA SILVA et al., 2003).

O efeito tóxico crônico é definido como efeito deletério aos organismos vivos causado por agentes físicos ou químicos que afetam uma ou várias funções biológicas dos organismos, tais como a reprodução, o crescimento e o comportamento, em um período de exposição que pode abranger a totalidade de seu ciclo de vida ou parte dele (BRETANO, 2006).

Alguns destes agentes exógenos também afetam o DNA dos organismos induzindo tumores e/ou mutações genéticas. Algumas vezes, estes efeitos podem vir a ser detectados muitos anos depois da exposição, dificultando a associação com os agentes causadores (DA SILVA et al., 2003).

Os toxicologistas tem se detido no entendimento dos mecanismos de toxicidade e na dosagem dos níveis de contaminantes nos tecidos dos organismos e em amostra ambientais. A ecotoxicologia vem se desenvolvendo muito na última década, com ênfase intensa no efeito potencial dos químicos na saúde humana (DA SILVA et al., 2003).

### **1.3.1 Genotoxicidade e Ecotoxicidade dos Resíduos Líquidos Hospitalares**

Definir a genotoxicidade e a ecotoxicidade dos RLH, para prevenir os possíveis danos causados ao ecossistema deveria ser considerado de extrema prioridade no intuito de avaliação de qualidade ambiental. Essa tarefa, embora tentadora à primeira vista, é sempre difícil de ser realizada devido ao considerável número de fenômenos a serem considerados em relação à ecotoxicidade de um efluente. Pode-se mencionar os fenômenos de sinergia ecotoxicológica e

até mesmo de antagonismo que existem entre os compostos do mesmo efluente, bem como os efeitos influenciados pelo pH e dureza, por exemplo (ORIAS, 2013).

A genotoxicidade das misturas pode ser sinergicamente aumentada quando comparada com a genotoxicidade dos componentes da mistura testados individualmente. Além de que, uma fonte de atividade genotóxica, pode somente ser detectada após muitas pessoas serem expostas por muitos anos, sendo necessário uma ação preventiva (DA SILVA et al., 2003).

Os RLH apresentam grande impacto ambiental, entre os mais relevantes está a genotoxicidade, ou seja, a capacidade que algumas substâncias têm de induzir alterações no material genético de organismos a elas expostos (PAIVA, 2011).

Resumindo a genotoxicidade estuda sob o aspecto genético o que perturba a vida ou induz a morte tanto a nível de célula como de organismo. A genotoxicidade é uma especialidade relativamente recente e se situa na interface entre a toxicologia e genética por isto denominada frequentemente também de genética toxicológica (DA SILVA et al., 2003).

Os dados ecotoxicológicos de quaisquer substâncias são essenciais para uma suplementação teórica e mais ainda para efeitos de comparação. Globalmente mais de 100 compostos são detectados em RLH sem ecotoxicidade experimental. As taxas de consumo e excreção, biodegradabilidade, bioacumulabilidade e ecotoxicidade dos compostos são alguns critérios importantes dos químicos que devem ser levados em consideração para avaliar os efeitos dos RLH (ORIAS, 2013).

Numerosos compostos são “órfãos” de dados de ecotoxicidade, um estudo mostra que 48% de 297 compostos que foram procurados em diferentes trabalhos não apresentavam dados experimentais de ecotoxicidade (ORIAS, 2013).

Agencias de controle ambiental de diferentes países, vem recomendando a utilização de conjuntos de testes para avaliação de substancias quanto as suas características genotóxicas com vistas a sua regulamentação para consumo ou liberação para o ambiente (DA SILVA et al., 2003).

### **1.3.2 Avaliações Ecotoxicológicas e Genotoxicológicas em Resíduos Líquidos Hospitalares**

O estudo toxicológico de amostras ambientais deve ser extremamente dinâmico acompanhando a descoberta e a diversidade cada vez maior de compostos químicos, sintéticos ou naturais, lançados ao meio e para se conhecer o significado dos agentes tóxicos é necessário avaliar a sua biodisponibilidade através de bioensaios (DA SILVA et al., 2003).

Em relação ao uso de testes de toxicidade com organismos, também chamados de bioensaios, são feitos em laboratório que determinam o grau ou o efeito biológico de uma substância desconhecida ou de uma substância-teste (OGA et al., 2014).

Através de bioensaios, pode-se concluir a concentração na qual a substância provoca efeito adverso, percebida em 50% dos indivíduos observados, ou se a substância é capaz de provocar câncer (carcinogenia), provocar danos ao feto (teratogenia) ou desregular a atividade endócrina (desruptor endócrino). Com a utilização desses testes, é possível determinar se alguma substância é capaz de deformar alguma estrutura do tecido ou da célula ou ainda se existe tendência a acumular-se em tecido específico ou órgão (OGA et al., 2014).

Atualmente, avaliações genotoxicológicas estão sendo intensamente pesquisadas pois se relacionam com malformações, doenças congênitas genéticas e degenerativas, envelhecimento celular e do corpo, e o câncer, entre outras coisas (DA SILVA et al., 2003).

Os bioensaios diferem principalmente quanto ao tempo de exposição do organismo-teste ao agente ou substância a ser testado. Portanto, os bioensaios podem ser agudo ou crônicos. Teste de toxicidade aguda são estudos experimentais feitos com organismos-teste que determinam se um efeito adverso observado ocorre em um curto período de tempo (em geral até 14 dias) após administração de uma única dose da substância testada ou após múltiplas dosagens administradas em até 24 horas. Já nos testes de toxicidade crônica, os organismos-teste são observados durante uma grande parte do seu tempo de vida, quando acontece a exposição ao agente-teste; os efeitos crônicos persistem por um longo período de tempo, e podem ser evidentes imediatamente após a exposição ou não (DUFFUS, 1993).

Baixas concentrações de certos agentes tóxicos podem ser quimicamente não detectáveis por métodos analíticos, necessitando a utilização de sistemas biológicos para a detecção. A fim de investigar as diferenças entre os RLH e efluentes urbanos, é aconselhável uma avaliação do risco (agudo e crônico) imposta aos organismos aquáticos pelos efluentes (VERLICCHI et al., 2012).

Atualmente no Brasil os testes crônicos são contemplados na Resolução CONAMA N°357 e exigidos para realização do enquadramento dos corpos hídricos sendo que para fins de interpretação. A mesma resolução descreve em seu artigo 8º, inciso 4º que possíveis interações entre as substâncias e a presença de contaminantes não listados na resolução, passíveis de causar danos aos seres vivos, deverão ser investigadas utilizando-se ensaios reconhecidos (BRETANO, 2006).

O emprego de testes de toxicidade permite avaliar os possíveis impactos que a simples caracterização física e química da água não revelam, onde se sabe que apenas a análise físico-



química não é suficiente para definir a toxicidade das substâncias, sendo que pode haver processos sinérgicos e antagônicos sobre os organismos (MENDES, 2004).

Existe uma necessidade crítica de se avaliar os efeitos biológicos das misturas químicas. Sistemas biomarcadores e organismos testes cuidadosamente selecionados podem proporcionar monitoramentos mais rápidos e econômicos da toxicidade de misturas complexas as quais estamos expostos (DA SILVA et al., 2003).

#### *1.3.2.1 Amostragem de Resíduos Líquidos Hospitalares*

Para uma variabilidade da composição amostral, a interferência de certos setores hospitalares deve ser levada em consideração. Dentre estes a lavanderia é o setor que apresenta maior relevância na geração de efluentes, suas características complexas podem atribuir ao efluente menor biodegradabilidade, além de conter a presença de microrganismos patogênicos, desinfetantes, antibióticos, agentes de limpeza, surfactantes, umectantes, entre outros. Essas características resistentes são o que atribuem caráter nocivo a esse efluente da lavanderia hospitalar, causando complicações no tratamento biológico das estações de tratamento e apresentando riscos aos ecossistemas aquáticos nos quais esse efluente é lançado (SOUZA, 2012).

Poucos autores se concentraram em medir a fase particulada dos efluentes, no entanto, a concentração de contaminantes pode ser até cinco vezes maior quando se mede uma amostra não filtrada. Esta adsorção de poluentes na fase particulada e as consequências que isso implica para a ecotoxicidade já foram observados com outros tipos de efluentes e é essencial levar isso em conta para realizar uma avaliação precisa da ecotoxicidade dos RLH (ORIAS 2013).

O manejo e armazenagem das amostras recém coletadas deve ocorrer de maneira cautelosa. A presença de substâncias altamente voláteis em RLH e a subsequente transferência potencial em fase gasosa podem conduzir a uma variação considerável da ecotoxicidade ao longo do tempo. Este fenômeno pode ocorrer, em especial, quando o efluente flui para os sistemas urbanos de esgotos, ou durante o transporte e conservação de amostras no laboratório em condições inadequadas (ORIAS, 2013).

### **1.3.3 Bioindicadores utilizados em Avaliações Ecotoxicológicas**

Constitui-se um problema o fato de os organismos na natureza estarem expostos a uma complexa mistura de compostos, fazendo com que técnicas analíticas não informem muito no que diz respeito a extrapolação aos danos biológicos (SILVA et al., 2003).

Além da avaliação de parâmetros físico-químicos, é também relevante a utilização de ensaios ecotoxicológicos em organismos bioindicadores, como forma de se obter melhor avaliação da qualidade de mananciais hídricos contaminados (GOMES et al., 2012; TALLINI et al., 2012).

Os bioindicadores quando expostos a contaminantes reagem de forma a modificar suas funções vitais normais, fornecendo assim, respostas acerca das condições ambientais do corpo hídrico onde as reações comumente observadas são a redução do crescimento de população, perda de capacidade reprodutiva, mudanças fisiológicas e morfológicas, morte e redução significativa de tamanho, entre outras (MENDES, 2004).

Testes de toxicidade aguda, sub-crônica e crônica avaliam parâmetros deletérios drásticos. Desta forma, o uso de biomarcadores de alterações bioquímicas, fisiológicas e morfológicas em organismos-teste vem ganhando espaço como mecanismo de avaliação de impacto ambiental (STREB et al., 2002).

Portanto, o uso de testes ecotoxicológicos com diferentes organismos bioindicadores como microcrustáceos, peixes e vegetais aliado à determinação de parâmetros físico-químicos são ferramentas importantes para uma melhor avaliação da qualidade de mananciais hídricos contaminados por resíduos provenientes de atividade antrópica (BRUNCHCHEN et al. 2013).

Em geral, organismos bioindicadores são utilizados em metodologias que buscam testar sua sobrevivência. Para este propósito, testes de toxicidade aguda de microcrustáceos (por exemplo, *Artemia* sp., *Daphnia magna*) têm sido indicados, juntamente com outros organismos, como bactérias, fungos e peixes (SVENSSON et al., 2005; SAURABH et al., 2005). Vários estudos relataram o uso bem-sucedido de plantas superiores como um bioensaio de triagem sensível e rápido para avaliar a contaminação do ar, solo, águas superficiais e subterrâneas e efluentes residenciais e industriais.

Entre esses biomarcadores estão aqueles que avaliam a genotoxicidade resultante da exposição a agentes tóxicos em ambientes aquáticos. Testes de fragmentação de DNA (ensaio Cometa) e de atividade de clivagem de DNA plasmidial têm sido sugeridos para aproveitar ao máximo esses biomarcadores (SREEDHARA & COWAN, 2001).

## 2 OBJETIVO

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo a caracterização físico-química e toxicológica, através de ensaios ecotoxicológicos, de amostras do efluente hospitalar do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU/UFSC)

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar análise cromatográfica em amostras de efluente hospitalar do HU/UFSC para detectar componentes químicos característicos do efluente;
- Realizar testes físico-químicos analisando os parâmetros Amônia, Fosfato, Nitrato, Fenóis Totais (método folin e 4-aminoantipirina) em amostras de efluente hospitalar do HU/UFSC;
- Realizar testes de toxicidade aguda com os organismos-teste *Scenedesmus subspicatus*, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, *Artemia* sp., *Daphnia magna*, *Danio rerio* em amostras de efluente hospitalar do HU/UFSC;
- Fazer uma análise comparativa dos resultados visando identificar ou explicar quais características são responsáveis pela sua toxicidade.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

O carácter metodológico da pesquisa é quantitativo e experimental, onde a busca pelos resultados dar-se-ão através da coleta de dados dos experimentos realizados.

#### 3.1 AMOSTRAGEM

##### 3.1.1 Hospital

O Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU/UFSC) (Figura 1) foi a instituição escolhida para análise de seus efluentes.

**Figura 1 – Vista aérea 3D do HU/UFSC.**



Fonte: Google Maps.

Este situa-se dentro do campus da Universidade Federal de Santa Catarina, a aproximadamente a 1km ao norte está o Parque do Manguezal do Itacorubi, a pouco menos de

3km a sudoeste encontra-se o mar e a pouco mais de 4km a sudeste encontra-se a Lagoa da Conceição, localizado no coração da Ilha de Florianópolis. A cidade é densamente povoada no verão devido ao fluxo turístico e nos meses de pico (dezembro a março) a população torna-se muitas vezes superior a residente.

É um hospital de tamanho médio com 240 leitos ativos e aproximadamente 1300 funcionários permanentes. Atende exclusivamente usuários do sistema único de saúde, com ampla demanda nas áreas de câncer e cirurgias de grande porte, sendo referência em ensino, pesquisa e assistência, e também referência estadual em patologias complexas, clínicas e cirúrgicas. Tem uma capacidade de atendimento de 35.000 pacientes/mês (PGRSS, 2016).

A população do HU gira em torno de 20.000 mil pessoas/mês, incluindo servidores, pacientes, clientes, acompanhantes, professores, alunos de graduação de diferentes cursos, alunos de cursos técnicos e visitantes. Destes, 13.000 são de usuários dos serviços. Gerando cerca de 1.000 Kg de resíduos por dia. Possui rede de esgoto ligada à rede coletora pública, a qual é a responsável pelo tratamento externo (PGRSS,2016).

### 3.1.2 Pontos de coleta

Escolheu-se três pontos para realização das coletas (pontos A, B e C). Optou-se por coletar duas amostras (Ponto A e Ponto B) de cada lado distinto do hospital, tentando excluir a zona da lavanderia (círculo na Figura 2), e uma terceira amostra geral (Ponto C), no final da rede e incluindo a lavanderia (Figura 2). A escolha dos pontos excluindo a lavanderia teve como objetivo diversificar a composição das amostras.

**Figura 2 – Vista aérea dos Pontos de Coleta.**



Fonte: Google Maps e autor.



•**Ponto A:** recebe efluentes dos setores da Pediatria Adulta, Hemodiálise, Nutrição, Cirúrgica 1, Clínica Médica 2, Neonatal, Emergência Adulta, Centro Cirúrgico, Esterilização, Centro de Obstetrícia e Sala de Parto.

•**Ponto B:** recebe efluentes dos setores dos Ambulatórios (Alas A, B, C, D, E e F), Capela, Pequenas Cirurgias, Cirúrgica 2, Alojamento Conjunto, Direção, Prédio Didático Medicina, Laboratórios.

•**Ponto C:** recebe efluentes de todos setores do hospital, incluindo os setores da Anatomia Patológica, Creche, Farmácia, Lavanderia e a Divisão de Manutenção.

As coletas das amostras do RLH (5 L em cada ponto) foram feitas em garrafas de politereftalato de etileno., diretamente nas respectivas fossas sépticas (Figura 3). Durante a coleta, não houve qualquer tipo de filtração, segregação ou separação. O RLH foi captado juntamente com vestígios sólidos que pudesse haver no local e momento, buscando a maior fidedignidade da amostra.

**Figura 3 – Pontos de coleta A, B e C, respectivamente.**



Fonte: Autor, 2018.

Tomou-se cuidado com a vedação, retirando todo o espaço vazio da garrafa para eliminar o ar. Após cada coleta, as amostras eram encaminhadas imediatamente para conservação no laboratório. No trajeto, durante o transporte, evitou-se movimentos bruscos que pudessem ocasionar bolhas nos recipientes.

Foram realizadas quatro coletas de cada um dos pontos ao longo do ano, sendo a primeira delas usada apenas para prospecção e viabilidade do trabalho. As demais coletas foram utilizadas para os testes ecotoxicológicos.

- A coleta realizada para prospecção ocorreu entre as 06h00min e 7h00min do dia 26 de fevereiro de 2018;
- A primeira coleta foi realizada entre as 12h00min e 13h00min do dia 01 de agosto de 2018;
- A segunda coleta foi realizada entre as 10h00min e 11h00min do dia 19 de outubro de 2018;
- A terceira coleta foi realizada entre as 11h00min e 12h00min do dia 4 de dezembro de 2018.

## 3.2 TESTES FÍSICO-QUÍMICOS

As análises dos parâmetros físico-químicos foram feitas seguindo a metodologia do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater e American Public Health Association (APHA, 2005), todas em triplicatas, para cálculo dos resultados, foi feito a média entre os resultados obtidos. Foram analisados os parâmetros: amônia, nitrato, fosfato e fenóis totais (pelo método da aminoantipirina e folin).

### 3.2.1 Cromatografia

#### 3.2.1.1 Preparação de amostra

As amostras de efluente foram preparadas para a análise usando procedimento previamente validado. Resumidamente, 30 mL da amostra foram extraídos usando 30 mL de éter metil terc-butilico (MTBE). O extrato obtido foi evaporado até o volume de 1 mL e transferido para o cartucho de limpeza de sílica gel / sulfato de sódio anidro. Antes da limpeza, o cartucho foi pré-condicionado com 5 ml de metanol. Os analitos foram eluídos usando MTBE (10 mL), o eluato foi evaporado sob a corrente de nitrogênio e reconstituído com o volume de 0,5 mL. O extrato obtido foi seco sob uma corrente de N<sub>2</sub> e derivado usando N,O-bis (trimetilsil) trifluoroacetamida (BSTFA) em acetonitrila para formar éteres TMS (éteres trimetilsilil) a 70°C por 1 hora antes das medições instrumentais.

### 3.2.1.2 Análises por GC-MS

Uma coluna de GC Zebron ZB-5MSi - Phenomenex (EUA) foi empregada nessas análises: 10 m, 0,18 mm i.d. capilar de sílica fundida, revestido com fase estacionária de 5% de fenil a 95% de dimetil polisiloxano, espessura de filme de 0,18  $\mu\text{m}$ , para um trabalho rápido de GC / MS. O hélio foi usado como gás de arraste e um instrumento Dani Master TOF-MS (Itália). Amostra de 1,5  $\mu\text{L}$  foi injetada; e as condições de análise com temperatura inicial do forno 50°C, tempo de equilíbrio de 1 min; a programação da temperatura foi de 15°C/min a 295°C, depois com um período isotérmico final de 3 min. Os compostos foram identificados experimentalmente pela biblioteca espectral padrão (NIST02L) e pela literatura relatada.

## 3.3 TESES ECOTOXICOLÓGICOS

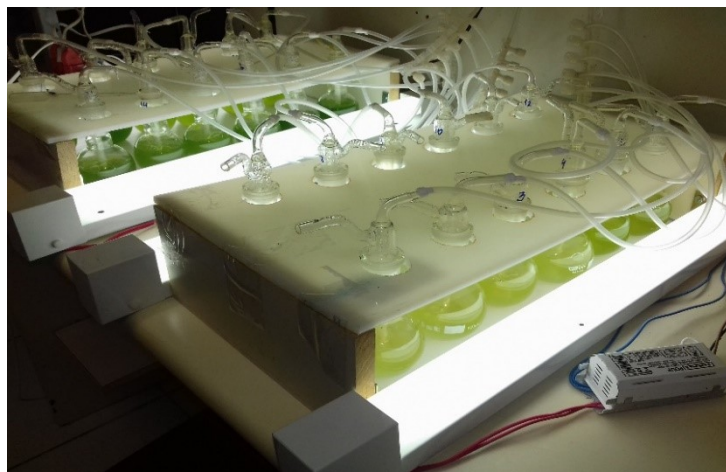
### 3.3.1 Teste de toxicidade aguda em *Scenedesmus subspicatus*

Para os testes de Inibição de Crescimento algal, foi utilizada a alga verde de água doce *Desmodesmus subspicatus*, seguindo os protocolos da OECD Guidelines - Test nº 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test.

Foram feitos bioensaios com meios de cultivo contendo concentrações diferentes efluente (6,25%, 12,5%, 25% 50% e 100%). Essas concentrações foram escolhidas com base no fato de que efluentes variam a sua concentração conforme são descartados em um corpo receptor. Para o crescimento das algas controles, foi utilizado somente o meio de cultivo. Os testes foram feitos na maioria dos casos em quadruplicatas, mas também, em triplicata e duplicata quando não fora possível. Seguindo a Norma DIN 38.412, parte 33, de março de 1991, com as devidas adaptações para as condições locais já testadas no Laboratório de Avaliação Ecotoxicológica (LAETOX) da UFSC (Figura 4).



**Figura 4 – Estrutura do teste de toxicidade aguda em *Scenedesmus subspicatus*.**



Fonte: Autor, 2018.

A base de avaliação para este teste é a comparação da taxa de crescimento algal em soluções-teste nas condições de ensaio, com aquelas do controle, que não contém a substância em estudo. O teste foi iniciado com um inóculo de alga, a temperatura de 25 °C, luminosidade de 2500 lux e aeração constante. Os ensaios tiveram duração de 96 horas, sendo que a cada 24 horas foi retirada uma alíquota de 1 mL, com pipeta, agitando para que a amostra fosse a mais homogênea possível e assim medir a transmitância. A partir dos valores de transmitância, foram calculadas as taxas de crescimento algal. Para a obtenção do resultado final, mede-se a taxa de inibição do crescimento algal.

### **3.3.2 Teste de toxicidade aguda em *Allium cepa***

Observou-se a inibição do crescimento radicular em *A. cepa* para examinar a toxicidade do efluente. Obtiveram-se os espécimes de *A. cepa* de fonte comercial e expostos a 50 mL de efluente diluídos em água mineral natural obtida comercialmente, nas concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100% em tubos cônicos à temperatura ambiente, por sete dias, no escuro, neste período, monitorou-se as amostras para manter o bulbo em contato constante com o efluente (Figura 5). Ao final do período de exposição, mensurou-se o comprimento da maior raiz de cada bulbo e determinou-se a concentração efetiva média (EC50) por regressão sigmoideal não linear, aplicando o modelo matemático de Boltzmann. Também calculou-se a inibição relativa do crescimento radicular e expressou-se em porcentagem (BORTOLOTTO et al., 2009).

**Figura 5 – Estrutura do Teste de toxicidade aguda em *Allium cepa*.**

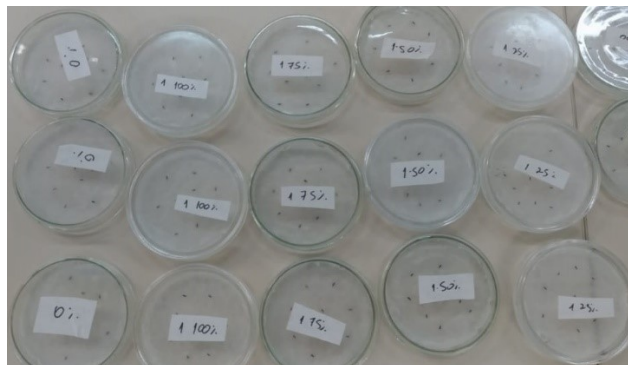


Fonte: Autor, 2018.

### 3.3.3 Teste de toxicidade aguda em *Lactuca sativa*.

Realizou-se a germinação de sementes de *L. sativa* de acordo com Bortolotto et al. (2017). Acomodou-se as sementes em papel embebido em 2 mL do eluato em placa de Petri (90 mm) a 22 °C no escuro (Figura 6). Utilizou-se as seguintes concentrações de efluente, 0%, 25%, 50%, 75% e 100%, a fim de identificar as concentrações tóxicas e subtóxicas. Determinou-se o percentual de sementes germinadas e o crescimento das plântulas 72 h após a exposição inicial. Comparou-se a germinação e crescimento em cada concentração ao grupo controle (0%).

**Figura 6 – Estrutura do Teste de toxicidade aguda em *Lactuca sativa*.**

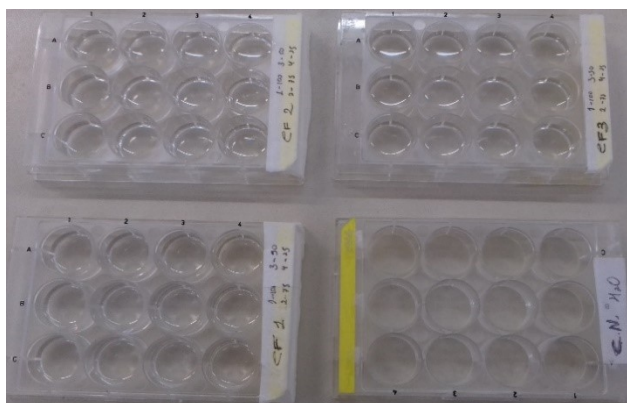


Fonte: Autor, 2018.

### 3.3.4 Teste de toxicidade aguda em *Artemia* sp.

Avaliou-se a toxicidade com *Artemia* sp. de acordo com Netto et al. (2013). Como meio de incubação para os cistos de *Artemia* sp. Utilizou-se uma solução de salina preparada com sal marinho sintético (30 g/L). Expuseram-se indivíduos jovens aos efluentes em placas de múltiplos poços com 2 mL de cada concentração (0%, 25%, 50%, 75% e 100%) e o meio controle (0%) (Figura 7). Após 24h de exposição, o número de organismos mortos foi observado.

**Figura 7 – Estrutura do teste de toxicidade aguda em *Artemia* sp.**



Fonte: Autor, 2018.

### 3.3.5 Teste de toxicidade aguda em *Daphnia magna*

O microcrustáceo *Daphnia magna*, cladóceros de águas continentais, constitui importante ferramenta em estudos de avaliação ambiental (GILLIS et al., 2005), por ser de fácil cultivo, rápido crescimento e fornecer respostas importantes em curto período de exposição.

De acordo com a ISO 6341 (2012), as daphnias cultivadas no Laboratório de Avaliação Ecotoxicológica (LAETOX) da UFSC estavam aptas para serem utilizadas nos testes de toxicidade (aguda e crônica) com as amostras de água.

Realizou-se o teste de toxicidade aguda de acordo com o protocolo OECD Guidelines – Test nº 202: *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test (2004). O método de ensaio consistiu na exposição de indivíduos jovens (2 a 24 horas de vida) do organismo-teste por um período de 24h a 48h a diferentes diluições (6.25%, 12.5%, 25%, 50%, 100%) das amostras.

Todos os procedimentos relativos ao cultivo dos organismos e a sua manipulação refletem na sua sensibilidade, cuja estabilidade é essencial para a confiabilidade dos resultados dos testes.

### 3.3.6 Teste de toxicidade aguda em *Danio rerio*

Realizou-se a avaliação segundo o Protocolo: OECD Guidelines – Test nº 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test (2013). A avaliação da toxicidade embrionária ocorreu sob diferentes concentrações (0%; 30%, 50%; 100%) das amostras do efluente e foram realizadas de acordo com a orientação do protocolo 236 Organização para a Cooperação Econômica e Desenvolvimento em zebrafish.

Ovos fertilizados da espécie *Danio rerio* foram obtidos a partir de reprodução natural de indivíduos adultos sob condições laboratoriais controladas. Pares de macho/fêmea eram individualizados em aquários num sistema de água aerada, à temperatura de  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas luz e 8 horas de obscuridade, sendo alimentados duas vezes por dia. As posturas ocorriam no início do ciclo de luz, os ovos eram recolhidos até cerca de quatro horas após a postura. Os ovos utilizados nos testes de toxicidade encontravam-se ainda na fase de blástula.

Foram avaliados os parâmetros: coagulação de embriões de ovos fertilizados; ausência ou má formação dos somitos; retardo no desenvolvimento dos somitos; presença de edema; má formação da cauda e/ou coluna vertebral; batimentos cardíacos; alterações morfológicas ao final de 96h.

## 4 RESULTADOS

As amostras da primeira coleta realizada não se mostraram potencialmente satisfatórias e foram utilizadas apenas para prospecção. A coleta foi realizada entre as 06h00min e as 7h00min, horário em que muito provavelmente a maioria dos pacientes ainda estivessem dormindo e as atividades hospitalares (chegada de funcionários para jornada de trabalho, início das atividades da lavanderia, visitas médicas aos quartos dos pacientes, etc...) estivessem começando ou funcionando apenas o básico para emergências.

Após tal experiência, constatou-se que o horário escolhido na primeira abordagem não correspondia ao devido potencial amostral existente e fez-se as demais amostragens levando em conta o período de maior atividade no hospital, visto que o horário pode influenciar na concentração de poluentes no efluente. Este período do dia em que a produção de efluentes é mais acentuada situa-se entre 09h00min e 12h00min, pois é um período de intensa atividade hospitalar (ORIAS, 2013).

Os resultados dos testes serão apresentados, especificamente, por ponto de coleta (A, B, C) separadamente, e, para cada ponto, os resultados encontrados em cada coleta (1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup>). Optou-se por uma análise particular de ponto de coleta visando a melhor caracterização das propriedades físico-químicas e do potencial de toxicidade, dadas as circunstâncias únicas que cada local de amostragem representa, conforme descrito na metodologia (item 3.1.2).

Comparar a composição dos RLH com sua ecotoxicidade pode dar-nos uma explicação mais clara da origem da toxicidade e, deste modo, alertar sobre os compostos a serem tratados com prioridade ou eliminados do consumo em hospitais. Portanto, do ponto de vista ecotoxicológico, interessa-nos avaliar o possível impacto ambiental que esse tipo de efluente pode causar, cujo significado para a saúde humana ainda é amplamente desconhecido (ORTOLAN, 2007).

Da mesma forma, foram realizadas três coletas em cada ponto, em datas diferentes, com o objetivo de avaliar a variação temporal da composição e do potencial de toxicidade em cada momento. Assim, foram apresentadas e discutidas cada uma das coletas.

### 4.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Para discussão sobre os parâmetros físico-químicos utilizou-se como referência as legislações federal e estadual pertinente ao padrão de lançamento de efluentes nos corpos hídricos (Tabela 1), pela carência de legislação municipal referente ao tema não houve

comparação nessa esfera. Foram utilizadas como base a Lei nº 14.675, de 13 de abril de 2009, que Institui o Código Estadual do Meio Ambiente e estabelece outras providências, onde no artigo 117º, estabelece as concentrações máximas de parâmetros físico-químicos que devem ser obedecidos antes do descarte direto ou indireto em corpos hídricos receptores e a Resolução do CONAMA nº 430, de 13 de maio 2011, que Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357/2005.

**Tabela 1 – Condições e padrões de parâmetros físico-químicos para lançamento de efluentes segundo legislação federal e estadual.**

Parâmetro	Conama 430/2011	Lei Estadual 14675/2009
Fenóis	0,5 mg/L	0,2 mg/L
Fósforo	-	4 mg/L
Nitrogênio Amoniacal	20 mg/L	-

Fonte: Tabelas apresentadas nas legislações e elaborado pelo autor. Os outros elementos testados não estão previstos na legislação.

#### 4.1.1 Fenóis totais

Para a detecção dos compostos fenólicos, foram utilizadas duas técnicas diferentes, a 4-aminoantipirina (4-AA) e o Folin. A legislação federal vigente, CONAMA 430/2011 (BRASIL) especifica o valor de 0,5 mg/L para substâncias que reagem com 4-aminoantipirina. Porém, com base na experiência do próprio Laboratório de Avaliação Ecotoxicológica e da literatura (BARBOSA, 2015) mas esse padrão não se aplica a todas as condições, pois ele mensura apenas compostos fenólicos de baixa massa molecular. A legislação estadual, Lei 14675/2009 (SANTA CATARINA), especifica o valor de 0,2 mg/L e não especifica o método a ser utilizado, porém, subentende-se que é o método da 4-AA.

Compostos fenólicos com maior massa molecular, encontrados em produtos de limpeza e fármacos podem ser dosados pelo método Folin. No presente trabalho, as amostras dos RLH exibiram baixas concentrações de compostos fenólicos utilizando a técnica da 4-AA e para técnica Folin, foi possível observar a presença desses componentes em grande concentração, em todos os pontos e coletas (Tabela 2).

Quando confrontados com as legislações, as amostras analisadas através do 4-AA ficaram abaixo dos padrões estabelecidos, tendo sido encontrado dentre todos pontos e coletas o maior valor médio de 0,037 mg/L (Ponto C, 1ª coleta). Entretanto, para o método Folin, os

parâmetros apresentaram valores muito superiores aos padrões, onde a menor média dentre as análises foi de 2,345 mg/L (Ponto A, 1ª coleta) chegando até a 8,481 mg/L (Ponto A, 2ª coleta).

As amostras exibiram diferenças quantitativas tanto entre os pontos amostrados na mesma coleta, como entre as diferentes coletas no mesmo ponto, mostrando a grande variação composicional que ocorre nesta mistura de substâncias que são os RLH. Processos realizados cotidianamente como atividades de limpeza e tratamentos clínicos com fármacos, que como mencionados acima são grandes fontes de compostos fenólicos, não obedecem a padrões de execução e estão sempre ocorrendo conforme demanda. Esses podem ser potenciais motivos para a variação encontrada nas amostras.

#### **4.1.2 Fosfato**

O fósforo aparece na forma de fosfatos e está presente em corpos hídricos devido principalmente às descargas de esgoto sanitário (WAISER et al., 2011). Na legislação federal (CONAMA 430/2011) fica estabelecido no Art. 17 que o órgão ambiental competente pode definir padrões específicos para o fósforo, em caso de lançamento em corpos receptores com histórico de floração de cianobactérias, em trechos onde ocorra a captação para abastecimento público. Mas não estabelece nenhum valor para ser usado como referência.

Na legislação estadual (Lei 14675/2009) aparece que deve ser observado o limite de 4 mg/L de concentração de fósforo total para lançamentos em trechos de lagoas, lagoas e estuários. Concentrações elevadas de fósforo são apontadas como o principal responsável pela eutrofização da água. Junto com o nitrogênio aumentam as concentrações de nutrientes nos ecossistemas aquáticos, decorrendo no aumento da biomassa local (WAISER et al., 2011).

Nutriente essencial para o crescimento de plantas e produção de biomassa, o fósforo também contribui nos processos fisiológicos, como síntese de ácidos nucleicos e proteínas, divisão celular e formação de tecidos meristemáticos (PARVAGE et al., 2013).

Dos resultados obtidos (Tabela 2), apenas um ponto em uma coleta se manteve abaixo do padrão estadual, tendo a média de 3,364 mg/L (Ponto A, 1ª coleta). Os demais resultados, com exceção do ponto B da 2ª coleta que apresentou a média 5,81 mg/L, demonstraram valores acima dos 10 mg/L. As amostras da 3ª coleta mostraram os maiores valores médios de concentração de fosfato total. Como será discutido na seção seguinte dos resultados ecotoxicológicos, essa característica afeta o crescimento das algas.

Da mesma forma que as análises de fenóis, as amostras apresentaram variação entre os pontos da mesma coleta e entre as diferentes coletas de um mesmo ponto. Como já

mencionado, a dinâmica de trabalho do hospital, variável, pode justificar a oscilação obtida nos resultados. Em estudo realizado no México (ALVAREZ et al., 2018) encontrou valores 7,9 mg/L para níveis de fosfato total em efluente hospitalar.

### 4.1.3 Nitrogênio

#### 4.1.3.1 Amônia

O nitrogênio pode ser encontrado nas formas de nitrogênio orgânico, nitrito, nitrato e amônia. O corpo humano excreta o nitrogênio principalmente na forma de ureia, que por sua vez, através de ações microbiológicas, transforma-se em amônia. O nitrogênio amoniacal, expressão pela qual também é conhecida a amônia, é uma forma reduzida do nitrogênio, e pode ser encontrada no ambiente em lugares onde são despejados esgotos não tratados. Desse modo, altas concentrações de amônia podem ser relacionadas com a presença de resíduos domésticos lançados por efluentes líquidos (CETESB, 2014).

A Resolução do CONAMA nº 430 estabelece um valor de 20 mg/L como limite para nitrogênio amoniacal. Todas as amostras apresentaram valores bem abaixo do permitido pela legislação (Tabela 2), tendo como teto o valor de 3,8 mg/L no ponto C da 3ª coleta. Os resultados mostraram-se semelhantes, com exceção de apenas dois pontos em coletas distintas, os demais permaneceram na faixa de 2,78 a 3,8 mg/L. Em estudo semelhante realizado por Alvarez et al. (2018) foram encontrados valores de 0,79 mg/L para quantidades de amônia em amostras de efluente hospitalar.

Houve variância entre os pontos para os resultados da 1ª coleta, sendo encontrado um intervalo de 0,56 a 3,1 mg/L. As coletas 2ª e 3ª tiveram intervalos bem inferiores, mantendo suas médias variando aproximadamente  $\pm 0,8$  mg/L na 2ª coleta e  $\pm 0,3$  mg/L na 3ª coleta. Tais resultados são inesperados, levando-se em conta que os efluentes contem resíduos de esgoto. Comparando-se com resultados da literatura, para efluentes de hospital, os valores são realmente mais baixos, onde os valores normalmente encontrados estão no intervalo de 10 a 30 mg/L (BORTOLOTTI et al., 2017).

No estudo de Boillot (2008) vários poluentes específicos foram detectados: glutaraldeídos, cloro livre, detergentes, além de álcoois, acetona, formaldeído, acetaldeído, amônia, fenóis e vários metais.



#### 4.1.3.2 Nitrato

O nitrito e o nitrato são as formas oxidadas do nitrogênio. Por isso, se coletarmos amostras de água em um corpo hídrico poluído e nas análises predominarem as formas reduzidas, pode-se inferir que o foco de poluição está próximo, ou que o ambiente é redutor. Se as formas oxidadas predominarem, o foco da poluição pode estar mais distante (CETESB, 2014).

A legislação vigente não traz nenhum valor limite especificamente para nitrato tratando-se de lançamento de efluente. Nenhuma das esferas, federal, estadual ou municipal, trata a substância como passível de enquadramento. Perante os resultados encontrados (Tabela 2), observou-se variância entre os pontos da mesma coleta e também entre as coletas. O maior valor encontrado foi de 5,63 mg/L no ponto C da 1ª coleta e o menor foi de 1,09 mg/L também no ponto C, mas na 3ª coleta.

Uma vez que as coletas foram realizadas nos pontos de descarte os mais próximos possíveis de suas emissões, esperava-se encontrar valores inferiores para nitrato em relação a amônia, entretanto, ainda que não distantes, em sua maioria os resultados apresentaram-se superiores para nitrato. Alvarez et al. (2018) encontrou valores de 20 mg/L de N total em sua análise físico-química em efluente hospitalar.

Os resultados obtidos na 1ª coleta foram superiores aos de amônia em todos os pontos. O ponto B, particularmente, em relação aos valores de amônia, na 2ª coleta mostrou uma média inferior e na 3ª coleta superior. Os pontos A e C, ao contrário, apresentaram valores superiores na 2ª coleta e inferiores na 3ª.

**Tabela 2 – Valores dos parâmetros físico-químicos: de fenóis (método Folin e método 4-aminoantipirina), fosfato, nitrato e amônia da 1ª, 2ª e 3ª coleta, das análises realizadas em triplicata.**

Parâmetro	Ponto	1ª Coleta	2ª Coleta	3ª Coleta
		Média ± Desvio Padrão	Média ± Desvio Padrão	Média ± Desvio Padrão
Fenóis (mg/L) (Método Folin)	A	2,345 ± 0,021	8,481 ± 0,266	7,117 ± 0,885
	B	7,203 ± 0,312	4,475 ± 0,166	3,569 ± 0,216
	C	7,086 ± 0,144	7,925 ± 0,305	3,659 ± 0,314
Fenóis (mg/L) (Método 4-AA)	A	0,005 ± 0,009	0,033 ± 0,006	0,014 ± 0,002
	B	0,021 ± 0,005	0,021 ± 0,006	0,025 ± 0,002
	C	0,037 ± 0,008	0,033 ± 0,004	0,024 ± 0,006
Fosfato (mg/L)	A	3,364 ± 0,355	11,919 ± 2,11	16,907 ± 1,844
	B	10,043 ± 0,016	5,81 ± 1,782	11,591 ± 2,485
	C	13,009 ± 1,409	11,41 ± 0,764	11,528 ± 0,784
Nitrato (mg/L)	A	3,542 ± 0,349	4,162 ± 0,674	3,163 ± 0,13
	B	4,485 ± 0,400	1,934 ± 0,202	3,86 ± 0,564
	C	5,632 ± 0,382	3,225 ± 0,546	1,094 ± 0,694
Amônia (mg/L)	A	0,561 ± 0,029	2,783 ± 0,067	3,515 ± 0,07
	B	3,140 ± 0,024	2,213 ± 0,04	3,519 ± 0,06
	C	2,844 ± 0,349	2,932 ± 0,256	3,801 ± 0,077

Fonte: Elaborada pelo autor.



#### 4.1.4 Análise Cromatográfica

Tendo como objetivo a caracterização qualitativa da amostra e levantar dados sobre a composição do RLH em estudo, foram realizadas análises cromatográficas (CG-MS), como descrito na metodologia. Em suma, mais de 200 substâncias diferentes foram encontradas, representando os mais diferentes grupos químicos e concentrações. Dentre estes, escolhemos alguns como os mais significativos para que o objetivo da análise fosse contemplado, ou seja, caracterizar o efluente como oriundo de esgoto hospitalar (Tabela 3).

Para esta análise foi utilizada amostra do ponto C (que se refere ao efluente final do HU), pois acreditou-se ser dentre os três pontos, o mais relevante uma vez que recebe todos os efluentes do hospital. Neste primeiro momento e para esta proposta de estudo, julgou-se não ser necessário maior aprofundamento na identificação de todas as substâncias encontradas e sua quantificação, uma vez que esse é um trabalho minucioso, demorado e oneroso.

**Tabela 3 – Substâncias encontradas em cromatografia realizada em amostra de efluente do HU.**

Substância	Descrição
AMIFENAZOL	Estimulante respiratório.
BROMAZEPAM	Ansiolítico, hipnótico, relaxante neuro-músculo-equelético e sedativo.
PARACETAMOL	Analgésico e antipirético.
CAFÉINA	Estimulante natural.
2-METILQUINOXALINA	Aromatizante artificial.
AZITROMICINA	Antibiótico.
DIBUTILFTALATO (DBP)	Plastificante e aditivo usado em adesivos e tintas de impressão.
CICLOBARBITAL	Sedativo e hipnótico.
CIPROFLOXACINA	Antibiótico de amplo espectro.
COLESTEROL	Esteróide do grupo dos álcoois, essencial ao organismo.
HIDANTOÍNA	Produto da reação de Ácido Glicólico e Ureia.
COPROSTANOL	Biomarcador para a presença de matéria fecal humana.
3-ETILFENOL	Químico fotográfico, acoplador do tom ciano em papel fotográfico.
ZEARALENONA	Micotoxina.

Fonte: Elaborado pelo autor.

- Amifenzol: é um estimulante respiratório tradicionalmente usado como antídoto para overdose de barbitúricos ou opiáceos, geralmente em combinação com bemegrinde, bem como envenenamento por outras drogas sedativas e tratamento de insuficiência respiratória por outras causas (ANVISA, 2019).

•Bromazepam: utilizado para tratamento de ansiedade, tensão e outras queixas físicas ou psicológicas associadas à síndrome de ansiedade. É indicado também como auxiliar no tratamento de ansiedade e agitação associadas a quadros psiquiátricos, como transtornos do humor (doenças psiquiátricas em que o indivíduo apresenta depressão ou euforia desproporcionais) e esquizofrenia (doença psiquiátrica em que costumam ocorrer alucinações). Os benzodiazepínicos são indicados apenas quando o transtorno submete o indivíduo a extremo desconforto, é grave ou incapacitante (ANVISA, 2019).

•Paracetamol: indicado para redução da febre e para o alívio temporário de dores leves a moderadas, tais como: dores associadas a resfriados comuns, dor de cabeça, dor no corpo, dor de dente, dor nas costas, dores musculares, dores leves associadas a artrites e cólicas menstruais (ANVISA, 2019).

•Cafeína: um dos componentes do café, é uma droga estimulante que atua nos receptores de adenosina, aumentando a atividade dopaminérgica. Tem um efeito estimulante no sistema nervoso central, que reduz a sensação de fadiga e facilita o esforço intelectual, apesar do sono. Além disso, tem efeitos em muitos sistemas do organismo (GÁLLIGO, 2013).

•Azitromicina: indicada no tratamento de infecções causadas por bactérias sensíveis à azitromicina; em infecções do trato respiratório inferior e superior, incluindo sinusite, faringite ou amigdalite; infecções da pele e tecidos moles; em otite média aguda e nas doenças sexualmente transmissíveis não complicadas no homem e na mulher, devido à clamídia e gonorreia (ANVISA, 2019).

•Ciprofloxacina: utilizado em adultos no tratamento de diversas infecções complicadas e não complicadas (do trato respiratório, dos olhos, dos rins, da pele, dos ossos) e infecções ou risco de infecção, em pacientes com sistema imunológico comprometido e em crianças para infecção aguda na fibrose cística (ANVISA, 2019).

Em estudo realizado sobre fármacos encontrados em águas residuais no Canadá, os compostos Azitromicina e Ciprofloxacina foram os compostos antibióticos encontrados na maior concentração. Além disso, as concentrações de antibióticos detectados em águas residuais no inverno foram determinadas como sendo maiores do que as detectadas no verão (AYDIN et al., 2019).

•Colesterol: composto químico gorduroso que integra a membrana das células do organismo. Como esta substância integra as células do corpo, é natural que os alimentos de origem animal sejam ricos em colesterol. O colesterol é um componente fundamental para a integridade das células e para a produção de hormônios.

- Zearalenona: é uma micotoxina que imita o hormônio reprodutivo estrogênio, produzida principalmente pelo fungo *Fusarium graminearum*, o mesmo fungo produtor de deoxinivalenol em milho e cereais de inverno (APS, 2019).

- Hidantoína: ou glicolilureia, é um composto orgânico heterocíclico, sólido e incolor que surge da reação do ácido glicólico e ureia. É um derivado oxidado da imidazolidina.

- Coprostanol: formado a partir da biohidrogenação do colesterol no intestino da maioria dos animais. É frequentemente usado como um biomarcador para a presença de matéria fecal humana no meio ambiente.

As principais substâncias químicas que podem ser encontradas em RLH são antibióticos, analgésicos e anti-inflamatórios, drogas psiquiátricas, b-bloqueadores, anestésicos, desinfetantes, produtos químicos de laboratório, soluções de revelador e revelador de processamento de filme fotográfico e meios de contraste de raios X (WHO, 2013).

Azuma (2019) encontrou 58 produtos farmacêuticos e 6 bactérias resistentes a medicamentos em efluentes hospitalares. Os efluentes da hemodiálise apresentaram altas concentrações de nitritos, fosfatos, sulfatos, amônia e nitrogênio total (MACHADO et al., 2014).

Assim com neste estudo, Mondragón (2019) também encontrou resultados mostrando que as propriedades físico-químicas estavam dentro dos valores permitidos pela regulamentação vigente, mas, no entanto, detectou contaminantes como metais, antibióticos, anti-inflamatórios, hormônios e betabloqueadores.

#### 4.2 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA EM *SCENEDESMUS SUBSPICATUS*

Bioensaios com algas são importantes tanto para a estimativa da presença de substâncias tóxicas que inibem o crescimento, como para substâncias que o estimulam. Em particular, as algas fotossintéticas são importantes nestes ecossistemas, pois representam a base da cadeia alimentar e qualquer alteração na abundância e composição desta comunidade pode causar graves efeitos sobre organismos em níveis mais elevados. Uma recente revisão destaca a importância de algas do fitoplâncton na detecção de efeitos ecotoxicológicos de baixas concentrações de alguns medicamentos encontrados em amostras ambientais (BLAISE et al., 2006).

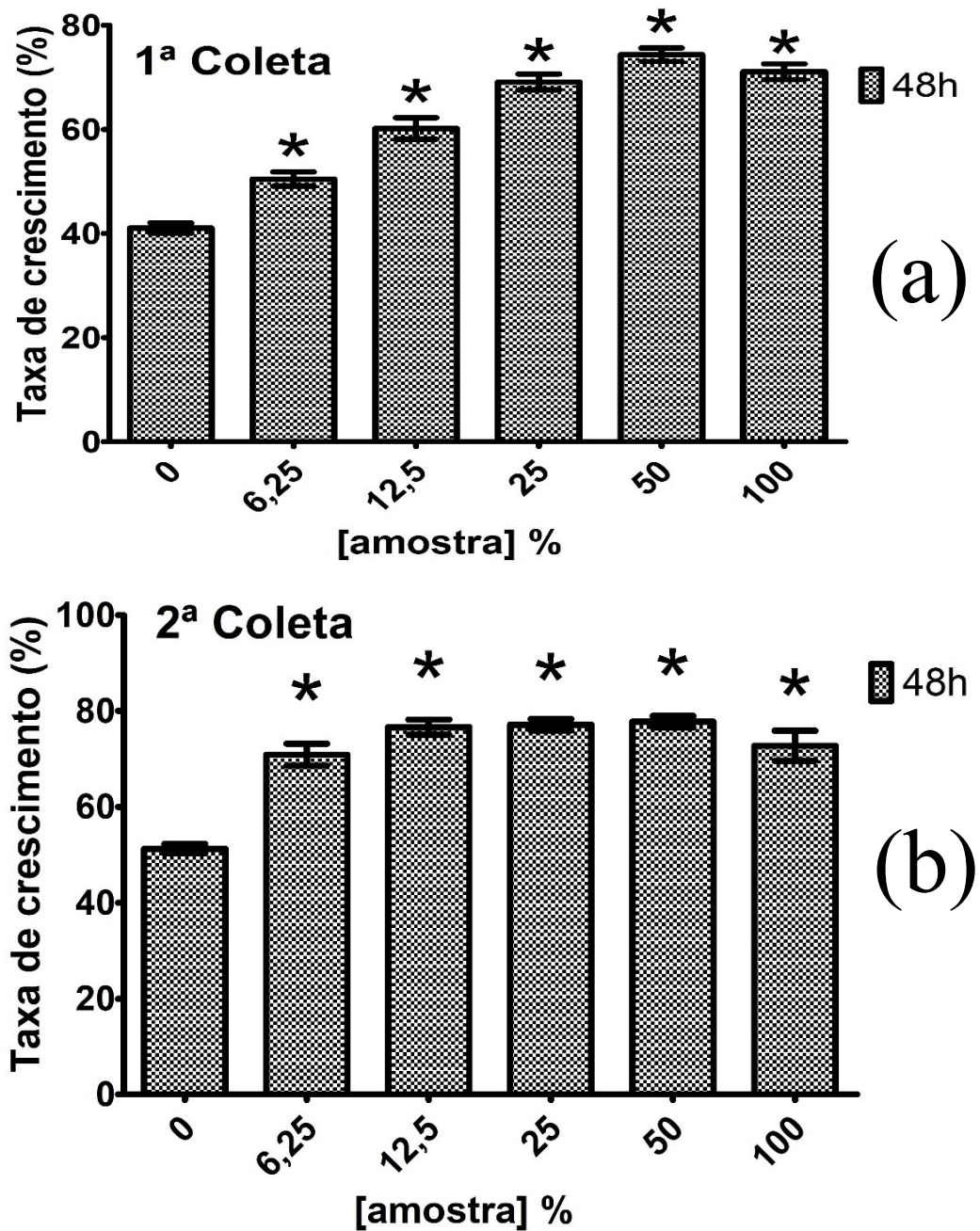
#### 4.2.1 Ponto A

De acordo com os resultados apresentados no Gráficos 1, o teste de toxicidade aguda demonstrou que a taxa de crescimento da alga é afetada positivamente em todas as concentrações de efluente testadas, no ponto A, nas três coletas. As algas incubadas nas diferentes concentrações tiveram seu crescimento aumentado e estatisticamente diferente do controle, com exceção apenas das amostras com concentrações de 6,25%, 12,5%, e 100%, da 3ª coleta, que não apresentaram resultados estatisticamente diferentes do controle. Porém, os aumentos na taxa de crescimento não foram diretamente proporcionais à variação da concentração do efluente, com exceção da amostra da primeira coleta, para concentrações de 6,25% para 50%. Os resultados demonstraram que os efluentes, se lançados no meio ambiente, poderiam causar efeitos de eutrofização. Avaliando-se os valores de nitrogênio e fosfato das respectivas amostras de efluente (Tabela 2), observa-se que o conteúdo de nitrogênio e fosfato são elevados, fato esse esperado, uma vez que os efluentes testados contém resíduos de esgoto. Estudos relatados na literatura (COLLOS & HARRISON, 2014) demonstram que, nessas condições, alta relação Nitrogênio/Fósforo, são capazes de promover o fenômeno de eutrofização.

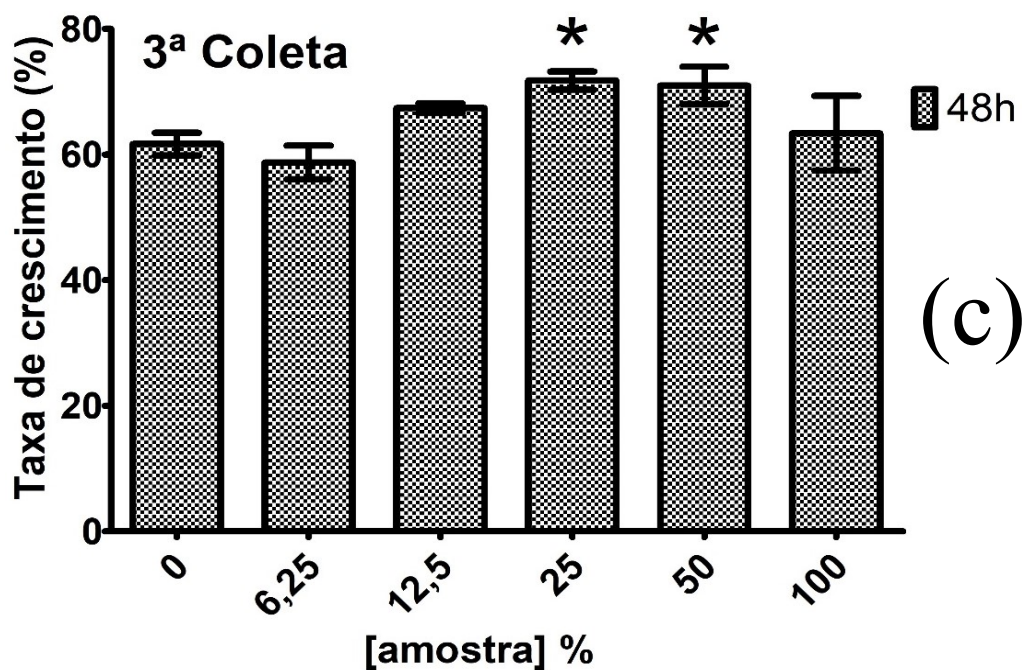
Os valores das taxas de crescimento apresentaram-se elevados e com comportamentos variados entre as coletas, sinalizando a variação da composição e o potencial ecotóxico das misturas. Todas amostras deste ponto demonstraram estimulação do crescimento, nenhuma amostra apresentou inibição de crescimento.

Gráfico 1 – Valores da taxa de crescimento algal em diferentes concentrações de amostras do ponto A em teste agudo (48h) com *Scenedesmus subspicatus* na 1ª coleta (a), 2ª coleta (b) e 3ª coleta (c).

[\*=valores estatisticamente significativos diferentes do controle (p<0,05).]







Fonte: Elaborado pelo autor.

#### 4.2.2 Ponto B

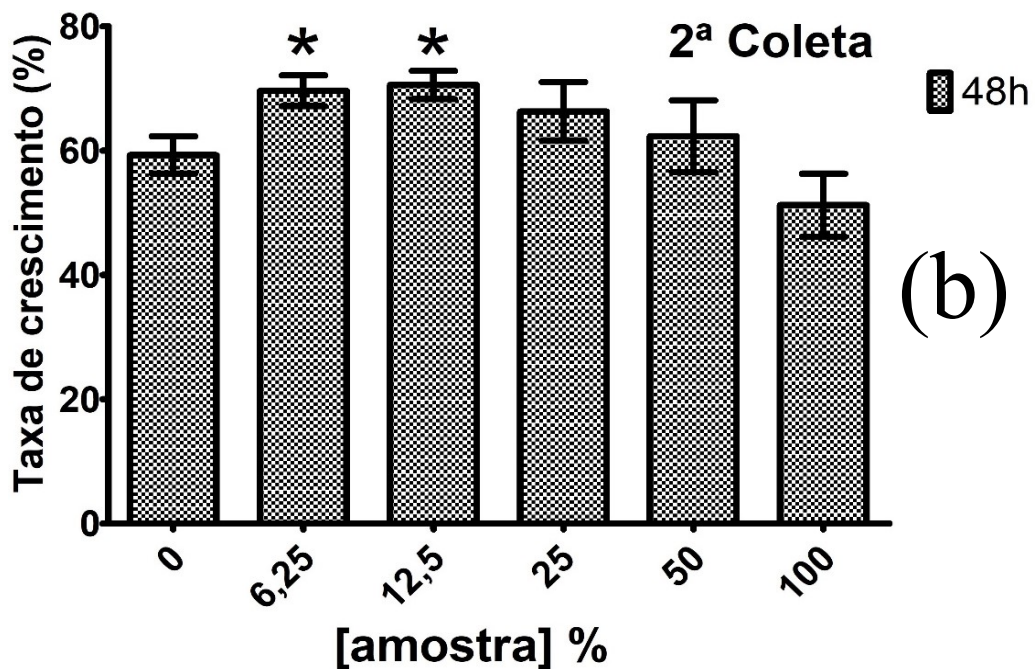
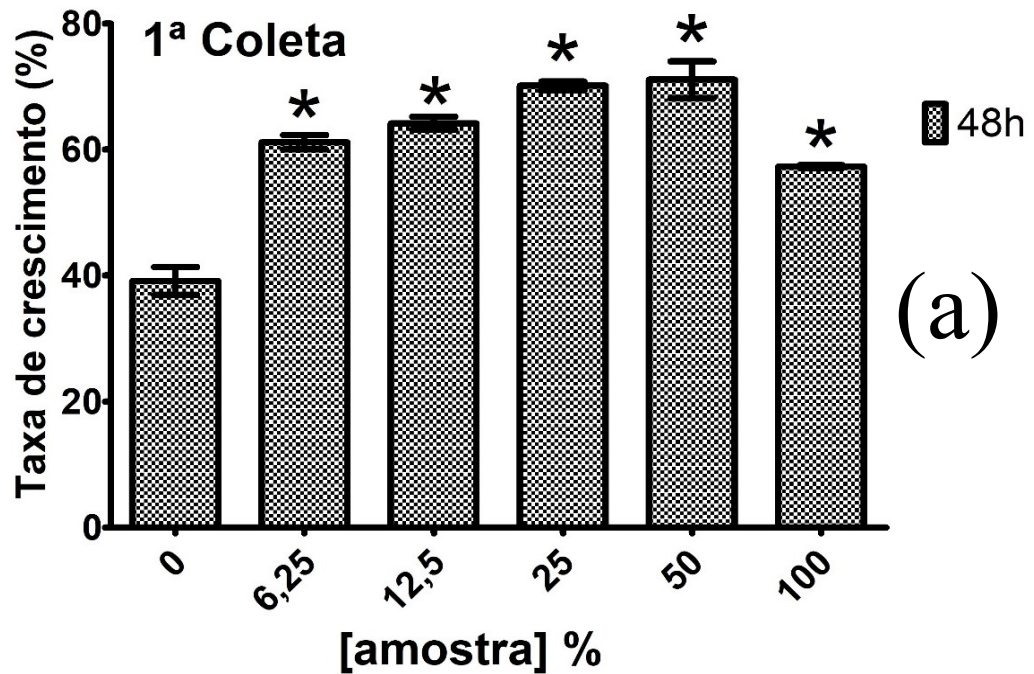
O Gráfico 2, abaixo, sobre o teste de toxicidade das três coletas no Ponto B, demonstra que a taxa de crescimento de alga foi afetada positivamente em todas as coletas. As algas crescidas nas concentrações mais baixas 6,25% e 12,5% das três coletas, tiveram seu crescimento aumentado e estatisticamente diferente do controle. Todas as concentrações da 1ª coleta e as concentrações de 25% e 50% da 3ª coleta também obtiveram relevância estatística.

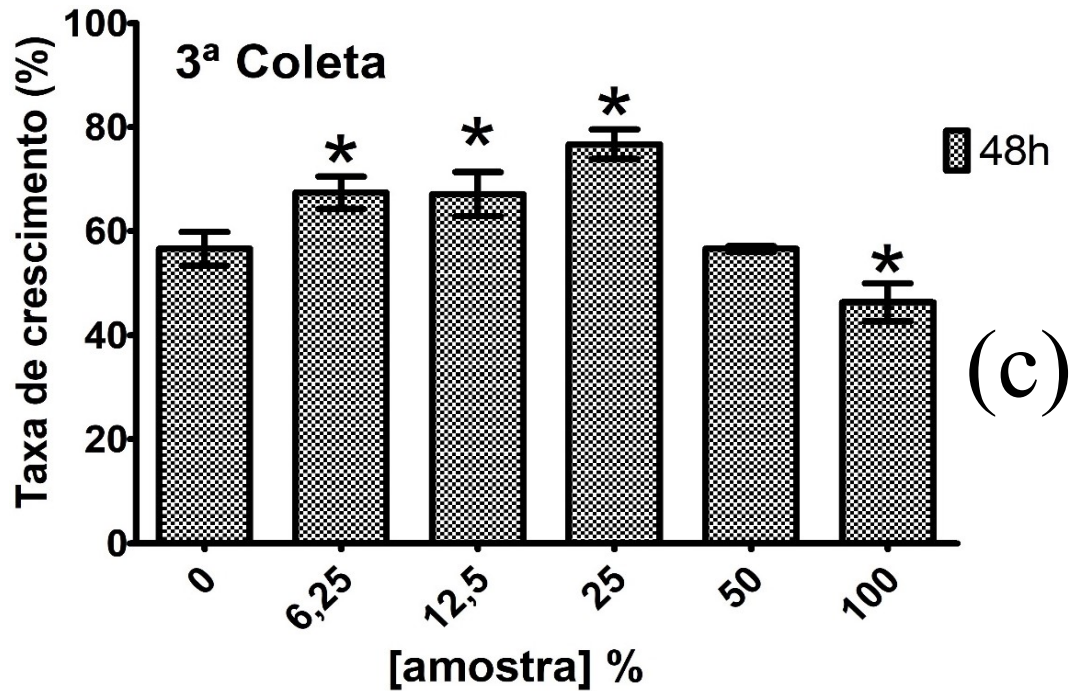
As concentrações de 25% a 100% da 2ª coleta e de 50% da terceira não apresentaram dados estatisticamente diferentes do controle dentro das 48h de teste. A concentração de 100%, nas 2ª e 3ª coletas, induziram uma inibição da taxa de crescimento. Tal fato demonstra que o efluente possui na sua composição, substâncias capazes de inibir o crescimento da alga e que, em baixas concentrações (6,25 a 25%), esse efeito não foi observado. Esse comportamento é comumente observado para misturas complexas, como os efluentes em estudo, os quais contém algumas dezenas de substâncias na sua composição, onde a relação dose/resposta para cada uma pode ser diferente.

Entre os resultados das diferentes coletas, foram observadas oscilações quanto ao comportamento, na 1ª coleta houve efeito de estimulação do crescimento e nas 2ª e 3ª podemos ver casos de inibição nas amostras de concentração mais alta (100%).

Gráfico 2 – Valores da taxa de crescimento algal em diferentes concentrações de amostras do ponto B em teste agudo de 48h com *Scenedesmus subspicatus* na 1ª coleta (a), 2ª coleta (b) e 3ª coleta (c).

[\*=valores estatisticamente significativos diferentes do controle (p<0,05).]





Fonte: Elaborado pelo autor.

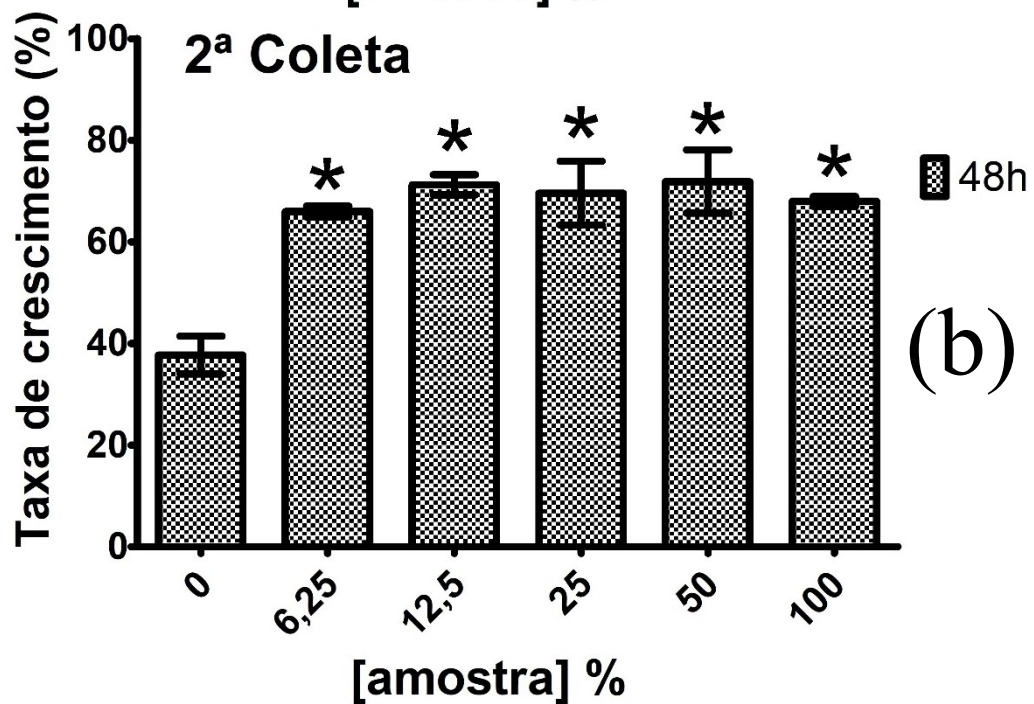
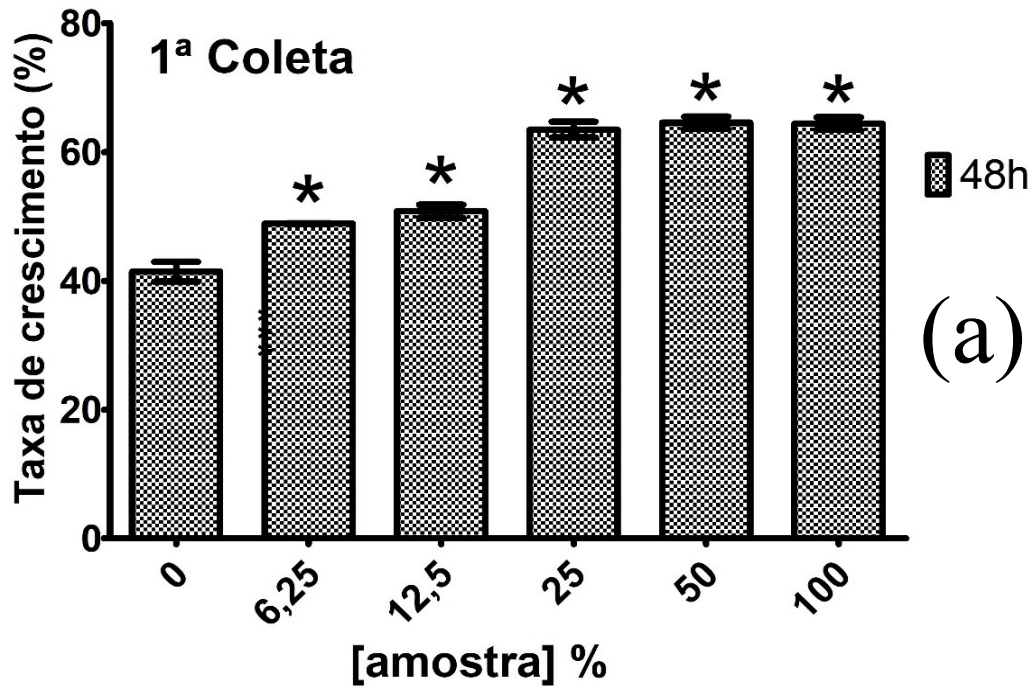
#### 4.2.3 Ponto C

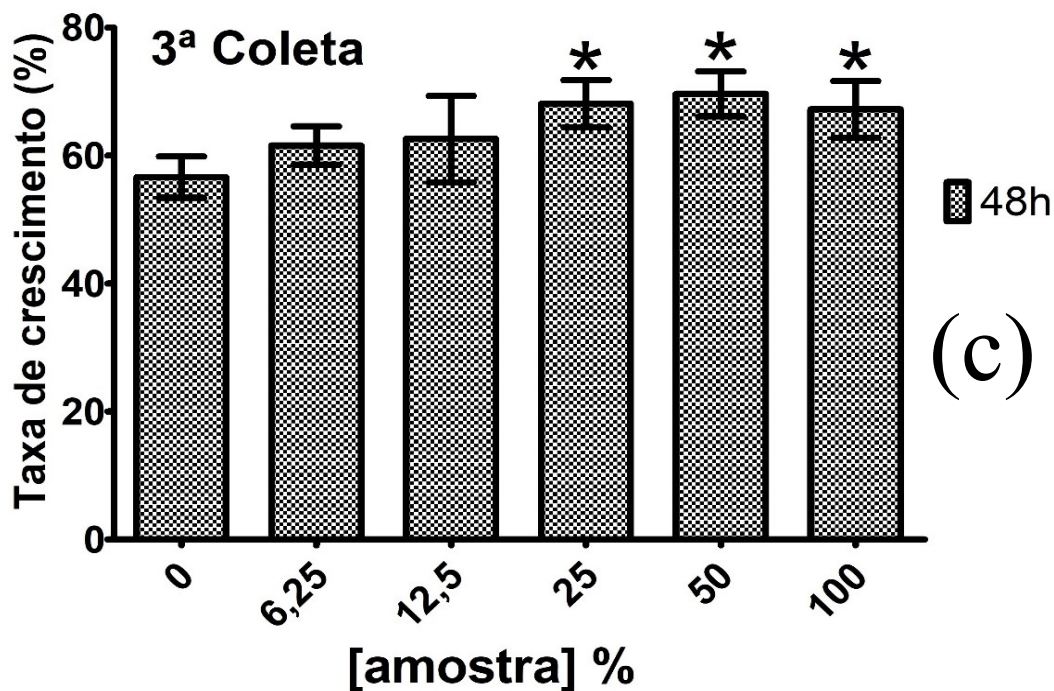
Os resultados do Gráfico 3 mostram que a taxa de crescimento algal foi afetada pelo aumento das concentrações de efluente no ponto C, novamente nas três coletas, assim como nos pontos A e B. Apenas as amostras com concentração 6,25% e 12,5% da 3ª coleta que não apresentaram dados estatisticamente diferentes do controle. Em qualquer uma das coletas, nas concentrações de 25% a 100%, ocorreu estimulação do crescimento das amostras em relação ao controle.

De maneira geral, o ponto C apresentou taxas de aumento do crescimento algal em todas as concentrações. Não se observou inibição no crescimento de nenhuma amostra. Todas as amostras da 2ª coleta mostraram taxas de crescimento no mínimo 20% superiores às do controle.

Gráfico 3 – Valores da taxa de crescimento algal em diferentes concentrações de amostras do ponto C em teste agudo de 48h com *Scenedesmus subspicatus* na 1ª coleta (a), 2ª coleta (b) e 3ª coleta (c).

[\*=valores estatisticamente significativos diferentes do controle (p<0,05).]





Fonte: Elaborado pelo autor.

Do modo geral, correlacionando os resultados dos três pontos e das três coletas, podemos citar alguns padrões encontrados. Em todos os pontos, na 1ª coleta, todas as concentrações testadas apresentaram estimulação de seu crescimento. A concentração de 25% teve efeito estimulante estatisticamente significativo (com exceção da 2ª coleta do ponto B) em todos testes realizados com *Scenedesmus subspicatus*.

As amostras do ponto A e do ponto C obtiveram comportamentos semelhantes, na 1ª e 2ª coleta mostraram seu crescimento impulsionado em todas as concentrações e na 3ª coleta, em 25% e 50%. Apenas o ponto B apresentou grau significativo de inibição, e na concentração de 100% (3ª coleta).

Os aumentos na biomassa ou produção de algas que podem ocorrer como resultado de altas concentrações de fósforo no ambiente (WAISER et al., 2011). Detergentes, desinfetantes e produtos de limpeza são as maiores fontes de fósforo encontradas em águas residuais.

Testes realizados com a alga *Euglena gracilils* por Machado (2014) em efluente hospitalar mostraram níveis consideráveis de toxicidade.

A medicação de pacientes não é a única atividade realizada pelos hospitais, logo, uma série de outros compostos além dos medicamentos e drogas são utilizados. No entanto, poucos estudos se concentram nestes outros produtos encontrados nos RLH, entre eles, os desinfetantes, assim como águas sanitárias, glutaraldeídos e detergentes que estão presentes em grandes quantidades e contribuem em grande parte para a toxicidade (ORIAS, 2013).



### 4.3 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA EM *ALLIUM CEPA*

O uso de *Allium cepa* como organismo bioindicador também tem sido empregado na avaliação ecotoxicológica de ambientes contaminados por várias classes de poluentes. Dentre os parâmetros comumente avaliados, destaca-se a inibição do crescimento e a redução da massa de suas raízes, bem como a quantidade de raízes e o ganho de massa dos bulbos (FISKESJÖ, 2006; MÜLLER et al., 2007; LEME & MARIN-MORALES, 2008; GEREMIAS et al., 2010; ALVIM et al., 2011; MENDES et al., 2011). O emprego deste bioensaio oferece benefícios como sensibilidade, reprodutibilidade, brevidade na resposta, necessidade de pouco volume de amostra teste e baixo custo (RICHA et al., 2005; FATIMA & AHMAD, 2005).

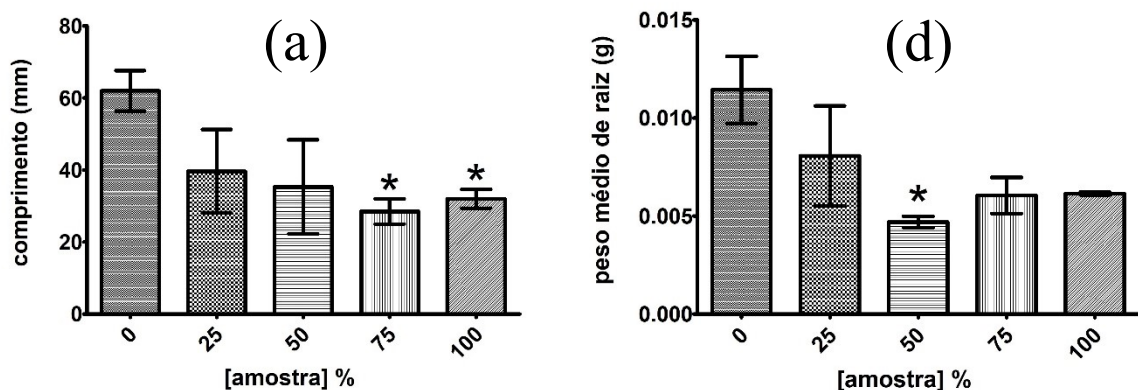
#### 4.3.1 Ponto A

As amostras testadas do ponto A apresentaram efeito de inibição no crescimento estatisticamente significativo em todas as coletas (Gráfico 4). Os gráficos referentes ao crescimento da raiz e ao peso médio das mesmas, mostraram-se semelhantes em relação dose-resposta. As concentrações de 75% e 100% apenas não foram relevantes no peso médio da 1ª coleta. A concentração de 25% foi efetiva para crescimento e peso médio apenas na 2ª coleta.

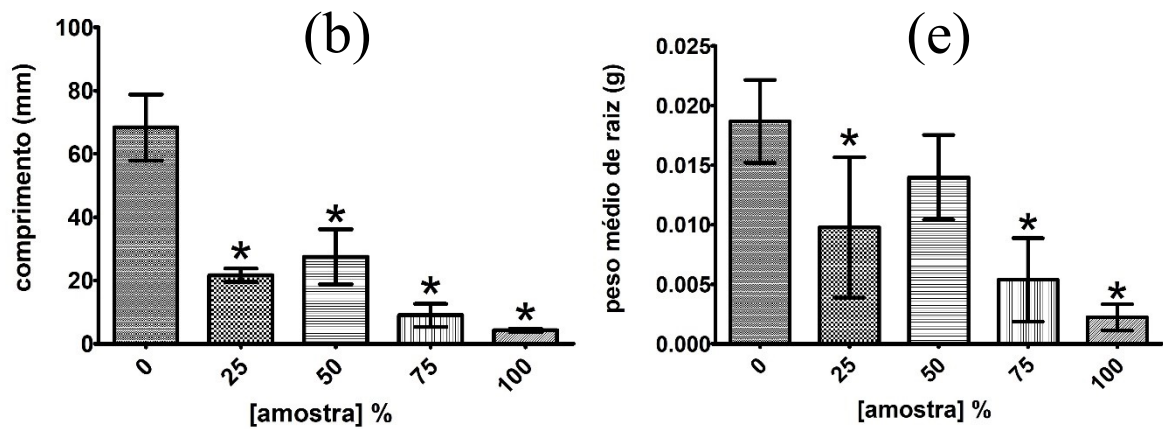
**Gráfico 4- Valores de crescimento de raiz apical na 1ª coleta (a), 2ª coleta (b) e 3ª coleta (c) e de peso médio de raízes na 1ª coleta (d), 2ª coleta (e) e 3ª coleta (f) em diferentes concentrações de amostras do ponto A em teste de toxicidade aguda (7 dias) com *Allium cepa*.**

[\*=valores estatisticamente significativos diferentes do controle (p<0,05).]

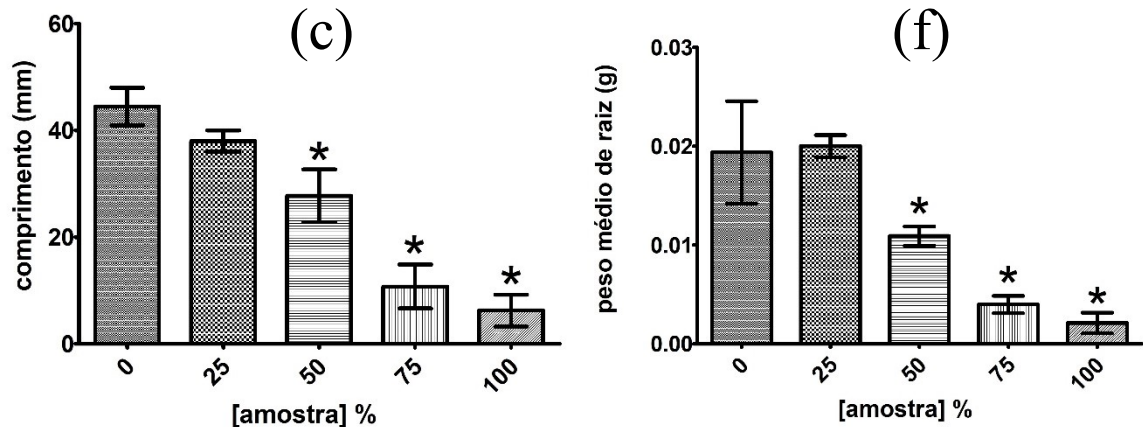
#### 1ª Coleta



## 2ª Coleta



## 3ª Coleta



Fonte: Elaborado pelo autor.

### 4.3.2 Ponto B

Os resultados obtidos da amostragem feita no ponto B, descrito no Gráfico 5, nos mostra que para ambos os parâmetros avaliados em todas as coletas, foi observado efeito de inibição de crescimento. Com exceção do peso médio da 1ª coleta, a concentração de 50% foi tóxica para todas amostras.

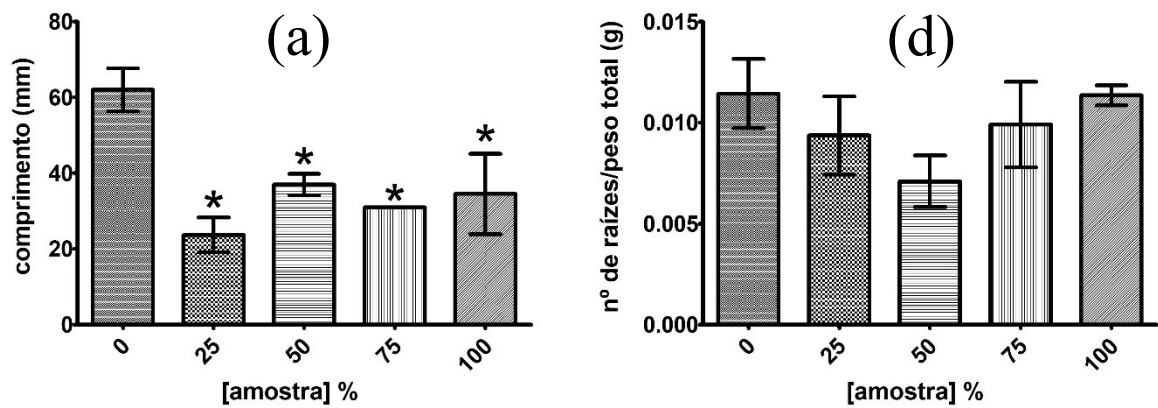
Os resultados apresentaram similaridade entre si para os parâmetros de crescimento de raiz e peso médio. O crescimento de raiz da 2ª coleta mostrou-se estatisticamente significativo para todas concentrações e ao mesmo tempo, o peso médio, também da 2ª coleta não teve significância para nenhuma concentração, sendo uma incongruência à parte.

**Gráfico 5 - Valores de crescimento de raiz apical na 1ª coleta (a), 2ª coleta (b) e 3ª coleta (c) e de peso médio de raízes na 1ª coleta (d), 2ª coleta (e) e 3ª coleta (f) em diferentes**

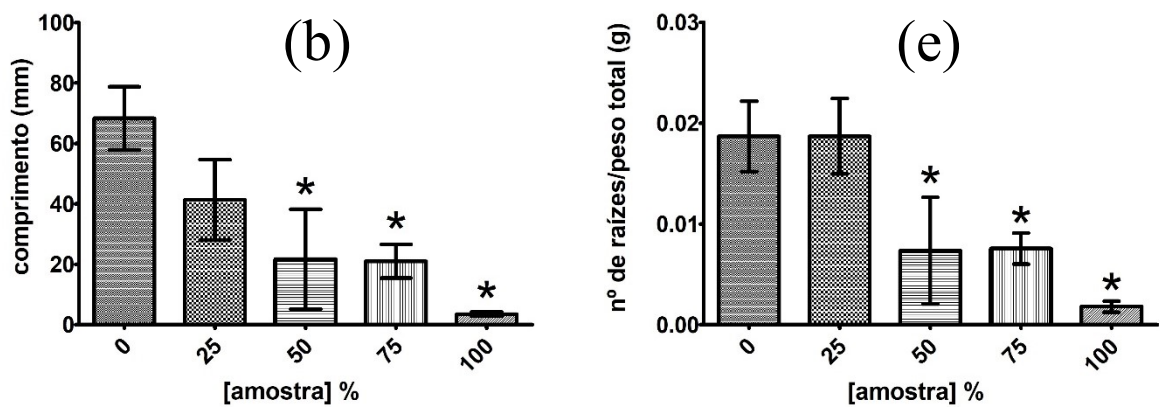
concentrações de amostras do ponto B em teste de toxicidade aguda (7 dias) com *Allium cepa*.

[\*=valores estatisticamente significativos diferentes do controle ( $p < 0,05$ ).]

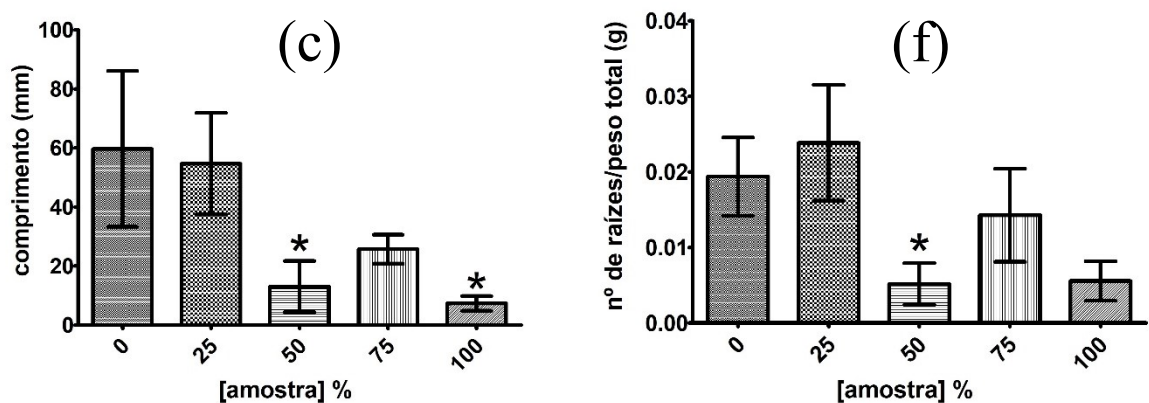
## 1ª Coleta



## 2ª Coleta



## 3ª Coleta



Fonte: Elaborado pelo autor.



### 4.3.3 Ponto C

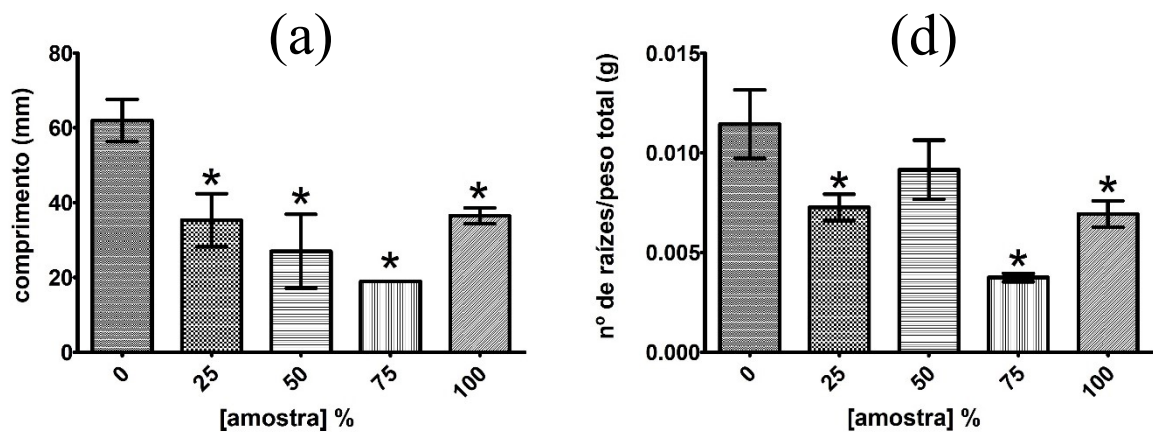
Os resultados obtidos para o ponto C, mostraram grande sensibilidade e toxicidade para *Allium cepa*, principalmente nas concentrações mais elevadas (Gráfico 6). A concentração de 100% teve efeito significativo inibitório em todas os parâmetros e coletas. Na faixa de 75%, apenas o crescimento da raiz na 3ª coleta não apresentou significância.

Não houve nenhum caso de efeito estimulante nos resultados obtidos. Apenas cinco (5) das vinte e quatro (24) concentrações testadas entre os parâmetros e coletas, apesar de demonstrarem valores de crescimento e peso médio abaixo do controle, não apresentaram níveis estatisticamente significativos de inibição.

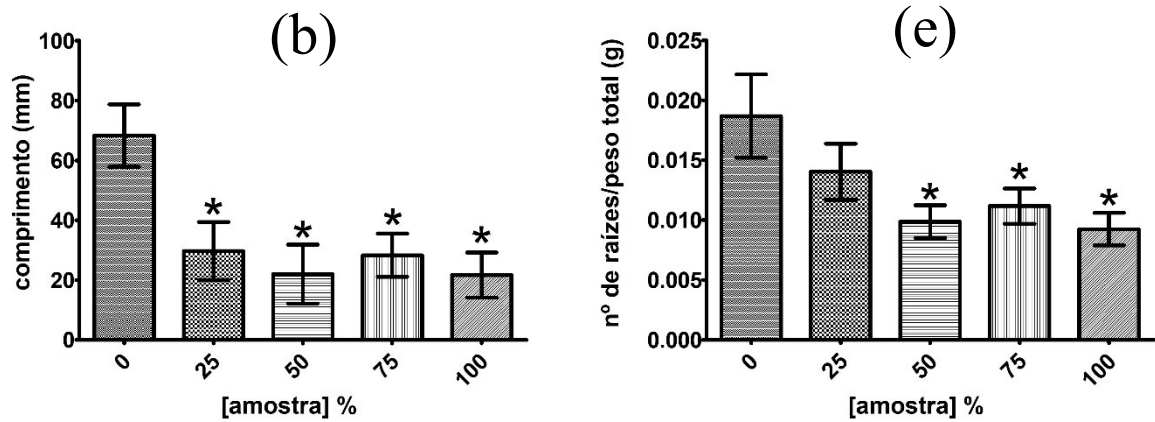
**Gráfico 6 - Valores de crescimento de raiz apical na 1ª coleta (a), 2ª coleta (b) e 3ª coleta (c) e de peso médio de raízes na 1ª coleta (d), 2ª coleta (e) e 3ª coleta (f) em diferentes concentrações de amostras do ponto C em teste de toxicidade aguda (7 dias) com *Allium cepa*.**

[\*=valores estatisticamente significativos diferentes do controle ( $p < 0,05$ ).]

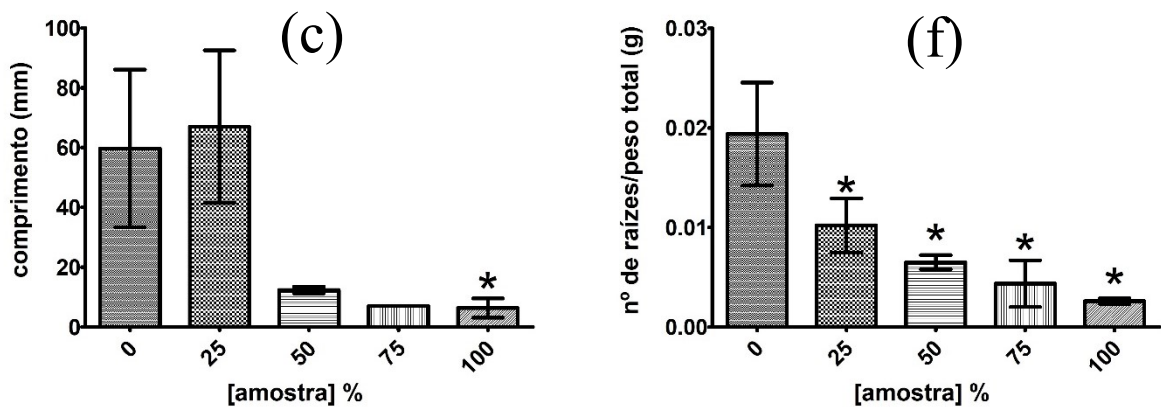
## 1ª Coleta



## 2ª Coleta



## 3ª Coleta



Fonte: Elaborado pelo autor.

Analisando de maneira geral e estabelecendo que houve definitivamente toxicidade se, e somente se, os resultados são estatisticamente diferentes do controle, os resultados para ambos parâmetros (crescimento de raiz e peso médio de raízes) no mesmo ponto e coleta, as concentrações de 50%, 75% e 100% demonstraram-se capazes de provocar inibição do crescimento das raízes em todos os pontos, em pelo menos uma vez dentre as três coletas.

A concentração de 100% foi a mais impactante, não tendo efeito significativo apenas na 1ª coleta do ponto A e na 1ª e 3ª do ponto B. As amostras com concentração igual a 25% tiveram relevância estatística apenas na 2ª coleta do ponto A e na 1ª coleta do ponto C. As amostras das 1ªs coletas dos pontos A e B, não apresentaram efeito significativo em nenhuma concentração.

#### 4.3.4 Determinação de EC<sub>50</sub> das concentrações de efluente que promovem a redução de 50% (EC<sub>50</sub>) no crescimento de raízes e peso médio de raiz

Utilizando-se os resultados obtidos nos testes de crescimento de raiz apical e peso médio de raízes de *Allium cepa*, foi realizado cálculo estatístico para obtenção da EC<sub>50</sub> (Tabela 4). Foram determinados efeitos de inibição em amostras em todos pontos, entretanto, não em todas as coletas. Tanto o crescimento da raiz apical como o peso médio das raízes, referem-se ao desenvolvimento total apresentado pelas raízes.

**Tabela 4 – Valores de EC<sub>50</sub> encontrados para os parâmetros avaliados nos testes agudos (96h) com *Allium cepa*.**

Parâmetro	Pontos	EC <sub>50</sub>		
		Coleta 1 <sup>a</sup>	Coleta 2 <sup>a</sup>	Coleta 3 <sup>a</sup>
Crescimento de Raiz Apical de <i>Allium cepa</i>	A	69,16%	N.D.	41,36%
	B	N.D.	32,27%	N.D.
	C	35,89%	N.D.	39,62%
Peso Médio de Raízes de <i>Allium cepa</i>	A	N.D.	58,8%	56,11%
	B	N.D.	51,33%	N.D.
	C	N.D.	96,85%	27,45%

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os valores de EC<sub>50</sub> são definidos como a capacidade de determinada concentração causar inibição de 50% do valor atingido pelo controle. Foi possível a determinação de pelo menos um valor em todos pontos e coletas, com exceção dos valores de peso médio da 1<sup>a</sup> coleta. Considerando que quanto menor o valor da EC<sub>50</sub> para uma amostra, maior a sua potencial toxicidade, de todas as amostras, para crescimento apical, foi a amostra do ponto B da 2<sup>a</sup> coleta que apresentou EC<sub>50</sub> menor, de 32,27%. Para o peso médio, foi a amostra do ponto C da 3<sup>a</sup> coleta a mais tóxica, com EC<sub>50</sub> de 27,45%.

Para o crescimento, os valores determinados de EC<sub>50</sub> ficaram na faixa de 32,27% a 69,16% apresentando variação entre os pontos e entre as coletas. O maior exemplo dessa variação é mostrado no peso médio de raízes onde no ponto C entre a 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> coleta obtivemos EC<sub>50</sub> de 96,85% e 27,45% respectivamente.

É necessário considerar que no meio ambiente pode ocorrer interação entre duas ou mais substâncias, e que essa interação pode potencializar ou reduzir efeitos. Além do que, os efeitos são dependentes de temperatura, entre outros parâmetros. Nesse sentido, vários são os fatores que podem influenciar na intensidade desses danos, por exemplo, a presença de

toxicantes e seus danos são fortemente influenciados pelas variações climáticas regionais e sazonais (SANTUCCI, 2016).

#### 4.4 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA EM *LACTUCA SATIVA*

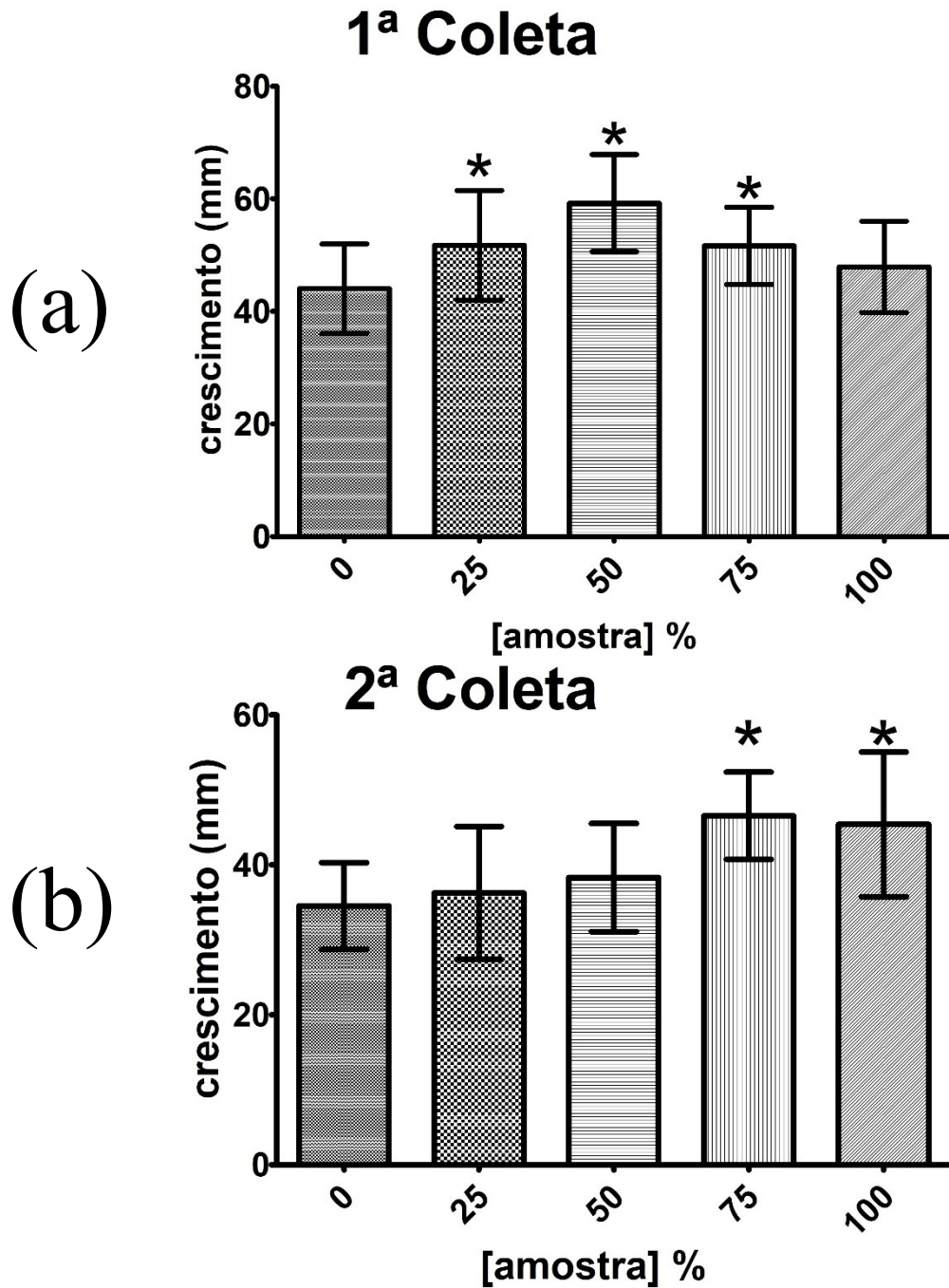
A utilização de plantas superiores tem sido descrita como um ensaio sensível e rápido para a avaliação da contaminação atmosférica, terrestre e aquática (CALZONI et al., 2007). Além disto, testes de toxicidade em plantas como a *Lactuca sativa* não requerem equipamentos sofisticados e apresentam outras vantagens, tais como, simplicidade, confiabilidade e baixo custo. Isso tudo aliado ao fato de as plantas poderem ser mais sensíveis ao estresse ambiental do que outros organismos (CHARLES et al., 2011).

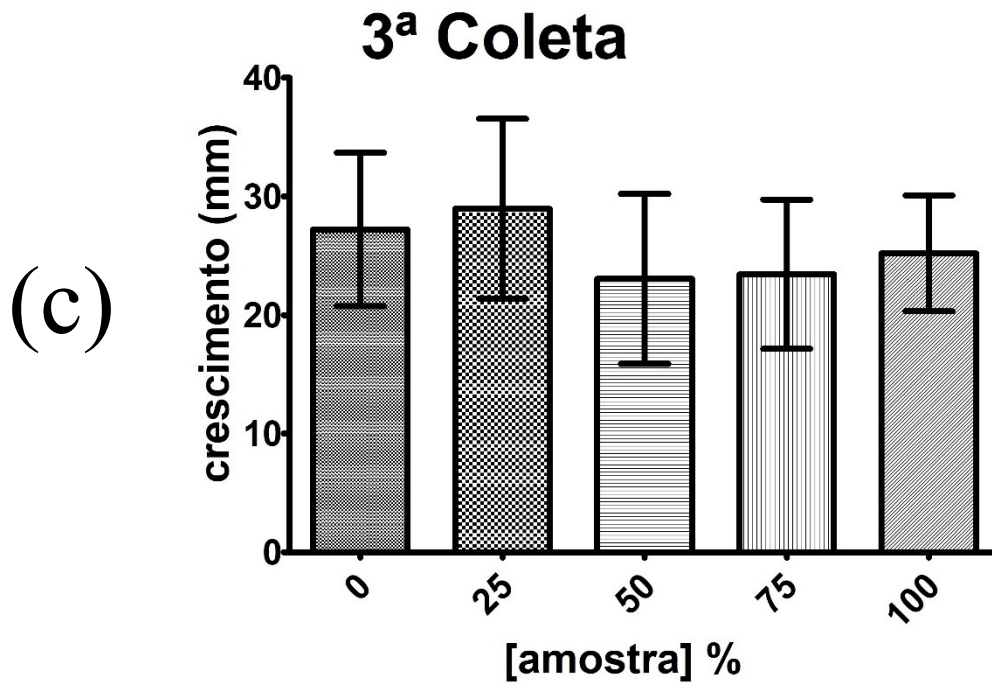
##### **4.4.1 Ponto A**

Os resultados apresentados pelos gráficos (Gráfico 7) mostraram estimulação do crescimento das mudas com amostras da 1ª e 2ª coleta e na 3ª coleta, nenhum efeito foi observado, uma vez que em todas as concentrações não se observou diferenças estatisticamente significativas. A concentração de 75% foi a concentração mais efetiva, sendo relevante nas coletas 1ª e 2ª. Houve diferenciação dos comportamentos entre as coletas.

Gráfico 7 – Valores de crescimento total (crescimento da radícula mais crescimento do hipocótilo) de mudas de *Lactuca sativa* em diferentes concentrações de amostras do ponto A em teste de toxicidade agudo (72h) na 1ª coleta (a), 2ª coleta (b) e 3ª coleta (c).

[\*=valores estatisticamente significativos diferentes do controle (p<0,05).]





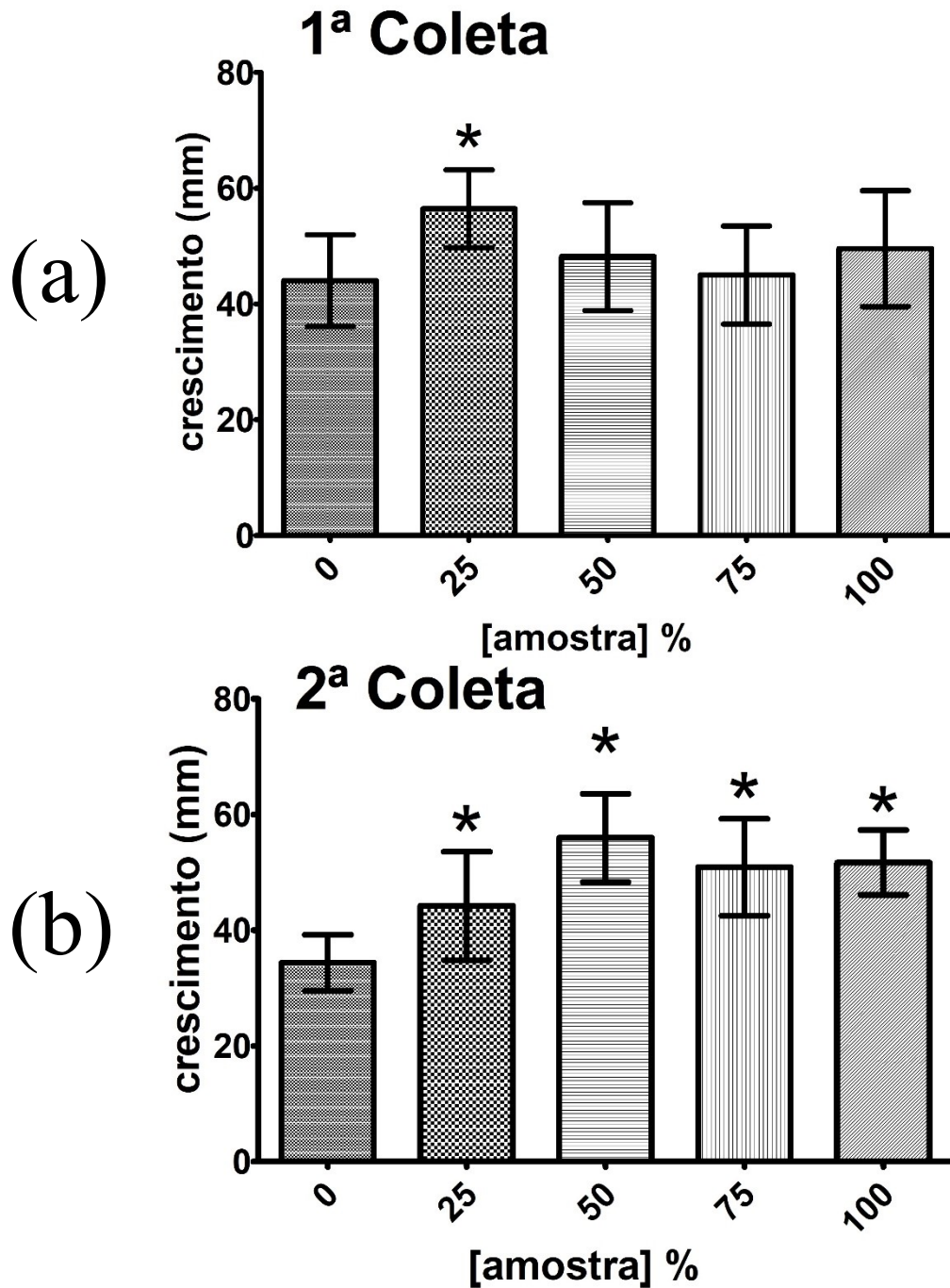
Fonte: Elaborado pelo autor.

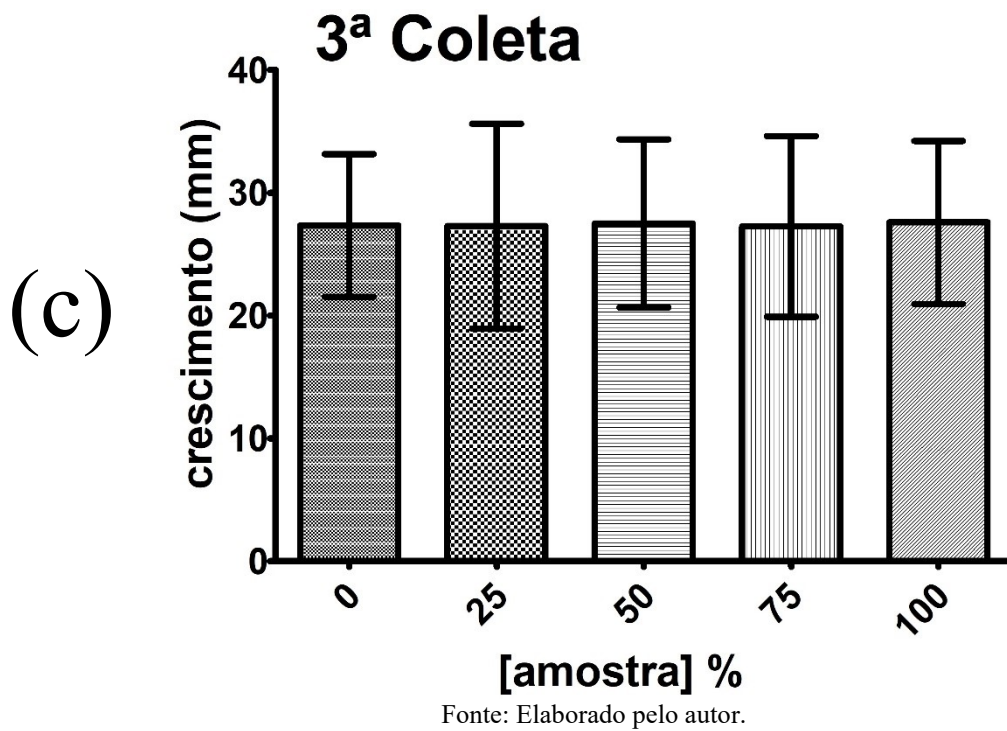
#### 4.4.2 Ponto B

Para as coletas do ponto B, os resultados encontrados sugeriram uma impulsão do crescimento na 1ª e 2ª coleta (Gráfico 8), embora na 1ª coleta a única concentração efetiva foi de 25%. Na 2ª coleta todas as concentrações apresentaram efeito estatisticamente significativo. A 3ª coleta não apresentou nenhuma alteração em relação ao controle, mostrando-se inerte. Neste ponto, as amostras das coletas se mostraram diferentes entre si.

Gráfico 8 – Valores de crescimento total (crescimento da radícula mais crescimento do hipocótilo) de mudas de *Lactuca sativa* em diferentes concentrações de amostras do ponto B em teste de toxicidade agudo (72h), na 1ª coleta (a), 2ª coleta (b) e 3ª coleta (c).

[\*=valores estatisticamente significativos diferentes do controle (p<0,05).]





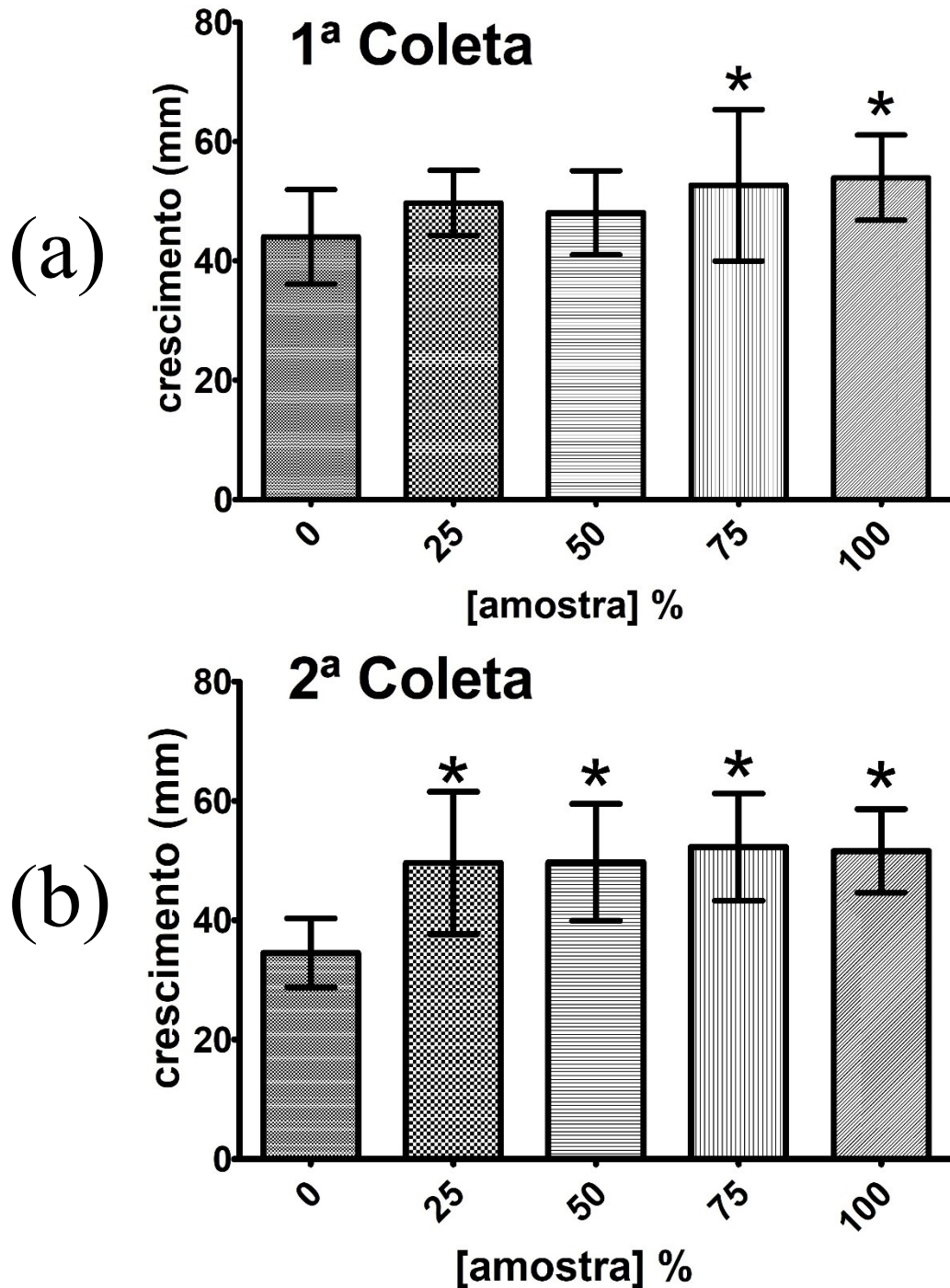
#### 4.4.3 Ponto C

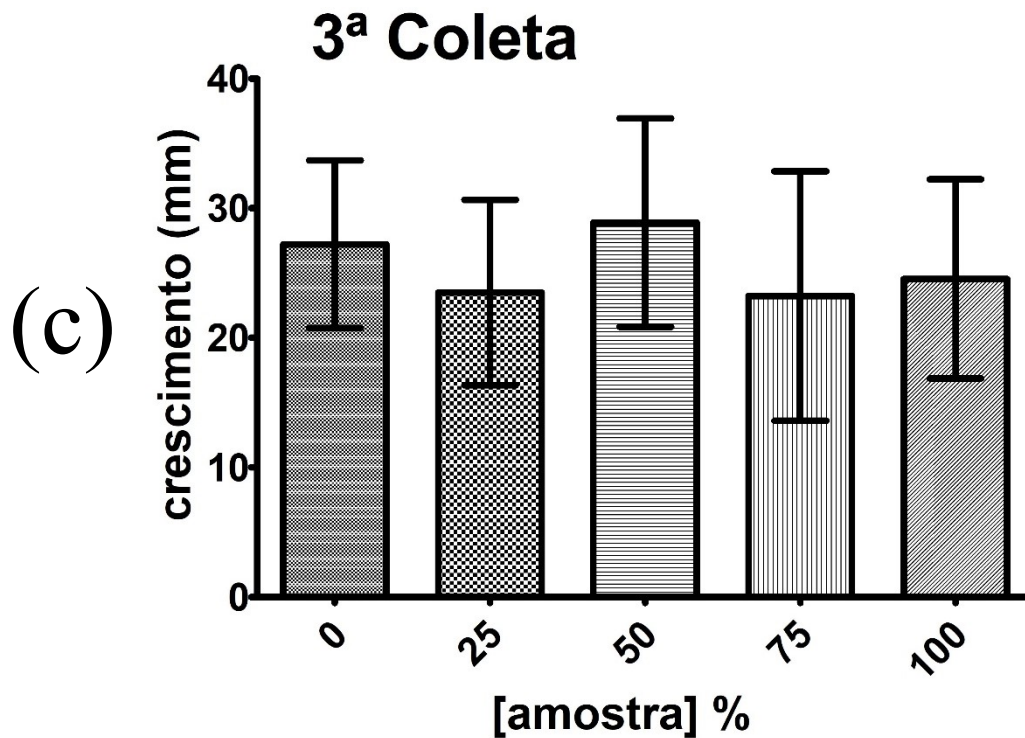
Para o ponto C, as concentrações mais efetivas foram as mais altas, de 75% e 100%, que manifestaram efeito estimulante nas coletas 1ª e 2ª (Gráfico 9). A 2ª coleta especificamente apresentou efeito significativo em todas as concentrações e crescimentos bastante acima do controle. Os efeitos com significância estatística de modo geral foram de estimulação do crescimento, entretanto na 3ª coleta não houve esse efeito, permanecendo sem alterações em todas as concentrações.



Gráfico 9 – Valores de crescimento total (crescimento da radícula mais crescimento do hipocótilo) de mudas de *Lactuca sativa* em diferentes concentrações de amostras do ponto C em teste de toxicidade agudo (72h) na 1ª coleta (a), 2ª coleta (b) e 3ª coleta (c).

[\*=valores estatisticamente significativos diferentes do controle (p<0,05).]





Fonte: Elaborado pelo autor.

Resumidamente, os testes de toxicidade aguda realizados com *Lactuca sativa* se mostraram sempre que analisados estatisticamente, com efeitos que impulsionaram o crescimento. Embora não relevantes após análise estatística, na 3ª coleta dos pontos A e C, os gráficos esboçam um comportamento de inibição, o que sugestionaria efeito tóxico. Nenhum ponto da 3ª coleta mostrou dados significantes e todos os pontos da 2ª coleta obtiveram valores significativos na faixa das concentrações de 75% a 100%.

Existe uma grande preocupação com a variabilidade dos resultados, que pode estar diretamente ligada à diversidade das atividades praticadas nos hospitais em diferentes períodos do ano e ao número de pacientes. Todos estes são parâmetros que podem influenciar a toxicidade do efluente hospitalar (ORIAS, 2013).

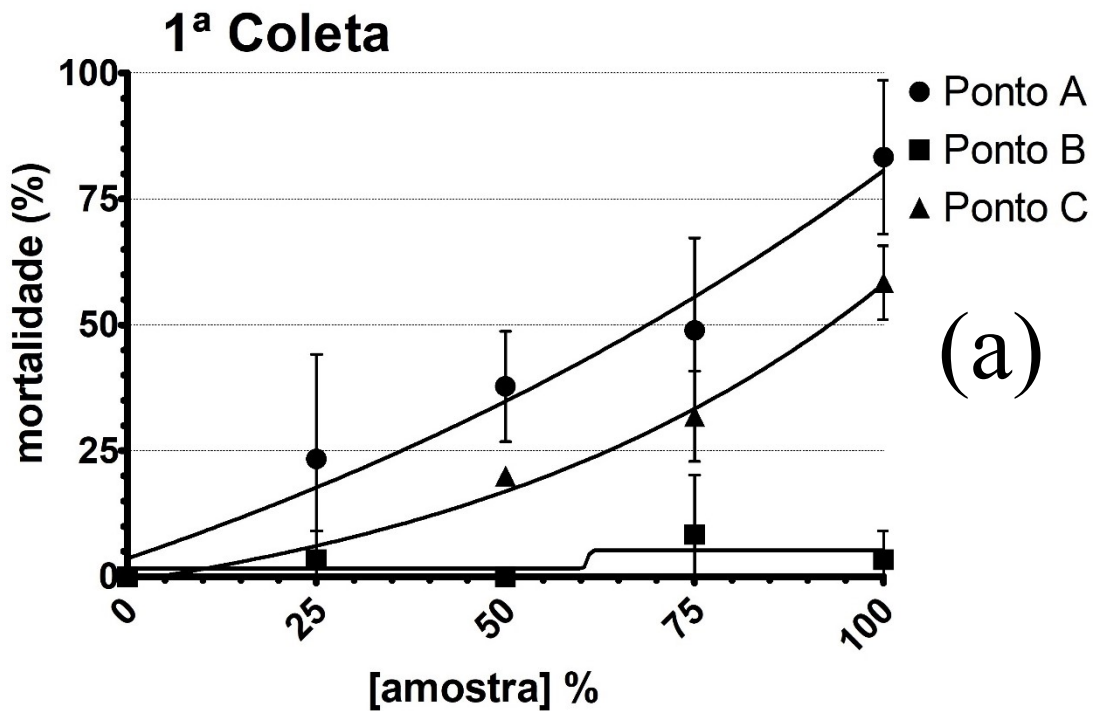
#### 4.5 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA EM *ARTEMIA SP*

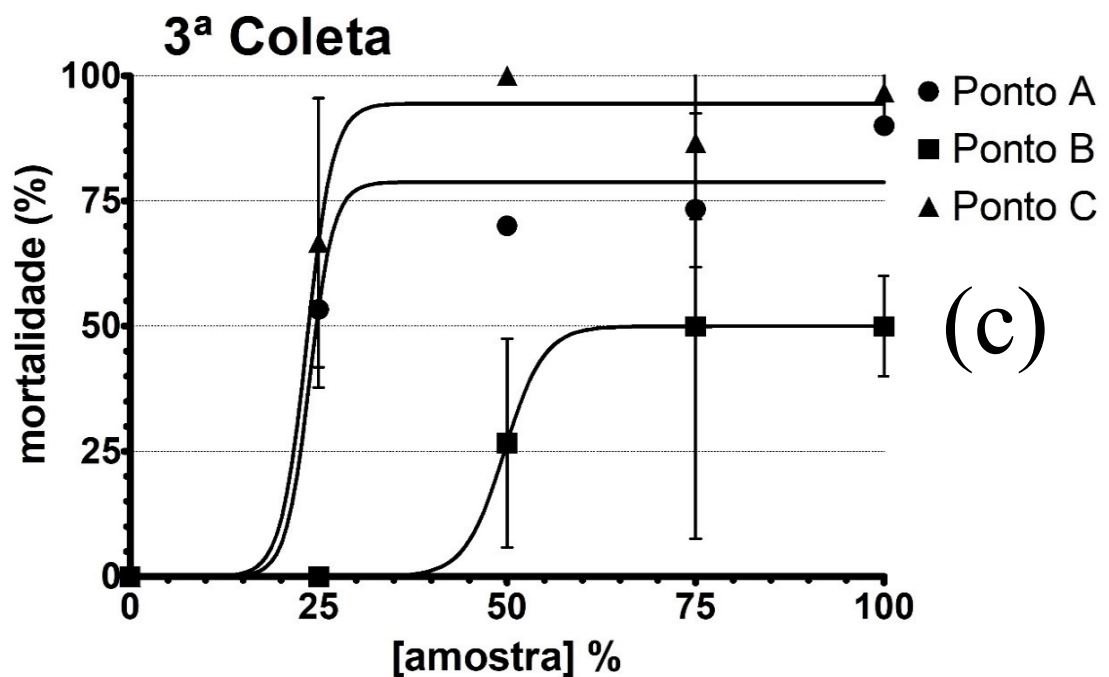
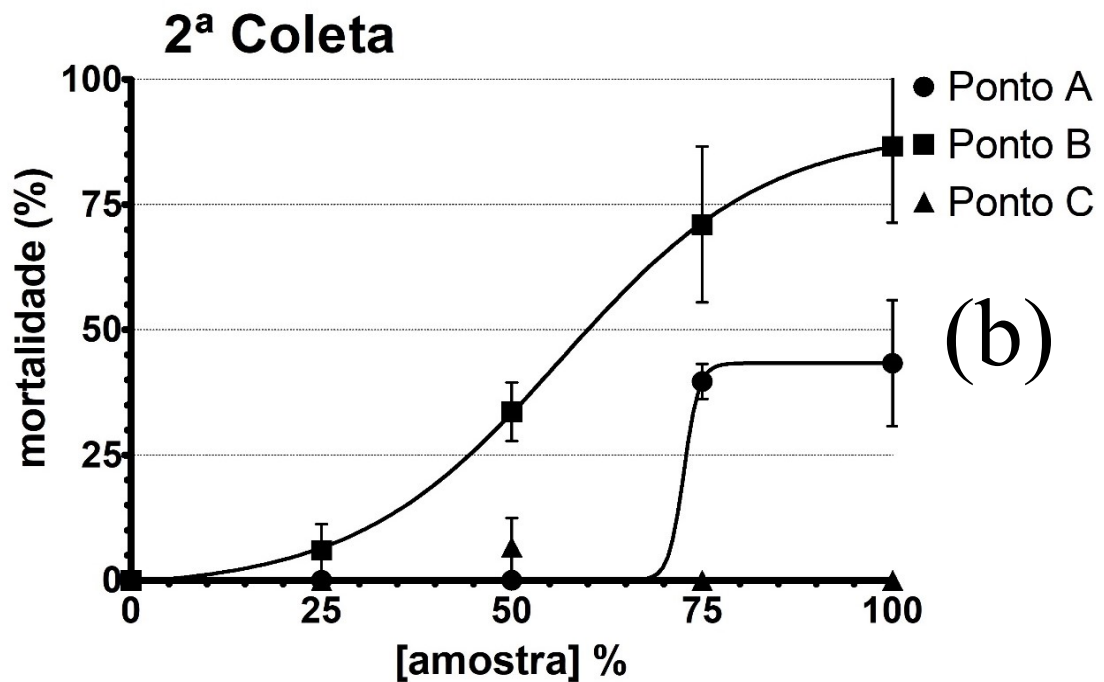
A utilização de ensaios de toxicidade é muito importante para se obter uma melhor avaliação da qualidade de efluentes. Para tanto, podem ser indicados testes de toxicidade aguda em *Artemia sp.*, os quais são amplamente utilizados por apresentarem características importantes, tais como grande potencial reprodutivo, fácil aquisição no mercado e manutenção

em laboratório e confiabilidade dos resultados (SILVA, 2002; SHAKIR et al., 2012; TSARPALI et al., 2012).

As análises realizadas com o microcrustáceo *Artemia* sp. apresentaram grande variabilidade na toxicidade entre os pontos e também entre as coletas. Como mostra o Gráfico 10, os comportamentos/respostas do organismo, representados pelas curvas sigmóides, além de não mostrarem semelhanças entre si, em apenas um caso (Ponto C, 3ª coleta) houve mortalidade de 100% dos indivíduos. Os dados ainda indicam a baixa sensibilidade dos organismos aos efeitos do RLH, no ponto C, considerando-se os resultados anteriores com outros organismos.

Gráfico 10 – Mortalidade de *Artemia* sp. em função de diferentes concentrações dos efluentes dos pontos A, B e C em teste de toxicidade agudo (24h) da 1ª coleta (a), 2ª coleta (b) e 3ª coleta (c).





Fonte: Elaborado pelo autor.

Através dos cálculos realizados, foram obtidos os valores de EC50 (Tabela 5). Apenas as amostras da 3ª coleta atingiram a mortalidade de 50% dos indivíduos em todos os pontos. Os pontos A e C na 1ª coleta e o apenas o ponto B na 2ª coleta também tiveram concentrações efetivas nesse sentido. Os valores de EC50 foram mais tóxicos na 3ª coleta, estando próximo dos 25% de concentração de amostra no ponto A e C, e na faixa dos 65% no ponto B. Deste modo, a 1ª coleta foi a menos tóxica, onde os valores de EC50 variaram de 68,8% no ponto A para 92,8% no ponto C.

**Tabela 5 – Valores percentuais de EC50 encontrados nos testes agudos (24h) com *Artemia* sp.**

Ponto de Coleta	EC50		
	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta
A	68,8%	ND	24,7%
B	ND	60%	65%
C	92,8%	ND	23,7%

ND= valor não determinado.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os dados relativos à ecotoxicidade medida nos efluentes possibilitam uma avaliação mais realista de sua ecotoxicidade, mas são difíceis de interpretar dada sua variabilidade (ORIAS, 2013).

#### 4.6 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA EM *DAPHNIA MAGNA*

Em todas as amostras de efluente não se observou mortalidade em nenhuma das concentrações testadas, com neonatos de *Daphnia magna*. Portanto, esse bioindicador não é bom para se avaliar a toxicidade desse tipo de efluente.

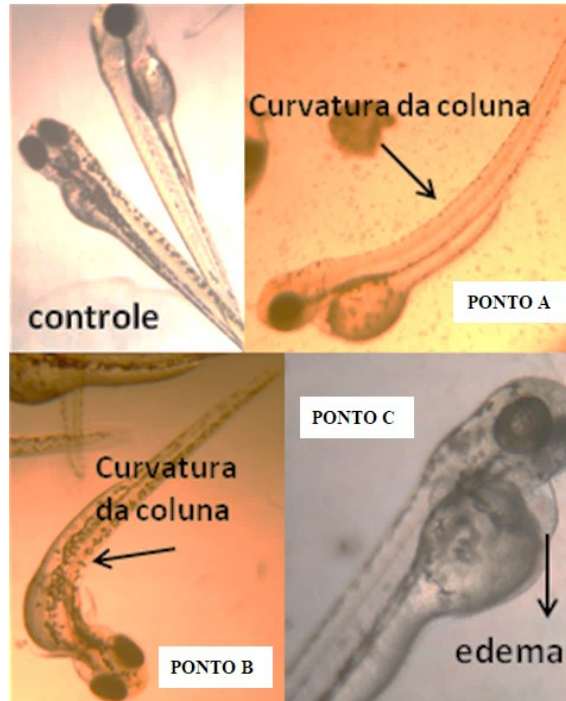
Aqui cabe ressaltar que a portaria nº 17 da Fatma, de 18 de Abril de 2002 (SANTA CATARINA), que estabelece os limites máximos de toxidade aguda para efluentes de diferentes origens e dá outras providências, especifica que um dos organismos a serem utilizados em testes de toxicidade é exatamente *Daphnia magna*.

#### 4.7 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA EM *DANIO RERIO*

A presença de substâncias tóxicas no meio ambiente pode causar inúmeras alterações nos organismos que entram em contato, isso inclui efeitos carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos (MENDES, 2004) (Figura 8).

Quanto mais elevado for o nível trófico do organismo utilizado para o ensaio de genotoxicidade ou quanto maior o número de sistemas biológicos com respostas positivas, maior o risco de uma substancia ser mutagênica também para humanos. Contudo para estudos ambientais a detecção de danos genotóxicos em qualquer dos níveis tróficos deve ser vista como alerta (DA SILVA et al., 2003).

**Figura 8 – Exemplos de alterações encontradas nas larvas de *D. rerio* - Controle com características normais de pigmentação, batimento cardíaco e sistema circulatório. Larvas dos pontos A e B com curvatura da coluna vertebral. Larva do ponto C com edema e batimento cardíaco anômalo.**



Fonte: Autor, 2018.

#### 4.7.1 Ponto A

As análises realizadas no ponto A, na concentração de 100% em todas as coletas, após as 96 hpf todos organismos cujos ovos já não haviam coagulado, estavam mortos. Na 2ª coleta, todas as concentrações testadas afetaram ao menos 50% dos indivíduos levando-os à morte. As coletas 1ª e 3ª, nas concentrações de 25% e 50%, não atingiram mortalidade de 50%, porém, mostraram alguns efeitos significativos como edemas no coração dos peixes.

##### •1ª Coleta

A diluição das amostras de efluente em 25% e 50% na 1ª coleta demonstraram diminuição dos efeitos tóxicos sobre os embriões, principalmente na diluição de 25%. Em todas as diluições da 1ª coleta observou-se a presença de ovos coagulados.

Nos testes com 50% de efluente na 1ª coleta, apenas 56% das larvas faríngulas eclodidas sobreviveram até a fase de larva primordial ( $\pm 96$ hpf), sendo que a maioria destas apresentou edema no coração (60%); o restante das larvas (44%) degenerou e morreu em 48hpf.

Todos os ovos fertilizados desenvolvidos na concentração de 100% da 1ª coleta, não apresentaram coagulação, entretanto, apresentaram um retardo em todas as fases do desenvolvimento embrionário. Houve desenvolvimento anormal dos somitos (que apareceram apenas em 48hpf). Também nessa concentração (100%), todos os embriões morreram antes de 96hpf, tendo como referência a ausência de batimentos cardíacos, não formando, portanto, larvas primordiais. Ou seja, a taxa de eclosão foi zero.

#### •2ª Coleta

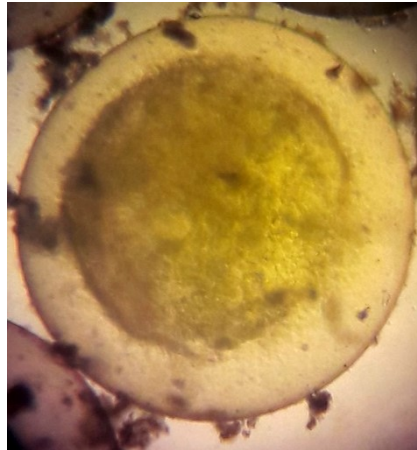
Os resultados obtidos na concentração de 25% da 2ª coleta, nas primeiras 6hpf de exposição todos os embriões desenvolveram-se normalmente, com 8 somitos. Em 24hpf, 13% estavam coagulados. Dos embriões não coagulados, na fase de segmentação, 42% apresentaram edema e atraso no desenvolvimento e 58% desenvolvimento normal. Em 48hpf, 50% apresentaram edema, baixa pigmentação e deformação na nadadeira caudal; os outros 50% estavam normais, ativos e pigmentados, dentro dos ovos.

Logo nas 72hpf, 29% das larvas eclodidas, apresentaram curvatura na coluna vertebral e nadadeira caudal e edema; 53% ainda estavam nos ovos e 10% estavam com edema; o restante das larvas eclodidas (18%) apresentou morfologia normal, pigmentadas e ativas. Em 96hpf, todas as larvas eclodidas e as que estavam ainda nos ovos, morreram.

Para as concentrações de 50% de amostra da 2ª coleta, obtiveram-se ovos coagulados nas primeiras 6hpf foram 17%. Dos ovos não-coagulados (83%), todos apresentaram desenvolvimento normal em 6hpf (período de gastrulação até 10hpf). Em 24hpf, todos (83%) apresentaram desenvolvimento normal dos somitos (período de segmentação).

Nas 48hpf, 50% dos embriões estavam com edema e pouco movimento dentro dos ovos e 50% restante morreram. Em 72hpf todos os embriões restantes, estavam mortos, sem eclosão dos ovos. Na concentração de 100% da 2ª coleta, logo em 6hpf, todos os ovos estavam coagulados (Figura 9).

**Figura 9 - Ovo coagulado de *D. rerio*.**



Fonte: Autor, 2018.

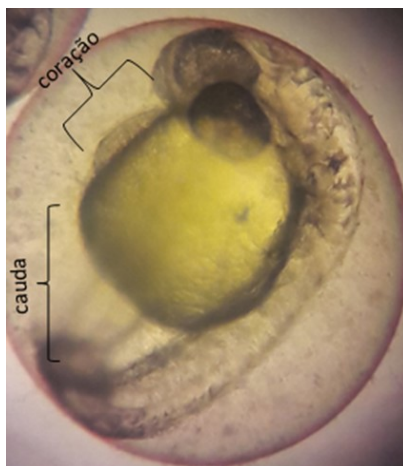
•3<sup>a</sup> Coleta

As análises com a concentração de 25% de efluente da 3<sup>a</sup> coleta mostraram que todos os ovos se desenvolveram normalmente em 6 hpf até a fase de 8 somitos. Em 24 hpf, 15% dos ovos coagularam, restante desenvolveu-se normalmente até a fase de 20 somitos (período de segmentação). Em 48 hpf, todos normais (85%), pigmentados, batimento cardíaco normal, sem modificações morfológicas aparentes. Em 72 hpf todas as larvas faríngulas eclodidas, ativas, pigmentadas e normais. Em 96 hpf, 30% das larvas faríngulas morreram e 70% continuaram, ativas e normais.

Em amostras com 50% de efluente da 3<sup>a</sup> coleta, todos os ovos também se desenvolveram normalmente em 6 hpf até a fase de somitos. Em 24 hpf todos os ovos com desenvolvimento normal, período de segmentação (Figura 10). Em 48 hpf, 30% das larvas coagularam dentro dos ovos, na fase de segmentação, 10% apresentaram edema dentro dos ovos e 60% desenvolveram-se normalmente em larvas faríngulas. Em 72 hpf, 10% das larvas estavam com edemas, batimento cardíaco fraco, pigmentadas. As outras larvas desenvolveram-se normalmente em 72 e 96 hpf, sem modificações morfológicas aparentes.



**Figura 10 - Embrião com ±24hpf (segmentação) - coração normal, sem edema, cauda e início da coluna vertebral normal (somitos), pigmentação dos olhos e corpo dentro da normalidade.**



Fonte: Autor, 2018.

Os resultados para a concentração 100% de efluente da 3ª coleta mostraram que em 6 hpf, 20% dos ovos coagularam, restante na fase de 8 somitos. Em 24 hpf, dos 80% dos ovos não coagulados, 20% apresentaram atraso no desenvolvimento no período de segmentação, parando em 8 somito; 25% com baixa pigmentação e o restante (35%) dos embriões desenvolveram-se normalmente dentro dos ovos, pigmentados e ativos. Em 48 hpf, 5% das larvas faríngulas apresentaram curvatura na coluna e 5% apresentaram edema (dentro dos ovos), 35% das larvas desenvolveram-se normalmente. Em 72 hpf, 10% das larvas com batimento cardíaco fraco e o restante morreu. Em 96 hpf, todas estavam mortas.

#### **4.7.2 Ponto B**

Dentre os três pontos avaliados, este foi o que demonstrou maior toxicidade. Das três coletas realizadas neste ponto B, apenas a 1ª coleta não apresentou mortalidade de 50% em todas concentrações. Mesmo mostrando-se menos tóxica, a amostra com concentração de 25% da 1ª coleta ainda apresentou ovos coagulados e deformações morfológicas em boa parte dos organismos.

##### **•1ª Coleta**

Na 1ª coleta, a amostra de efluente na concentração de 25% demonstrou diminuição dos efeitos tóxicos sobre os embriões. Na diluição de 50% observou-se efeitos tóxicos sobre a

morfologia dos embriões e presença de ovos coagulados. Em 72hpf, todas as larvas faríngulas eclodidas morreram. Apresentaram edema no coração e curvatura da coluna.

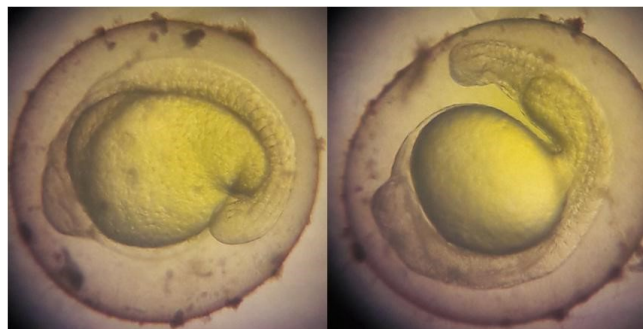
Todos os ovos fertilizados desenvolvidos na concentração de 100% da 1ª coleta estavam sem coagulação nas primeiras 12hpf, com o período de segmentação normal até a formação do "tail bud", após esse período todos os ovos coagularam e os embriões degeneraram (48hpf).

#### •2ª Coleta

Avaliando-se a concentração de 25% da 2ª coleta, observou-se que 37% dos ovos coagularam nas primeiras 6hpf. Os 63% restantes estavam na fase de somitos. Em 24hpf, dos ovos não coagulados (63%), 33% dos embriões apresentaram edemas, 25% estavam com atraso no desenvolvimento (destes, 5% apresentaram má formação na nadadeira caudal) e apenas 5% não apresentaram modificações morfológicas aparentes.

Em 48hpf, 42% dos embriões estavam mortos, sem eclodir; o restante dos embriões (58%) apresentou edema, baixa pigmentação (Figura 11) e deformação na nadadeira caudal, dentro dos ovos. Em 72hpf, apenas 21% das larvas eclodiram apresentando curvatura na coluna vertebral e nadadeira cauda e edema; 23% morreram dentro dos ovos e 13% permaneceram dentro dos ovos, com edema e batimento cardíaco fraco. Em 96hpf, todos estavam mortos.

**Figura 11 – Embrião em ±48hpf com desenvolvimento atrasado. - Nessa fase o embrião deveria ser uma larva faríngula, mas encontra-se mais próximo da fase de segmentação e com ausência de pigmento.**



Fonte: Autor, 2018.

Nos testes com 50% de concentração de efluente da 2ª coleta, logo nas 6hpf, 65% dos ovos estavam coagulados, restante dos embriões na fase de somitos. Em 24hpf, 35% dos embriões estavam na fase de 17 a 20 somitos. Em 48hpf, todos estavam mortos. As amostras

com 100% de efluente da 2ª coleta, em 6hpf, todos os ovos estavam coagulados na fase de epibolia.

### •3ª Coleta

Os testes com 25% de efluente da 3ª coleta mostraram que todos os ovos se desenvolveram normalmente em 6 hpf até a fase de 8 somitos. Em 24 hpf todos os ovos com desenvolvimento normal, período de segmentação. Em 48 hpf, todos desenvolveram-se normalmente dentro dos ovos, pigmentadas, ativas e batimento cardíaco normal. Em 72 hpf, 15% das larvas apresentaram edema pericardial, batimento cardíaco fraco; 5% das larvas morreram e o restante das larvas faríngulas estava aparentemente normal, ativas, batimento cardíaco normal, pigmentadas. Em 96 hpf, apenas 20% das larvas permaneceram vivas e normais, restante morreu.

Para a concentração de 50% de efluente da 3ª coleta, em 6 hpf e 24 hpf, todos os embriões desenvolveram-se normalmente. Em 48 hpf, 35% dos ovos coagularam; 65% das larvas apresentaram atraso no período de segmentação, dentro dos ovos. Em 72 hpf, 61% das larvas morreram e 39% das larvas vivas apresentaram batimento cardíaco fraco, edema e atrofia do saco vitelínico. Em 96 hpf, todas as larvas morreram.

Na concentração 100% de efluente da 3ª coleta, em 6 hpf, 10% dos ovos coagularam, 15% com atraso no desenvolvimento de somitos, restante aparentemente com desenvolvimento normal (75%). Em 24 hpf, 15% dos ovos que estavam com atraso no desenvolvimento, coagularam. O restante apresentou desenvolvimento normal. Em 48 hpf, 10% dos ovos restantes coagularam, 60% das larvas permaneceram nos ovos e 5% eclodiu. Em 72 hpf, todas as larvas apresentaram batimento cardíaco fraco, saco vitelínico pequeno e edema pericardial, 5% apresentaram curvatura na coluna (Figura 12). Em 96 hpf, todas as larvas morreram.

**Figura 12 - Larvas primordiais ( $\pm 72$ hpf) - Larva do ponto B com desenvolvimento anômalo da coluna (curvada), edema no coração com batimentos cardíaco fraco, e redução da nadadeira caudal.**



Fonte: Autor, 2018.

#### **4.7.3 Ponto C**

Assim como nos demais pontos, as análises feitas nas amostras do ponto C nas concentrações de 100%, em todas as coletas houve mortalidade de pelo menos 50% dos indivíduos. Entretanto, em nenhuma das amostras testadas nas concentrações de 25% ocorreu o mesmo efeito.

Diferentemente dos outros pontos analisados neste parâmetro, onde em todas as concentrações da 2ª coleta houve morte de metade dos organismos, neste ponto na 2ª coleta ocorreu apenas na concentração de 100%. Apesar de não ocorrer o mesmo efeito fatal nas concentrações de 25% de efluente, alguns indivíduos apresentaram efeitos relevantes, como curvatura da coluna e ausência de pigmentação (Figura 13).

**Figura 13 - Embrião em ( $\pm 72$ h) com desenvolvimento atrasado. - Nesse estágio devia ter ocorrido o período de eclosão e o início da fase de larva primordial, mas o embrião não**

**desenvolveu, apenas os olhos ficaram mais evidentes e a ausência de pigmento continuou.**



Fonte: Autor, 2018.

#### •1ª Coleta

A diluição de 25% da amostra de efluente da 1ª coleta não demonstrou efeitos tóxicos sobre os embriões e na diluição de 50%, também da 1ª coleta, observou-se a presença de ovos coagulados e atraso no desenvolvimento do embrião na fase de segmentação, principalmente na formação dos somitos em  $\pm 12$ hpf. Em  $\pm 48$ hpf algumas larvas apresentaram edema no coração e curvatura da coluna e em 72hpf, todas as larvas fáringulas eclodidas morreram.

Nas amostras com 100% de efluente da 1ª coleta, observou-se 50% dos ovos coagulados, os que não estavam coagulados apresentaram retardo nas fases embrionárias seguintes. Todos os ovos não coagulados apresentaram retardo nas fases do desenvolvimento embrionário. Houve desenvolvimento anormal dos somitos que apareceram apenas em 48hpf, o batimento cardíaco não foi observado e todos e todos embriões também morreram antes de 96hpf.

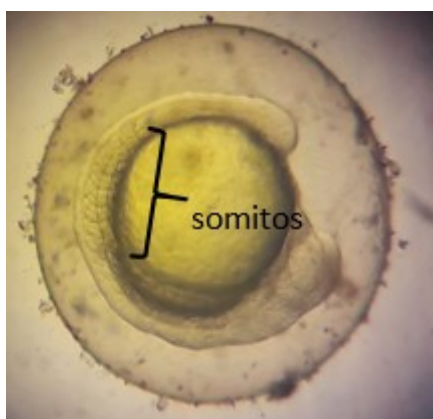
#### •2ª Coleta

Os resultados encontrados nas análises com 25% de efluente da 2ª coleta, em 6hpf, 20% dos ovos coagularam, restante na fase de somitos. Em 24hpf, dos 80% dos ovos não coagulados, todos apresentaram baixa pigmentação e estavam na fase de segmentação. Em 48hpf, todos apresentaram edema e baixa pigmentação, dentro dos ovos. Em 72hpf, as larvas

continuaram dentro dos ovos, com edema, mas pigmentadas. Em 96hpf, 10% ainda permaneceram nos ovos, 90% viraram larvas faríngulas pigmentadas, ativas, batimento cardíaco normal, com redução do edema.

Com 50% de efluente da 2ª coleta, nas primeiras 6hpf, 43% dos ovos coagularam, restante aparentemente normais, na fase de somitos (Figura 14). Nas 24hpf, os embriões não coagulados estavam com baixa pigmentação, sendo que 2/3 estavam na fase de 13 somitos e 1/3 na fase de 20 somitos. Em 48hpf, todos estavam com edema, baixa pigmentação e batimento cardíaco fraco. Em 72hpf, as larvas continuaram dentro dos ovos, baixa pigmentação, mas com redução do edema em 47% das larvas. Em 96hpf, 41% das larvas faríngulas apresentavam edema e o restante estava aparentemente normal, ativas e sem edema (59%). As amostras com 100% de efluente da 2ª coleta tiveram todos os ovos coagulados em 6hpf, na fase de epibolia.

**Figura 14 - Presença de somitos ( $\pm 12$ hpf).**



Fonte: Autor, 2018.

### •3ª Coleta

Nos testes realizados com 25% de efluente da 3ª coleta, em 6hpf, 24 hpf e 48 hpf, todos os ovos e embriões desenvolveram-se normalmente. Em 72 hpf, 45% das larvas não eclodiram e coagularam, restante desenvolveu-se normalmente até 96 hpf (55%), ativas, pigmentadas e batimento cardíaco normal.

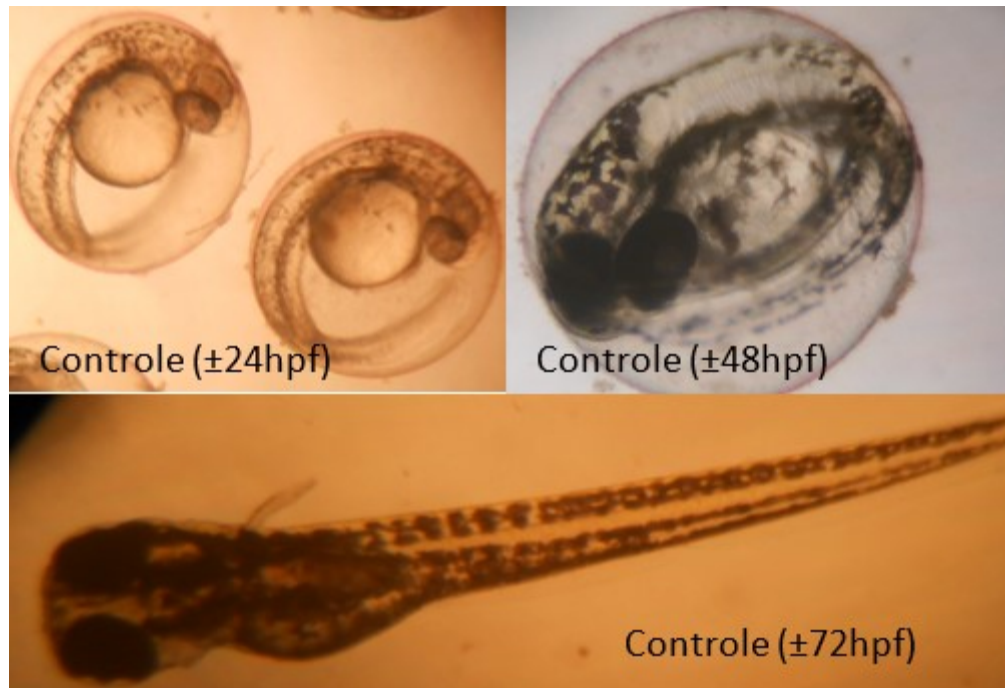
Na concentração de 50% da 3ª coleta, nas primeiras 6 hpf, todos os ovos desenvolveram-se normalmente. Em 24 hpf, 15% dos ovos coagularam, restante desenvolveu-se normalmente (85%). Em 48 hpf, 18% das larvas faríngulas, nos ovos, apresentaram baixa pigmentação e 82% apresentou desenvolvimento normal. Em 72 hpf, 59% das larvas morreram, apresentando deformações na coluna vertebral. Em 96 hpf, apenas 41% das larvas

sobreviveram, sendo que destas, 42% apresentaram baixa pigmentação, entretanto todas estavam ativas e com batimento cardíaco normal.

Em amostras com concentração de 100% de efluente, em 6 hpf, todos os ovos desenvolveram-se normalmente. Em 24 hpf, 75% das larvas apresentaram edema dentro dos ovos, 25% eram aparentemente normais. Em 48 hpf, todas as larvas morreram dentro dos ovos.

Todos os controles utilizados em cada bateria de testes apresentaram 100% dos ovos com desenvolvimento normal dos somitos, cauda e coluna vertebral, sem coagulação, sem presença de edema e batimentos cardíacos normais. 100% dos embriões desenvolveram-se em larvas primordiais ativas e normais (Figura 15).

**Figura 15 - Embriões do controle em todos os períodos de desenvolvimento, sistema circulatório, pigmentação do corpo e olhos, nadadeiras peitorais normais.**



Fonte: Autor, 2018.

Em estudo realizado com espécimes de anfíbios em efluente hospitalar em Toluca, México (ALVAREZ et al., 2018), também encontrou diversos tipos de malformação e inibição notável do crescimento, similares aos resultados encontrados neste trabalho.

Em efluente bruto de hospital estudado por Li & Lin (2015), encontrou-se toxicidade aguda para organismos vertebrados, e *Cyprinus carpio* foi o organismo mais sensível testado.

Entre as principais alterações teratogênicas encontradas em seu estudo Mondragón (2019) cita malformação da cauda e deformidade da nadadeira, e relata que seus resultados

sugerem que o efluente hospitalar em estudo foi capaz de induzir embriotoxicidade e teratogenicidade em oócitos de *C. carpio*.

#### 4.8 ANÁLISE COMPARATIVA DOS RESULTADOS

O emprego de testes de toxicidade permite avaliar os possíveis impactos que a simples caracterização física e química da água não revelam, onde se sabe que apenas a análise físico-química não é suficiente para definir a toxicidade das substâncias, sendo que pode haver processos sinérgicos e antagônicos sobre os organismos (MENDES, 2004).

A bateria de bioensaios utilizada por Boillot (2008) mostrou que os efluentes apresentavam um alto nível de ecotoxicidade parcialmente ligada a partículas em suspensão e que a poluição flutuava bastante durante o dia em conexão com as atividades hospitalares.

As misturas de substâncias são relativamente fáceis de caracterizar quimicamente, mas seus efeitos ecotoxicológicos costumam ser impossíveis de prever (CHARLES, 2011). Desse modo, elaborou-se a Tabela 6 abaixo, onde destaca-se os diferentes efeitos dos RLH nos organismos testados nas concentrações de 25%, 50% e 100% e a seguir, também buscou-se relacionar os comportamentos ecotoxicológicos com as análises físico-químicas a fim de identificar possíveis interferências.

Nas palavras de Mondragón (2019) em seu recente estudo, os contaminantes identificados nos hospitais foram associados a efeitos deletérios nos organismos aquáticos.





Tabela 6 - Análise comparativa dos efeitos nas concentrações 25%, 50% e 100% de amostra dos testes realizados.

Bioindicador	Ponto	1ª Coleta			2ª Coleta			3ª Coleta		
		25%	50%	100%	25%	50%	100%	25%	50%	100%
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	A	+	+	+	+	+	+	+	+	o
	B	+	+	+	o	O	o	+	o	-
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Lactuca sativa</i>	A	+	+	o	o	O	+	o	o	o
	B	+	O	o	+	+	+	o	o	o
	C	o	O	+	+	+	+	o	o	o
<i>Allium cepa</i> (crescimento apical)	A	o	O	-	-	-	-	o	-	-
	B	-	-	-	o	-	-	o	-	-
	C	-	-	-	-	-	-	o	o	-
<i>Daphnia magna</i>	A	o	O	o	o	O	o	o	o	o
	B	o	O	o	o	O	o	o	o	o
	C	o	O	o	o	O	o	o	o	o
<i>Artemia sp.</i>	A	o	O	x	o	O	o	x	x	x
	B	o	O	o	o	O	x	o	o	x
	C	o	O	x	o	O	o	x	x	x
<i>Danio rerio</i>	A	o	O	x	x	X	x	o	o	x
	B	o	X	x	x	X	x	x	x	x
	C	o	X	x	o	O	x	o	x	x

Legenda: (+) = Estimulação de crescimento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ), para *S. subspicatus*, *L. sativa* e *A. cepa*; (-) = Inibição de crescimento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) para *S. subspicatus*, *L. sativa* e *A. cepa*; (x) = Mortalidade de 50% ou mais dos indivíduos para *D. magna*, *Artemia sp.* e *D. rerio*; (o) = Efeito estatisticamente não significativo e/ou não relevante.

Fonte: Elaborado pelo autor.



As amostras dos testes realizados com algas na 2ª coleta, no ponto B, em nenhuma das concentrações houve crescimento estatisticamente significativo, isso pode se dar ao fato de que neste mesmo ponto e coleta, os valores de fosfato foram um dos menores encontrados entre todas as análises realizadas neste estudo.

O aumento no fósforo total geralmente está associado ao aumento concomitante da biomassa e produção de algas, a menos que o nitrogênio seja limitante ao mesmo tempo (WAISER et al., 2011). Nesta mesma coleta os valores de fenóis, nitrato e amônia também foram menores no ponto B.

De todas as concentrações, pontos e coletas testados com *Scenedesmus*, apenas na 3ª coleta, no ponto B, houve inibição de crescimento. Esse fenômeno pode estar ligado aos altos valores de nitrogênio (encontrados na forma de nitrato e amônia) presentes na amostra. Composto amônia pode ser tóxico para algas de água doce (COLLOS & HARRISON, 2014).

Os testes realizados com *Lactuca sativa* na 3ª coleta onde os níveis de amônia foram mais elevados, não houve crescimento em nenhum grau significativo.

O crescimento apical da *Allium cepa* na 1ª e 3ª coleta esteve diretamente ligado aos valores de nitrato. Na 1ª coleta o ponto A mostrou o menor valor de nitrato e na 3ª o ponto C, por consequência mostrando menor toxicidade nestes pontos.

De maneira geral pode-se observar diferentes comportamentos nos organismos testados, houve crescimento das algas, assim como inibição do crescimento apical das cebolas, nenhum efeito significativo nas daphnias ao mesmo tempo que observou-se grande mortalidade dos peixes.

Garduño (2016) utilizou como bateria de bioensaios *Sparus aurata*, *Paracentrotus lividus*, *Isochrysis galbana* e *Vibrio fischeri*, representando diferentes níveis tróficos e observou diferentes efeitos de toxicidade aguda em cada efluente testado.

Nas análises com *Artemia* sp. pode-se observar que na 3ª coleta onde houve maior toxicidade, também houve elevados níveis de amônia. Na 2ª coleta onde apenas o ponto B expressou toxicidade significativa, foi onde a quantidade de fosfato estava mais baixa.

Os resultados para *D. rerio* foram os mais significativos em relação a mortalidades dos organismos testados. O ponto A apresentou maior toxicidade na 2ª coleta onde os valores de nitrato mostraram-se maiores. Na 1ª coleta o ponto B e C apresentaram maior toxicidade e também maiores valores de amônia.

Segundo Qianjiang (2013) em seu estudo, os efluentes hospitalares brutos testados possuíam toxicidade para o *D. rerio*.

## 5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES FINAIS

A cromatografia realizada detectou componentes químicos específicos e que caracterizaram a amostra como um efluente hospitalar.

A análise físico-química de fenóis totais através dos métodos Folin e 4-aminoantipirina, mostrou que existe uma grande diferença dos valores encontrados nas amostras para cada método utilizado. A legislação apenas cita a utilização do método 4-aminoantipirina, que entre os dois métodos supracitados, neste trabalho, mostrou quantidades de fenóis muito inferiores encontrados nas amostras analisadas em relação ao método Folin.

Através dos testes de toxicidade realizados neste presente trabalho, conclui-se que o efluente hospitalar do Hospital Universitário da UFSC mostrou-se tóxico para os organismos *Scenedesmus subspicatus*, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, *Artemia sp.* e *Danio rerio*, e não tóxico para *Daphnia magna*.

Os testes realizados com *Daphnia magna* neste trabalho, não mostraram nenhuma toxicidade. Dentre todos os organismos-teste utilizados, a *Daphnia* é o único que tem sua utilização prevista na legislação, e deste modo, pode ser necessária a revisão de sua utilização como sendo um dos principais testes ecotoxicológicos quando se trata do enquadramento de efluentes a corpos hídricos receptores.

Não existe atualmente leis que tratem os efluentes hospitalares com especificidade e a legislação pertinente aborda os resíduos líquidos de maneira generalizada. A legislação vigente necessita melhorias urgente, além disso, é fundamental que seja dada devida atenção aos efluentes hospitalares em particular.

Faz-se necessária a conscientização de que o tratamento utilizado convencionalmente (lodo ativado) não retira grande parte das substâncias nocivas e deve-se buscar outras soluções e tratamentos alternativos. A disposição final dos efluentes hospitalares também deve ser alvo de estudos e analisado com cautela visto as diversas implicações no ecossistema demonstradas por este estudo.

Para obtenção de maiores informações sobre a ecotoxicidade dos resíduos líquidos hospitalares, sugere-se a realização de análises físico-químicas e ecotoxicológicas combinadas também em outros hospitais para que possam ser identificadas as ligações entre suas características e a toxicidade de seus efluentes.

Para utilização de análises ecotoxicológicas, recomenda-se a realização de uma série de testes que incluam a maior quantidade de organismos teste possível, com níveis tróficos diferentes, assim como a utilização de testes agudos e crônicos. Como os resultados

demonstraram os diferentes organismos responderam de maneira diferenciada aos mesmos efluentes.

O monitoramento dos efluentes através da realização de testes em intervalos de tempo específicos (diários, semanais, mensais), pode ser interessante para criar-se um perfil toxicológico temporal. Tendo em vista o aumento populacional regional ligado diretamente a mudança sazonal, as implicações podem ser melhor compreendidas através deste tipo de monitoramento.

Deve ser estimulada a realização de avaliações e estudos ecotoxicológicos, bem como a caracterização e tratamento de efluentes. Assim como, o uso de fármacos e produtos de limpeza que sejam menos nocivos ao meio ambiente.

A comunidade deve ser informada sobre os problemas ambientais decorrente do descarte dos efluentes não tratados diretamente na rede pública.

Tratando-se desse tema, os comitês e equipes responsáveis pela administração hospitalar, as indústrias corporativas e parceiras responsáveis pela confecção de medicamentos e produtos de limpeza, a gestão pública (principalmente da saúde e meio ambiente) e a comunidade em geral devem conscientizar-se e trabalhar juntos.

A busca pelo entendimento da toxicidade que cada departamento hospitalar contribui para o efluente final são importantes fatores a serem levados em consideração em futuros estudos, pois isso possibilitaria uma melhor gestão dos resíduos produzidos pelos hospitais. Certamente seria uma grande contribuição para definição de políticas públicas eficazes de gestão ambiental e/ou hospitalar.

## REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, I.P. et al. Determination of metals and pharmaceutical compounds released in hospital wastewater from Toluca, Mexico, and evaluation of their toxic impact. **Environmental Pollution**. v. 240, p. 330-341, 2018.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of water and waste water**, 21 ed. American Public Health Association, Washington, DC. 2005.
- AREND, R.G.; HENKES, J.A. Efluentes hospitalares: Avaliação da forma de disposição dos efluentes hospitalares em quatro municípios da região do vale dos sinos, no estado do Rio Grande do Sul. **Rev. gest. sust. ambient.**, Florianópolis, v. 2, n. 2, p.263-308. mar. 2014.
- AVIM, L. B. et al. Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando *Allium cepa* L. **Ambiente & Água**, v. 6, p. 255-265, 2011.
- AYDIN, S.; AYDIN, M. E.; ULVI, A.; KILIC, H. Antibiotics in hospital effluents: occurrence, contribution to urban wastewater, removal in a wastewater treatment plant, and environmental risk assessment. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 26, p. 544–558, 2019.
- AZUMA, T. et al. Environmental fate of pharmaceutical compounds and antimicrobial-resistant bacteria in hospital effluents, and contributions to pollutant loads in the surface waters in Japan. **Science of The Total Environment**. v. 657, p. 476-484, 2019.
- BARBAZUK, W.B. et al. The syntenic relationship of the zebrafish and human genomes. **Genome Res**. n. 10, p.1351-1358, 2000.
- BARBÉRIO, A.; VOLTOLINI, J.C.; MELLO, M. Standardization of bulb and root sample sizes for the *Allium cepa* test. **Ecotoxicology** n. 20, p. 927–935, 2011.
- BARBOSA X. M. F.; **Caracterização Da Qualidade Da Água E Presença De Agentes Tóxicos Em Mananciais Hídricos Da Ilha De Santa Catarina, Brasil**. TCC - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas, 2015.
- BLAISE, C. et al. Microplate toxicity tests with microalgae: a review. **Microscale Testing in Aquatic Toxicology. Advances, Techniques and Practice**. CRC Press. Boca Raton, USA. p. 269-288, 2006.
- BOILLOT, C. et al. Daily physicochemical, microbiological and ecotoxicological fluctuations of a hospital effluent according to technical and care activities. **Science of The Total Environment**. v. 403, c. 1–3, p. 113-129, 2008.
- BORTOLOTTI, T. et al. Evaluation of the toxic and genotoxic potential of landfill leachates using bioassays. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 28, n. 2, p. 288–293, 2009.
- BORTOLOTTI, T. et al. Evaluation of toxic and genotoxic potential of a wet gas scrubber effluent obtained from wooden-based biomass furnaces: A case study in the red ceramic industry in southern Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 143, p. 259–265, Mai, 2017.

BRASIL. ANVISA. Resolução nº 222, de 28 de março de 2018. Regulamenta as Boas Práticas de Gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde e dá outras providências. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. Mar, 2018.

BRASIL. ANVISA. Resolução nº 306, de 7 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. Dez, 2004.

BRASIL. ANVISA. Resolução nº 33, de 25 de fevereiro de 2003. Regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de saúde. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. Fev, 2003.

BRASIL. CONAMA. Resolução n. 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: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, n. 53, Seção 1, p. 58-63, Mar, 2005.

BRASIL. CONAMA. Resolução n. 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do CONAMA. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, n. 92, p. 89, Mai, 2011.

BRASIL. CONAMA. Resolução nº 358, de abril de 2005. Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. Abr, 2005.

BRASIL. Lei nº 12.305, de 2 de agosto 2010 - Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. Ago, 2010.

BRASIL. Lei nº 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: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. Ago, 1981.

BRASIL. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. Set, 1990.

BRASIL. Lei nº 9.433, de 8 de janeiro de 1997. Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, cria o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. Jan, 1997.

BRASIL. Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. Fev, 1998.

BRETANO, D.M.; LOBO, E.A. Biomonitoramento de caráter ecotoxicológico no vale do Rio Pardo – RJ. Brasil. **Tecnológica**. n.7, p. 85-95, 2006.



BRUCHCHEN, L. M. et al. Avaliação da toxicidade das águas do Rio Criciúma (Criciúma, Santa Catarina, Brasil), utilizando parâmetros físico-químicos e abordagens ecotoxicológicas. **Ecotoxicol. Environ. Contam.**, v. 8, n. 2, 2013.

CALZONI, G. L. et al., Active biomonitoring of heavy metal pollution using *Rosa rugosa* plants. **Environ. Pollut.**, n. 149, p. 239-245, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.envpol.2006.12.023>.

CARRARO, E. et al. Hospital effluents management: Chemical, physical, microbiological risks and legislation in different countries. **Journal of Environmental Management** v. 168, p. 185-199, 2016.

CHARLES, J. et al. Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v.74, p. 2057–2064, 2011.

COLLOS, Y.; HARRISON, P.J. Acclimation and toxicity of high ammonium concentrations to unicellular algae. **Marine Pollution Bulletin** v. 80, p. 8–23, 2014.

CUNHA, B.M. **Avaliação ecotoxicológica de distintos tipos de efluentes mediante ensaios de toxicidade aguda utilizando *Artemia salina* e *Lactuca sativa***. TCC Curso de química bacharel, UFRGS. Porto Alegre – RS, 2011.

DA SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003.

EMMANUEL, E. et al. Effects of hospital wastewater on aquatic ecosystem. **XXVII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental**. Cancún, México. 2002.

FATIMA, R.A.; AHMAD, M. Certain antioxidant enzymes of *Allium cepa* as biomarkers for the detection of toxic heavy metals in wastewater. **The Science of The Total Environment**, v. 346, p. 256-273, 2005.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test in wastewater monitoring. **Environmental Toxicology Water Quality**, v. 8, p. 3291–3298, 2006.

FLOHR, L.; CASTILHOS A. B. J.; MATIAS, W. G. Acute and Chronic Toxicity of Soluble Fractions of Industrial Solid Wastes on *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*. **The Scientific World Journal**. v. 2012, Article ID 643904, 10 pages, 2012. doi:10.1100/2012/643904

FLORIANÓPOLIS. Lei Nº 1.224, de 02 de setembro de 1974. Institui o Código de Posturas Municipal. Diário Oficial, Florianópolis, SC. Set, 1974.

FLORIANÓPOLIS. Lei Nº 4.645, de 21 de junho de 1995. Institui a Fundação municipal do meio ambiente. Diário Oficial, Florianópolis, SC. Jun, 1995.

GALLARDO-ALTAMIRANO M.J. et al. Removal of anti-inflammatory/analgesic pharmaceuticals from urban wastewater in a pilot-scale A<sup>2</sup>O system: Linking performance and microbial population dynamics to operating variables. **Science of The Total Environment**. v. 643, p. 1481-1492. Dez. 2018.

GÁLLIGO, F, C. Usos y abusos de la cafeína. **Formación Médica Continuada en Atención Primaria**. v. 20, n. 7, p. 381-382. 2013.

- GARDUÑO, B. D-. et al. Are combined AOPs effective for toxicity reduction in receiving marine environment? Suitability of battery of bioassays for wastewater treatment plant (WWTP) effluent as an ecotoxicological assessment. **Marine Environmental Research**. v. 114, p. 1-11, 2016.
- GEREMIAS, R. et al. Bioaccumulation and toxic effects of copper in common onion *Allium cepa* L. **Chemistry and Ecology**, v. 26, p. 19-26, 2010.
- GILLIS, P. L., et al. *Daphnia* need to be gut-cleared too: The effect of exposure to and ingestion of metal-contaminated sediment on the gut-clearance patterns of *D. magna*. **Aquatic Toxicology**, v. 71, n. 2, p. 143-154., 2005.
- GOMES, L.S. et al. Ecotoxicity of Sludges Generated by Textile Industries: a Review. J. Braz. Soc. **Ecotoxicol.**, n. 7, p. 89-96, 2012, Disponível em: <http://dx.doi.org/doi:10.5132/jbse.2012.01.013>
- GUERRA, P. et al. Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes. **Science of The Total Environment**. v. 473–474, p. 235-243. Mar. 2014.
- HAMILTON, M. A., RUSSO, R. C., TUSRTUN, R. V. Trimed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environ. Sci. Technol.** v. 11, p. 714-719, 1977.
- HOCQUET, D.; MULLER, A.; BERTRAND, X. What happens in hospitals does not stay in hospitals: antibiotic-resistant bacteria in hospital wastewater systems. **Journal of Hospital Infection**, n.93, p.395-402, 2016.
- HU-UFSC. **Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviço de Saúde**, 4 Rev. Téc. Florianópolis, 2016.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). **Water Quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) – Acute toxicity test**. ISO 6341, 2012.
- JORDÃO, E.P.; PESSOA, C.A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 5. ed., 2005.
- GAUTAUN, A.K.; KUMAR, S.; SABUMON, P. C. Preliminary study of physico-chemical treatment options for hospital wastewater. **Journal of Environmental Management**. v. 83, p. 298-306, 2007.
- LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water – A case study. **Mutation Research**, v. 650, p. 80-86, 2008.
- LEPRAT, E. Les effluents liquides hospitaliers: vers une meilleure maîtrise. **3<sup>ème</sup> Journée du regional d'hygiène de Basse- Normandie**. Resumes dès intervention. p. 2, 1999.
- LI, S-. W. & LIN, A. Y-. C. Increased acute toxicity to fish caused by pharmaceuticals in hospital effluents in a pharmaceutical mixture and after solar irradiation. **Chemosphere**. v. 139, p. 190-196, 2015.
- MACHADO, C. K. et al. Potential environmental toxicity from hemodialysis effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 102, p. 42-47, 2014.

MAGDALENO, A. et al. Evaluación ecotóxica y genotóxica de aguas residuales hospitalarias. **Acta toxicol. argent.** v. 20, n. 1, Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Jul. 2012.

MENDES, B.G. et al. Estudos da qualidade das águas do Rio Marombas (SC/Brasil), utilizando parâmetros físico-químicos e bioensaios. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 2, p. 43-58, 2011.

MENDES, C, J. **Caracterização dos efluentes líquidos em termos de ecotoxicidade gerados na disposição de RSU nos aterros do entorno de Criciúma – SC.** Monografia - Curso de Engenharia Ambiental, UNESC, Criciúma. 2004.

MONDRAGÓN M, L-. et al. Alterations to embryonic development and teratogenic effects induced by a hospital effluent on *Cyprinus carpio* oocytes. **Science of The Total Environment.** v. 660, p. 751-764, 2019.

MÜLLER, C. et al. Potencial fitotóxico de algumas espécies Gleicheniaceae sobre *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 45-47, 2007.

NETTO, E. et al. Evaluation of the toxic and genotoxic potential of acid mine drainage using physicochemical parameters and bioassays. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 35, n. 3, p. 511–516, 2013.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO J. A. O. **Fundamentos de toxicologia.** 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2014.

OLLER, I.; MALATO, S.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J. Combination of advanced oxidation processes and biological treatments for wastewater decontamination—a review. **Science of the Total Environment.** v. 409, p. 4141-4166, 2011.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Test No. 202: *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test**, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, 2004.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test**, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, 2011.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Test No. 211: *Daphnia magna* Reproduction Test**, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, 2012.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Test No. 236: Fish embryo acute toxicity (FET) test**, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, 2013.

ORIAS, F.; PERRODIN, Y. Characterisation of the ecotoxicity of hospital effluents: A review. **Science of the Total Environment.** n.454–455, p.250–276, 2013.

ORTOLAN, M. G. S.; AYUB, M. A. Z. Cytotoxicity and genotoxicity of untreated hospital effluents. **Braz. arch. biol. technol.**, v.50, n. 4, p. 637-643. 2007.

PAIVA, F.V.; SOUZA,N.C.; VAN HAANDEL, A.C. Identification of organic and pharmaceutical compositions in hospital wastewater using a gas chromatograph coupled to mass spectrometry. **Eng Sanit Ambient.** v.16, n.1, p37-44. Jan/Mar. 2011.

QIANJIANG, J. et al. Pharmaceutical removal from wastewater by ferrate(VI) and preliminary effluent toxicity assessments by the zebrafish embryo model. **Microchemical Journal**. v. 110, p. 239-245, 2013.

RICHA, S.; DINESH, K.; GUPTA, S.K. Bioremediation of municipal sludge by vermitechnology and toxicity assessment by *Allium cepa*. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 1867-1871, 2005.

SANTA CATARINA. Lei nº 14.675, de 13 de abril de 2009. Institui o Código Estadual do Meio Ambiente e estabelece outras providências. Diário Oficial, Florianópolis, SC. Abr, 2009.

SANTA CATARINA. Lei nº 9.748, de 30 de novembro de 1994. Dispõe sobre a Política Estadual de Recursos Hídricos e dá outras providências. Diário Oficial, Florianópolis, SC. Nov, 1994.

SANT'ANNA, M.C.B. **Zebrafish (*Danio rerio*) como modelo para estudo da toxicidade induzida pelo ferro**. 2009.

SANTUCCI, R. G. D. **Toxicologia ambiental**. São Paulo: Universidade Paulista - UNIP, 2016.

SAURABH, C. et al. Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium* test. **Sci. Total Environ**. n. 347, p. 46–52, 2005.

SHAKIR, L. et al. Ecotoxicological risks associated with tannery effluent wastewater. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 34, p. 180-190, 2012.

SILVA, A.C. **Tratamento do percolado de aterro sanitário e Avaliação da toxicidade do efluente bruto e tratado**. 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.

SILVA, A. L. E. **Avaliação do crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* em fotobiorreator contínuo do tipo “flat-panel” alimentando com vinhaça, meio WC e meio WC enriquecido com glicerol**. Monografia (Bacharelado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2015.

SILVA D. G. K. C.; MACÊDO, R. G.; LADCHUMANANANDASIVAM, R. Efluentes Hospitalares: Caracterização Físico-Química e Microbiológica em um Hospital no Município de Natal-RN. **Revista de biologia e farmácia**. v. 6, n. 2, p.74-79, 2011.

SILVA, J. DA et al. Análise físico-química e toxicológica de efluente gerado por lavadores de gases em olaria do sul catarinense. **Rev.Técnico Científica (IFSC)**, v. 3, n. 1, p. 242–251, 2012.

SILVEIRA, V. R. **Tratamento de efluentes da drenagem ácida de mina de carvão por precipitação e sedimentação**. Tese de doutorado em engenharia. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. p.203, 2004.

SOUZA, R. C. **Tratamento de efluentes de lavanderia hospitalar para fins de reuso**. Dissertação de Pós-Graduação em Engenharia Urbana. Centro de Tecnologia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2012.

SREEDHARA, A.; COWAN, J.A. Catalytic hydrolysis of DNA by metal ions and complexes. **J. Biol. Inorg. Chem.**, n. 6, p. 337–347, 2001.

STREB, C. et al., Biomonitoring based on real time movement analysis of unicellular organisms. **J. Gravit. Physiol.**, n. 9, p.345-346, 2002.

SVENSSON, B.M. et al. *Artemia salina* as test organism for assessment of acute toxicity of leachate water from landfills. **Environ. Monit. Assess.** n. 102, p. 309–321, 2005.

TALLINI, K., et al. Estabelecimento de Protocolo de Avaliação de Risco Ecológico em Ambiente Aquático tendo o Programa de Monitoramento do Rio Jacuí, São Jerônimo (RS). **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, n. 7, p. 55-63, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/doi:10.5132/jbse.2012.01.009>.

TSARPALI, V.; KAMILARI, M.; DAILIANIS, S. Seasonal alterations of landfill leachate composition and toxic potency in semi-arid regions. **Journal of Hazard Materials**, v. 233, p. 163-171, 2012.

VECCHIA, A.D. et al. Diagnóstico sobre a situação do tratamento do esgoto hospitalar no Brasil. **Revista Saúde e Ambiente / Health and Environment Journal**, v. 10, n. 2. Dez 2009.

VERLICCHI, P.; AUKIDY, M. A.L.; ZAMBELLO, E. What have we learned from worldwide experiences on the management and treatment of hospital effluent? — An overview and a discussion on perspectives. **Science of The Total Environment**. v. 514, p. 467-491. Mai. 2015.

VERLICCHI, P.; AL AUKIDY, M.; GALLETI, A.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Hospital effluent: Investigation of the concentrations and distribution of pharmaceuticals and environmental risk assessment. **Science of the Total Environment** v. 430, p. 109–118, 2012.

VIEIRA, D.S.; RODRIGUES, S.S.; PICOLI, R.L. Gestão ambiental e resíduos hospitalares: Uma análise sobre a legislação e a viabilidade de implantação dos ECOCENTROS e ECTE no Distrito Federal. **IV Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**. Salvador – BA, 2013.

WAISER, M.J. et al. Effluent-dominated streams. Part 1: Presence and effects of excess nitrogen and phosphorus in Wascana Creek, Saskatchewan, Canada. **Environmental Toxicology and Chemistry**. v, 30, n. 2, p. 496–507, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Safe management of wastes from health-care activities**. 2. ed., 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global Action Plan on Antimicrobial Resistance**, p. 1-19, 2015.

XIANG, J. et al. The fate and risk assessment of psychiatric pharmaceuticals from psychiatric hospital effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 150, p. 289-296 Abr. 2018.

XU J.; GALLERT C.E.; WINTER J. Multiple antibiotic resistances of *Enterococcus* isolates from raw or sand-filtered sewage. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v. 74, p.493-500. 2007.