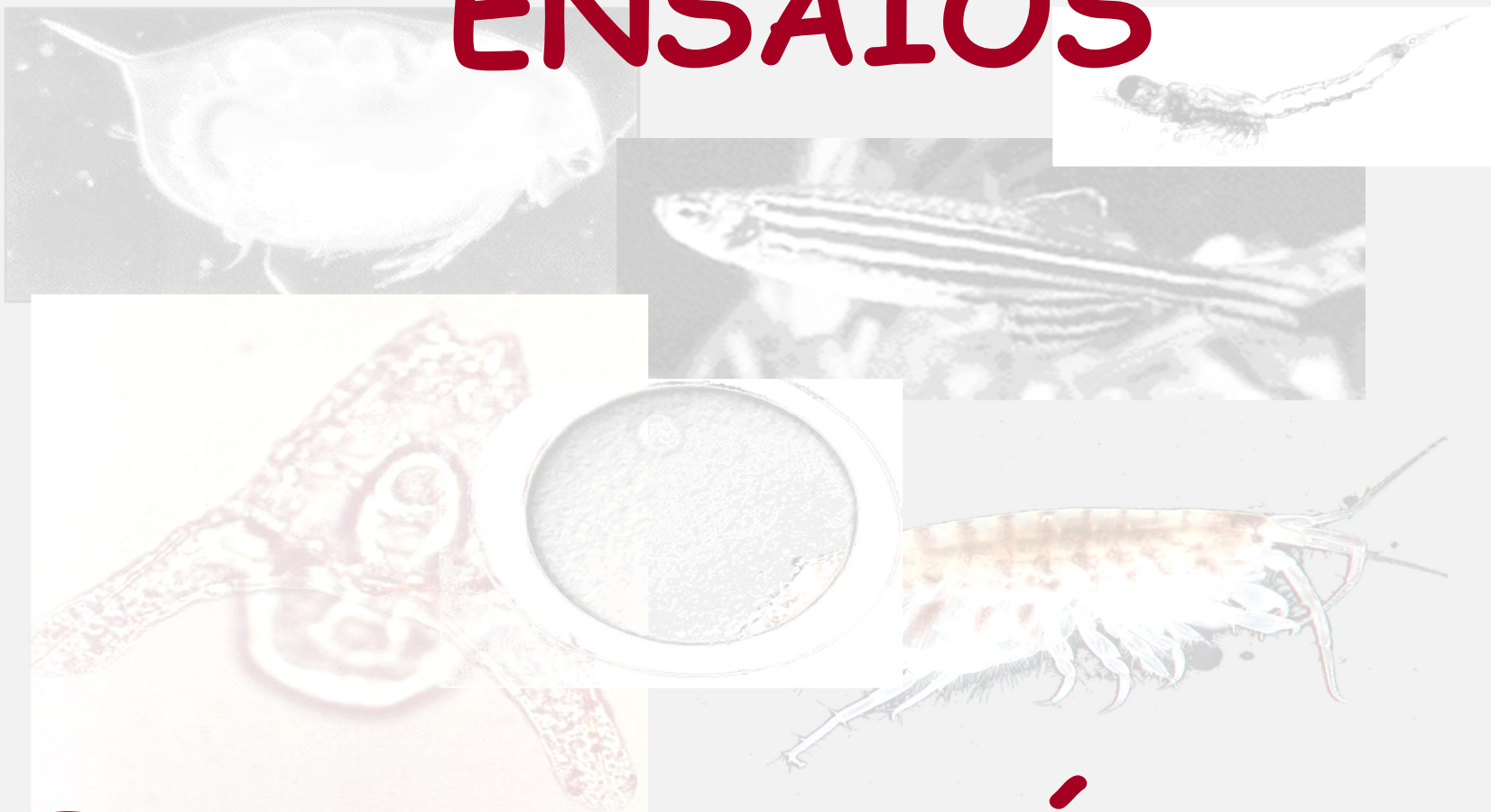


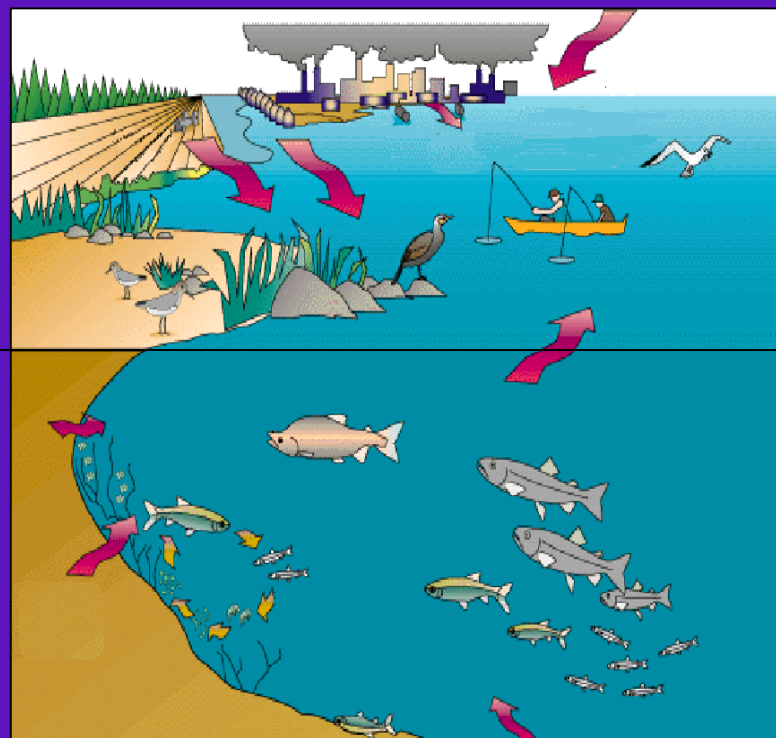
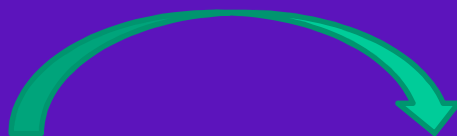
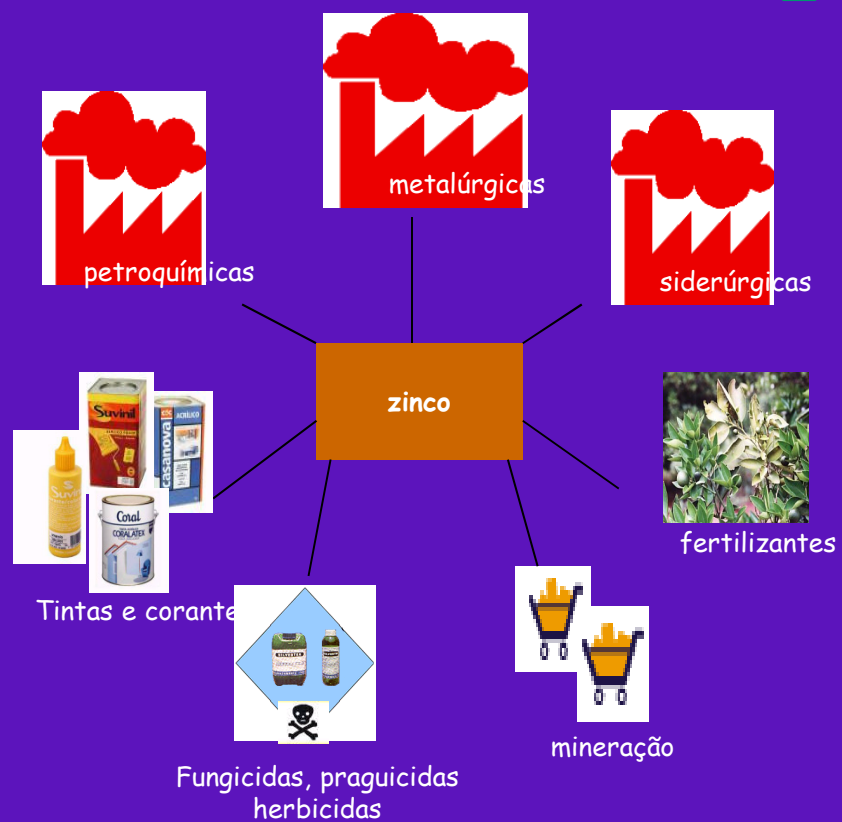
ENSAIOS



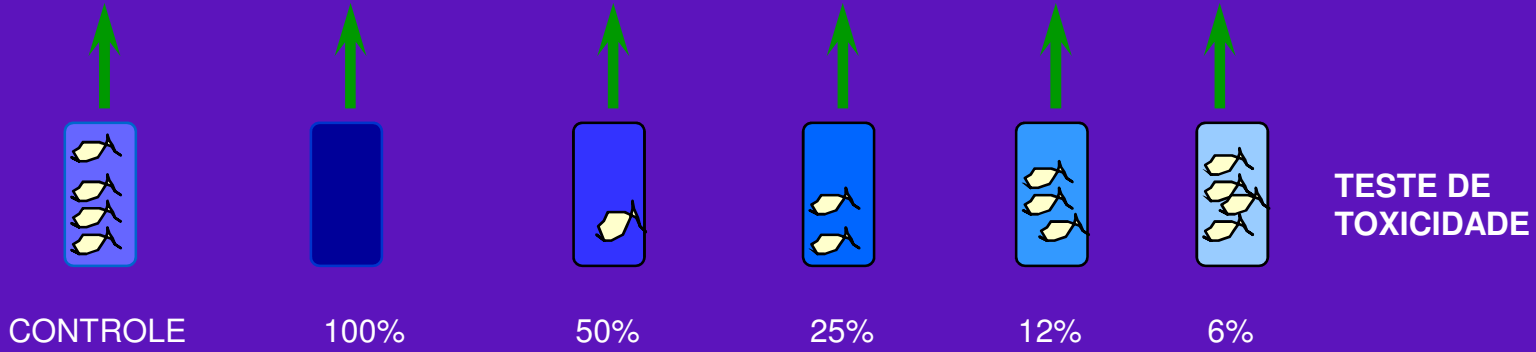
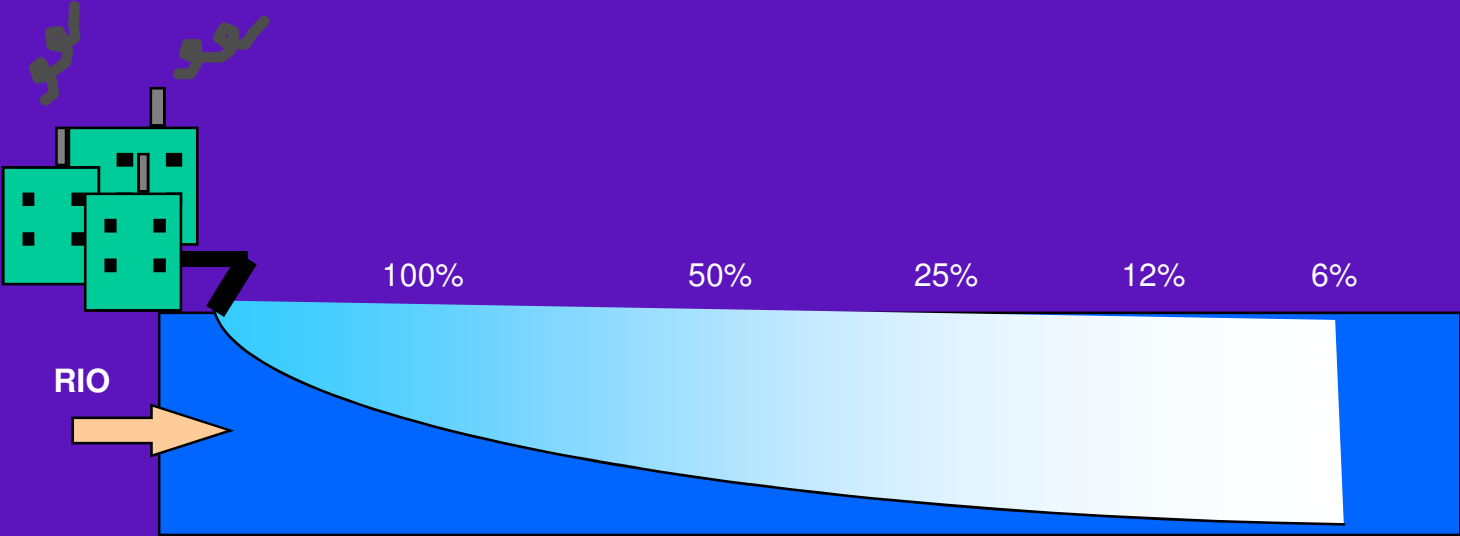
ECOTOXICOLÓGICOS

Valéria A. Prósperi – valeriap@cetesbnet.sp.gov.br
(11) 3133-3558

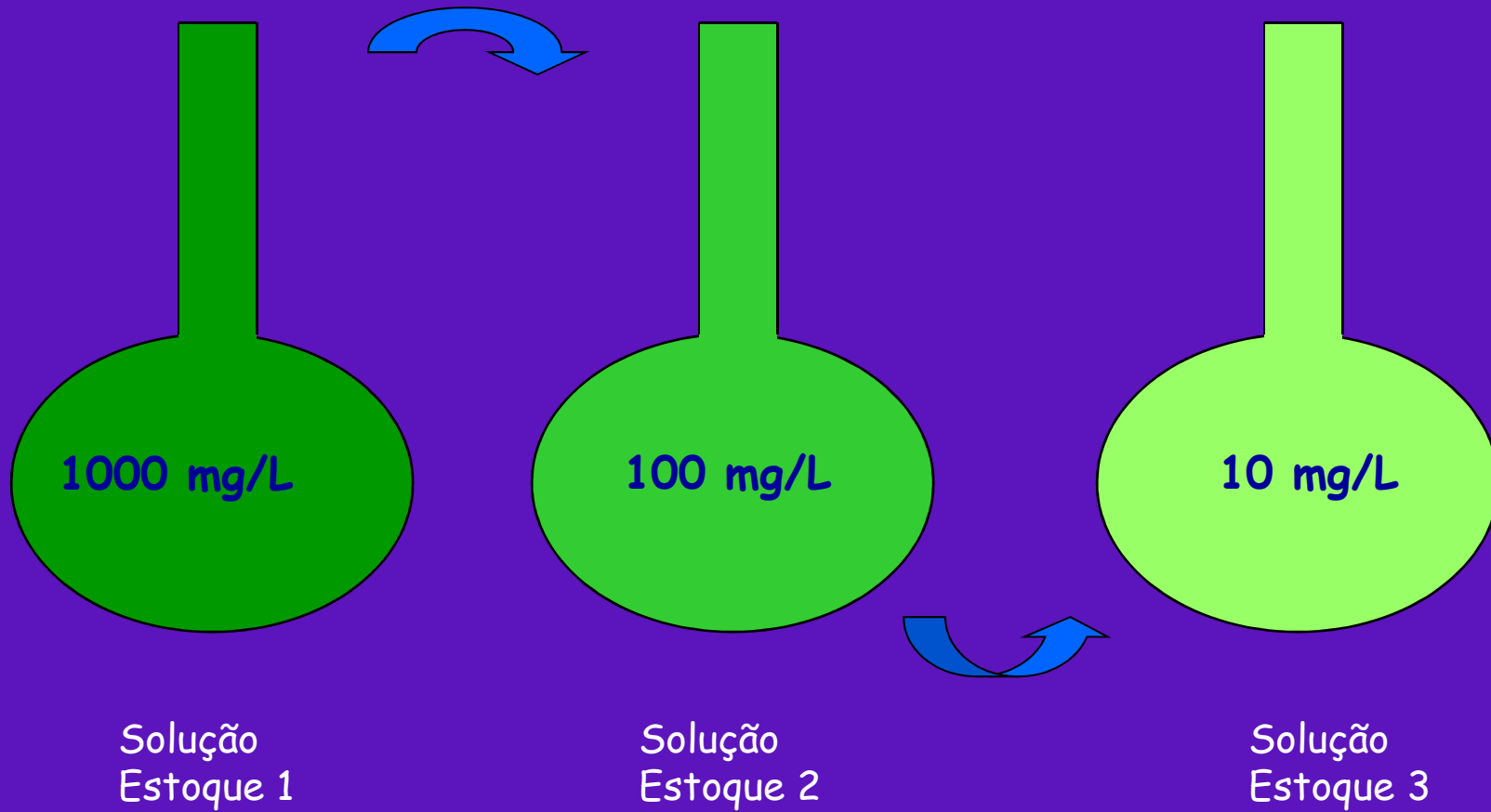
Introdução de agentes químicos



Introdução de agentes químicos



Ensaio ecotoxicológico - soluções-teste



ESQUEMA SIMPLIFICADO DO ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO

AMOSTRA DE SEDIMENTO

SEDIMENTO LIMPO (controle)



ESQUEMA SIMPLIFICADO DO ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO

AMOSTRA DE SEDIMENTO



SEDIMENTO LIMPO (controle)



Resultado:
significância do
efeito tóxico
em relação
ao controle

FINALIDADE: AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE
E A INTERAÇÃO DOS AGENTES QUÍMICOS

Ensaio ecotoxicológico

Exposição de um organismo teste em um recipiente adequado em determinadas condições por um determinado tempo

efeitos observados

CONTROLE

AGUDO

avalia efeitos, em geral severos e rápidos, sofridos por organismos expostos a substâncias tóxicas em um curto período de tempo, usualmente de 1 a 10 dias.

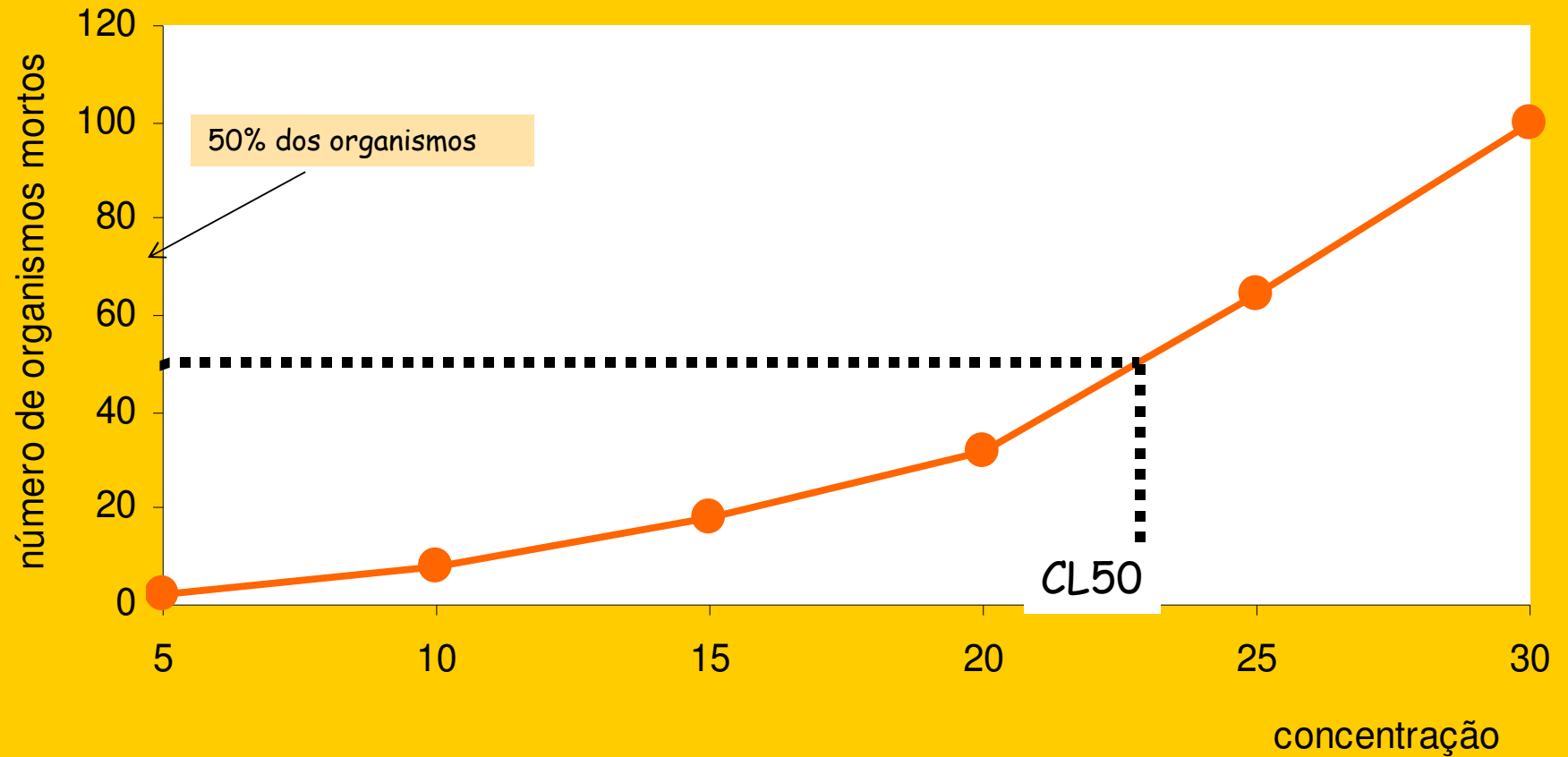
- **Mortalidade**
- **Imobilidade**

CRÔNICO

O organismo é exposto durante a totalidade do ciclo de vida ou parte dele

- Reprodução
- Crescimento
- Anormalidade no desenvolvimento embriolarval

Ensaio ecotoxicológico - relação dose-resposta



Ensaio ecotoxicológico - amostras ambientais

**100% amostra
x
Controle**

**Tóxico
Não tóxico**

Porcentagem do efeito medido

- **Avaliação da qualidade da água e sedimento;**
- **Estabelecimento de critérios de qualidade de água e de sedimento;**
- **Avaliação de material dragado;**
- **Registro de produtos (agrotóxicos, dispersantes);**
- **Monitoramento de ecossistemas aquáticos;**
- **Avaliação de risco e impacto de efluentes industriais;**
- **Identificação de contaminantes (água, sedimento, efluentes).**

Ensaio ecotoxicológico x Legislação ambiental

Águas e lançamento de efluentes - Resolução CONAMA, n. 357/05

Registro de agrotóxicos - Portaria Normativa n.84/96 (IBAMA) e ANVISA Portaria n. 3/1992.

Registro de Dispersantes Químicos - Instrução Normativa IBAMA n. 1 de 14/7/2000 e n. 7 de 6/7/01.

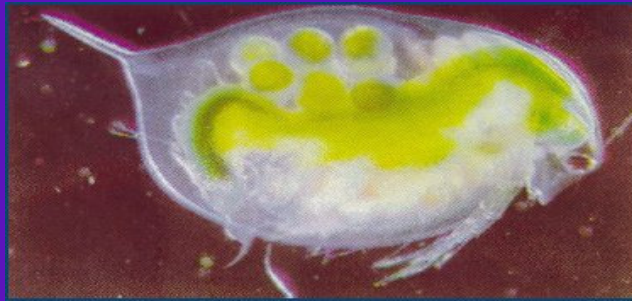
Controle do lançamento de efluentes no Estado de São Paulo - Resolução SMA n.3, 2000

Avaliação de material dragado - Resolução do CONAMA No. 344, 2004

Exemplos de ensaios com sedimento recomendados em diferentes países por agências governamentais como parte das avaliações no gerenciamento de material dragado

TIPO	TESTE	PAÍS
SCREENING	Microtox	Holanda Canada Australia Espanha
	Anfípodos	Holanda Canada Australia Espanha USA UK
FASE SÓLIDA	Viabilidade de algas bentônicas	Australia
	Desenv. Embriolarval/ouriço	Canada Espanha USA
FASE LÍQUIDA	Fertilização/ouriço e desenv.embriolarval/ouriço	Australia USA
	Desenv. Embriolarval/bivalves	
	Sobrevivência de camarão (pós-larva)	Australia
	Inibição do crescimento algaceo	
BIOACUMULAÇÃO	Bivalves	Canada USA
	Poliquetas	USA

Ensaio ecotoxicológico com organismos de água doce



Daphnia similis



Danio rerio



Ceriodaphnia dubia

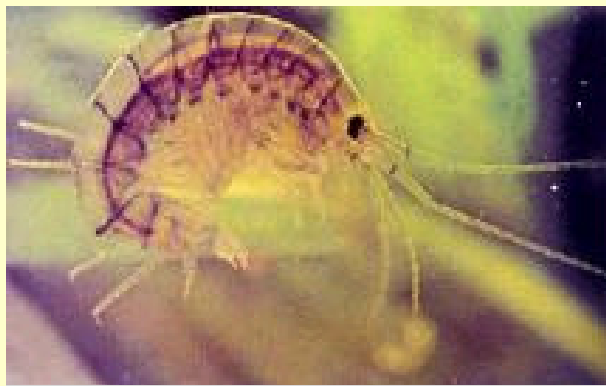


Chironomus xanthus

Ensaio ecotoxicológico para avaliação da qualidade de sedimentos

- **Métodos normalizados - ABNT**
- **Anfipodos – ambientes dulcícolas**

ABNT NBR 15470. *Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade em sedimento - Método de ensaio com Hyalella spp (Amphipoda)*. 2007. 20p.



Hyalella azteca

Ensaio ecotoxicológico para avaliação da qualidade de sedimentos

- Métodos normalizados - ABNT

- Anfípodos – ambientes marinhos e salobros

ABNT NBR 15638. *Qualidade da água - Determinação da toxicidade aguda de sedimentos marinhos ou estuarino com anfípodos*. 2008. 19p.



Leptocheirus plumulosus



Tiburonella viscana

Leptocheirus plumulosus



Ensaio ecotoxicológicos para avaliação da qualidade de sedimentos

- Métodos normalizados - ABNT

- Equinodermos – ambientes marinhos e salobros

ABNT NBR 15350. *Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade crônica de curta duração - Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata - Echinoidea)*. 2006. 17p.

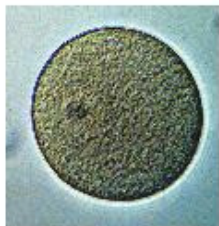


Lytechinus variegatus



Echinometra lucunter

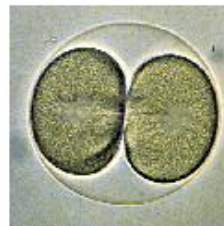
Lytechinus variegatus - estágios do desenvolvimento embriolarval



a) óvulo



b) ovo



c) 1ª divisão



d) 2ª divisão



e) 3ª divisão



f) "n" divisão



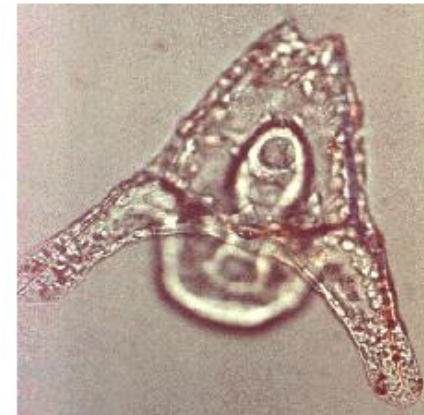
g) mórula



h) blástula



i) gástrula



j) larva pluteus

Ensaio ecotoxicológico – avaliação de sedimentos CETESB

Critério para o diagnóstico da qualidade dos sedimentos, baseado no resultado dos ensaios ecotoxicológicos com *Lytechinus variegatus* e *Leptocheirus plumulosus*

Diagnóstico	<i>Leptocheirus plumulosus</i>	<i>Lytechinus variegatus</i>
Ótimo	Não tóxico ^(a)	Não tóxico ^(a)
Bom	-	71 a 80% de larvas normais
Regular	-	51 a 70% de larvas normais
Ruim	Mortalidade <50% *	26 a 50% de larvas normais
Péssimo	Mortalidade ≥50%	Até 25% de larvas normais

RESOLUÇÃO CONAMA 344/2004

(Referência de padrões da qualidade dos sedimentos)

LIMITES INDIVIDUAIS ESTABELECIDOS

PARA 33 AGENTES QUÍMICOS

**QUASE A TOTALIDADE ORIGINÁRIOS
DOS DE RESULTADOS DE
ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS E SUA RELAÇÃO
COM COMUNIDADES AQUÁTICAS**

AMOSTRA DE SEDIMENTO



**QUAL SERIA O EFEITO ADVERSO
PRODUZIDO POR ESSA MISTURA?**

BIODISPONIBILIDADE

Propriedade do agente químico que determina o efeito tóxico ao organismo.

Os agentes químicos biodisponíveis são aqueles que estão presentes, porém em uma forma específica que pode afetar os organismos

**Monitoramento ecotoxicológico para Gestão
da área de disposição
oceânica de material dragado
Porto de Santos/SP**

Nos resultados dos ensaios com anfipodos:

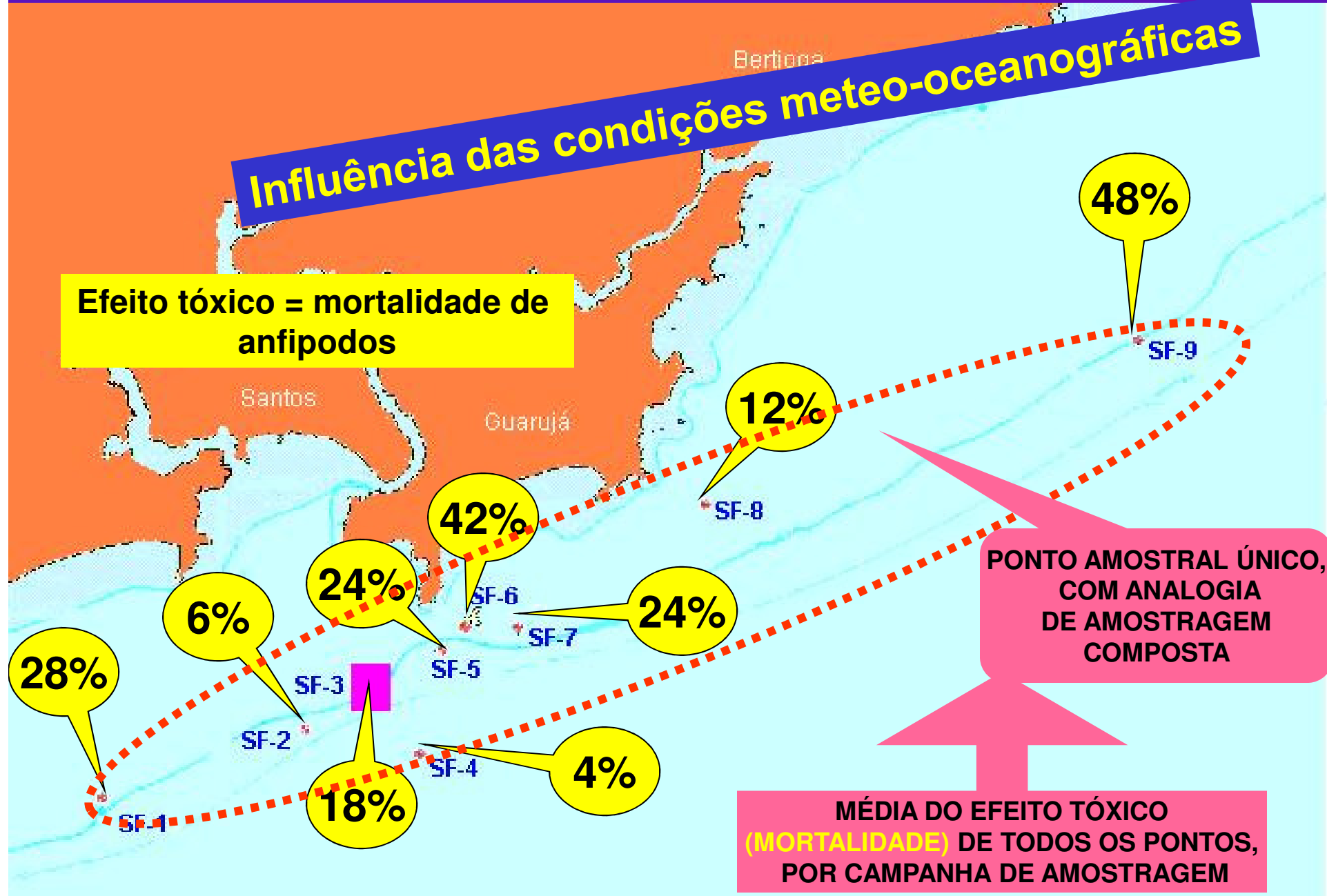
- Diferenças de efeito tóxico inexplicáveis ao longo das estações amostradas
- Alterações expressivas em cada ponto a cada mês

O mesmo foi observado nos resultados das análises químicas

Provavelmente devido à influência das condições meteorológicas e oceanográficas

Influência das condições meteo-oceanográficas

Efeito tóxico = mortalidade de anfipodos

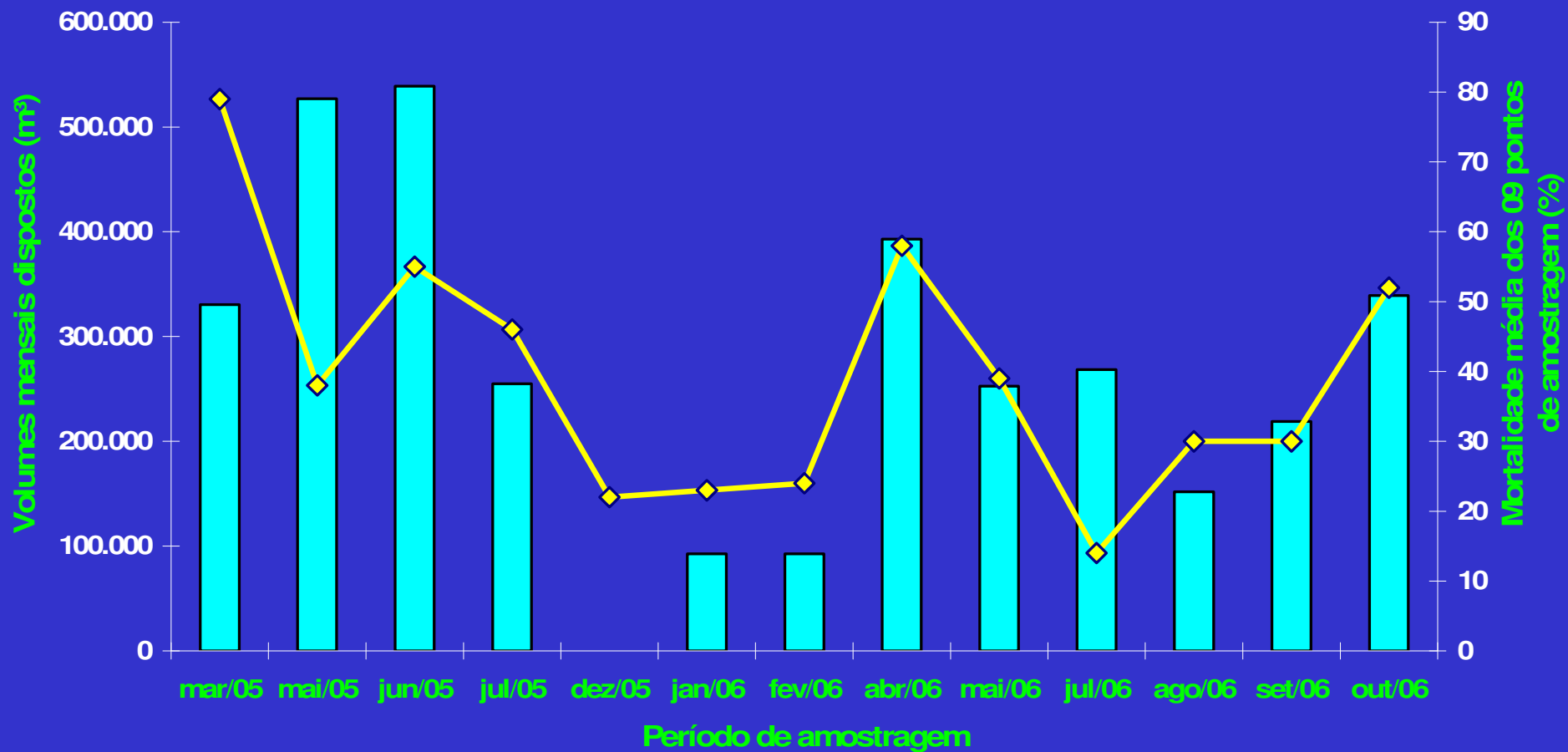


PONTO AMOSTRAL ÚNICO, COM ANALOGIA DE AMOSTRAGEM COMPOSTA

MÉDIA DO EFEITO TÓXICO (MORTALIDADE) DE TODOS OS PONTOS, POR CAMPANHA DE AMOSTRAGEM

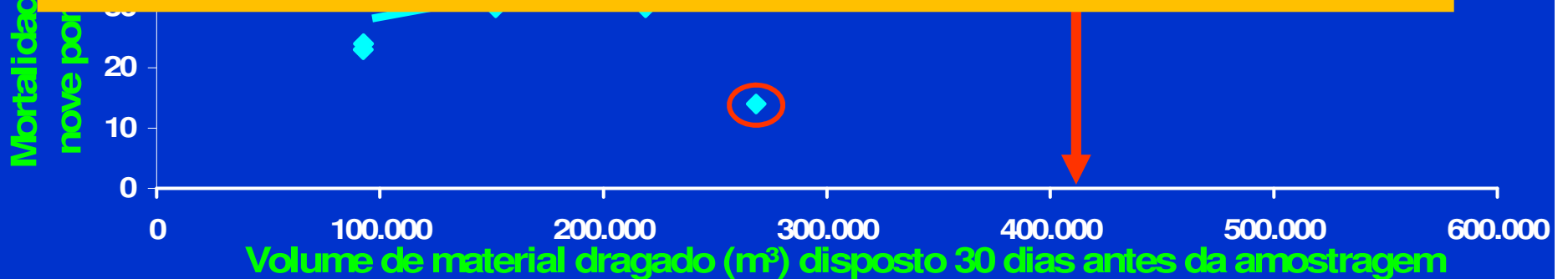
QUANTIDADES E ECOTOXICIDADE

material dragado ◆ efeito tóxico



CORRELAÇÃO QUANTIDADE x ECOTOXICIDADE

Entre todas as análises efetuadas no monitoramento (incluindo as físicas, químicas e biológicas), somente os ensaios ecotoxicológicos foram capazes de discriminar os efeitos adversos causados pela disposição do material dragado

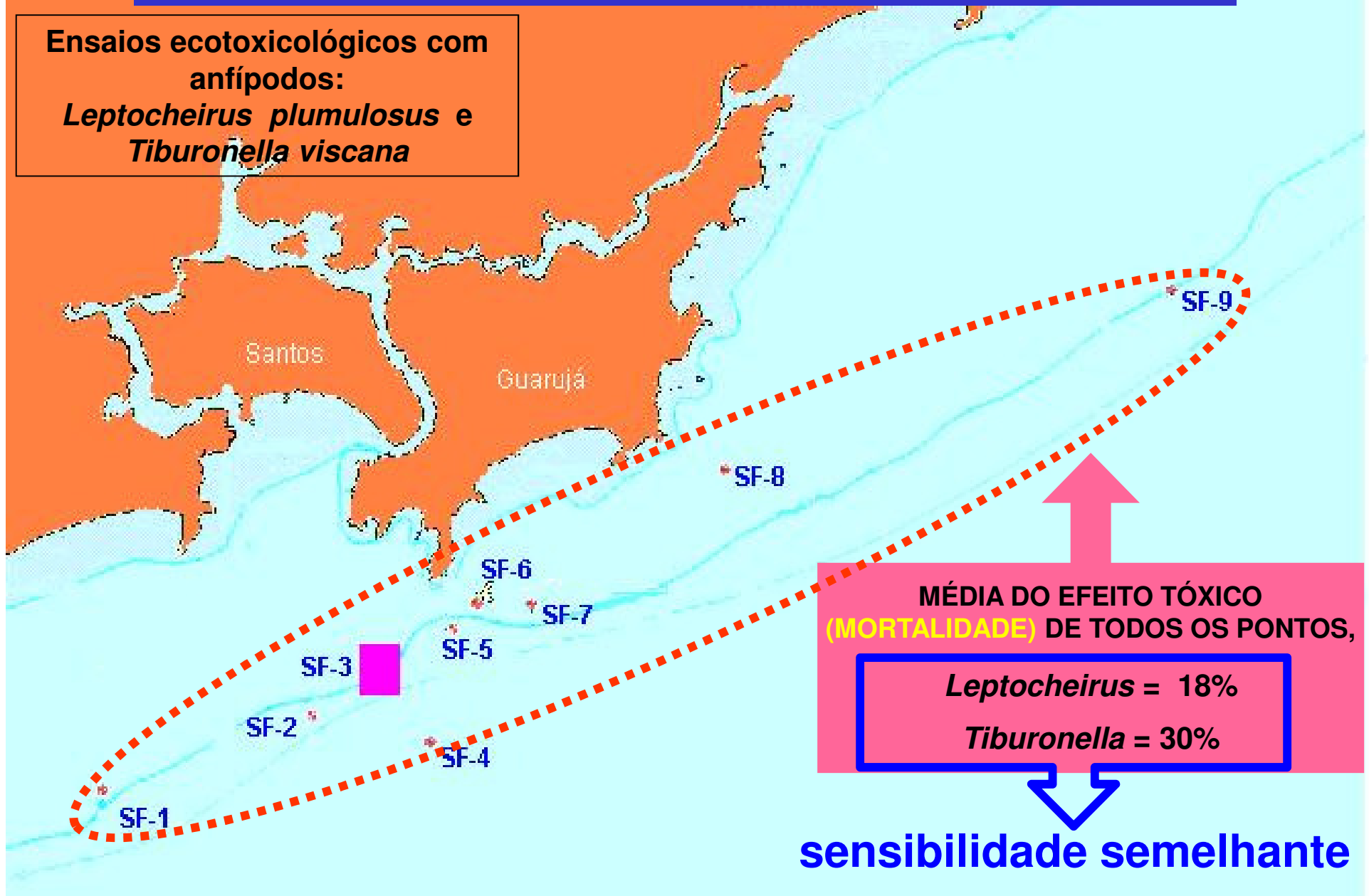


**SENSIBILIDADE DOS
ORGANISMOS UTILIZADOS E
REDUÇÃO DOS EFEITOS TÓXICOS**

Monitoramento CODESP/COSIPA de maio/2007 a julho/2008

(após limitação do efeito tóxico $\leq 50\%$, em função dos volumes)

Ensaio ecotoxicológico com anfípodos:
Leptocheirus plumulosus e
Tiburonella viscana



ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS ENSAIOS

Análise estatística tradicional (ANOVA) pode apresentar resultados falso positivos (indica um efeito tóxico quando esse não ocorre).

Análise estatística apropriada (ANOVA com bioequivalência) considera aspectos estatísticos e biológicos → variabilidade natural

r expressa nível de efeito biologicamente relevante

Laboratórios diferentes utilizam análises estatísticas distintas (ANOVA, sem ou com bioequivalência). **Probabilidade de resultados diferentes quanto a ocorrência de efeito tóxico.**

USO DE 50% DO EFEITO TÓXICO MEDIDO, INDEPENDENTE DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS

II - Disposição em águas sob jurisdição nacional (AJN):

Classificação do material segundo os resultados da caracterização ecotoxicológica, conforme 3ª etapa do anexo desta Resolução, na qual:

Para ensaios agudos com anfípodos:

- Efeito tóxico não significativo : $\leq 50\%$ do efeito tóxico medido.
- Efeito tóxico significativo: $>50\%$ do efeito tóxico medido.

Para ensaios crônicos:

- Efeito tóxico não significativo: a ser proposto.
- Efeito tóxico significativo: a ser proposto

PROPOSTA

**PARA CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAL A SER DRAGADO
(QUE POSSUI, FREQUENTEMENTE, ELEVADA CONCENTRAÇÃO
DE N-AMONÍACAL[interferente analítico nos ensaios ecotoxicológicos])**

PARA DISCUSSÃO:

1. Estabelecer critério para ensaios crônicos
1. Caracterização ecotoxicológica pelo método de ensaio com anfípodos (*Hyalella azteca*, *Leptocheirus plumulosus* ou *Tiburonella viscana*)

Para amostras de regiões salinas e salobras:

ENSAIO ALTERNATIVO: Método com ouriço-do-mar na interface sedimento e água, para amostras com N-amoniacal $\leq 0,05$ mg/L na água intersticial.

EVIDÊNCIA DE SUPORTE AO NÍVEL DE EFEITO TÓXICO

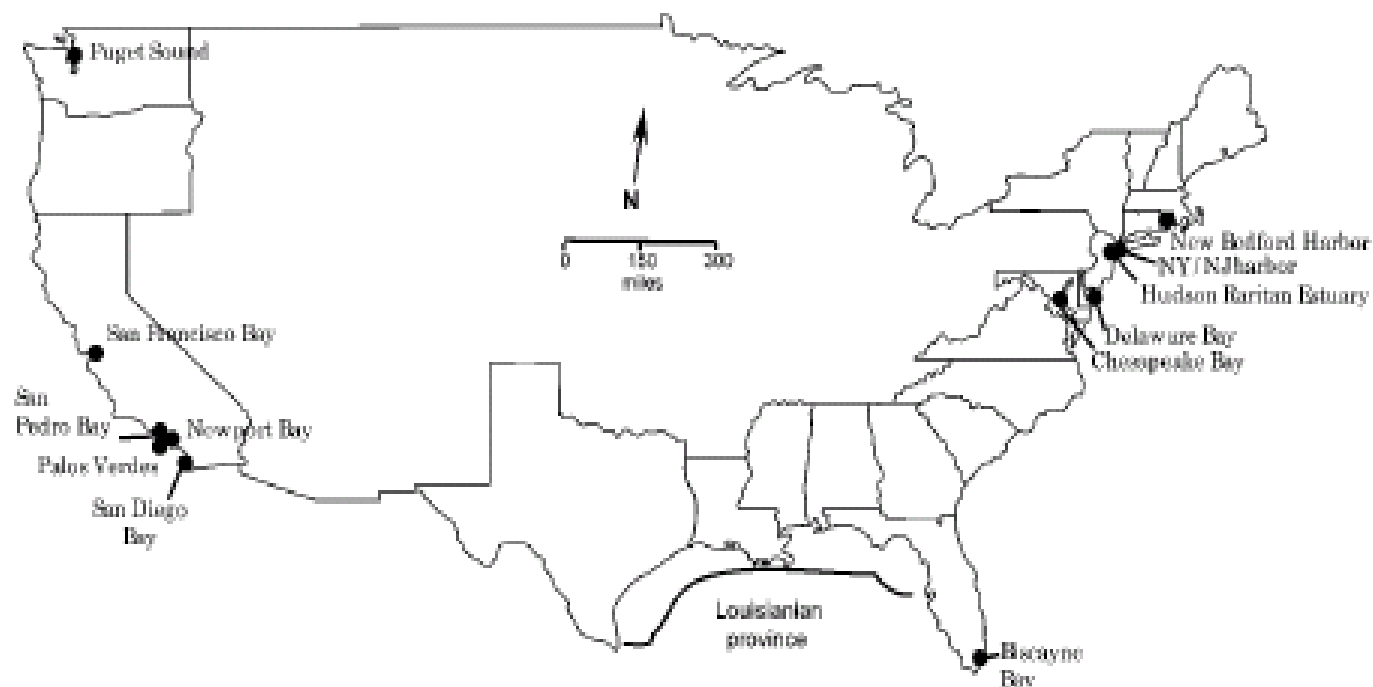


Fig. 1. Locations of survey areas in U.S. estuaries and marine bays within which data were collected for analysis.

EVIDÊNCIA DE SUPORTE AO NÍVEL DE EFEITO TÓXICO

Table 17. Average abundance of amphipods (\pm standard deviation) and percentages of samples without amphipods within 11 ranges in amphipod survival. Data^a were compiled from many studies ($n = 1,145$) and southern California ($n = 209$)

Amphipod survival	Abundance of amphipods		Percentages of samples without amphipods	
	All other	Southern California	All other	Southern California
$\geq 100\%$ ($n = 262$ and 5)	332 \pm 2,583	3 \pm 3	42.7	40.0
90.0–99.9% ($n = 526$ and 60)	148 \pm 1,020	8 \pm 12	37.5	21.7
80.0–89.9% ($n = 154$ and 76)	103 \pm 360	6 \pm 9	38.6	18.2
70.0–79.9% ($n = 68$ and 33)	411 \pm 1,538	4 \pm 7	57.5	24.2
60.0–69.9% ($n = 27$ and 13)	888 \pm 2,884	12 \pm 32	44.4	30.8
50.0–59.9% ($n = 21$ and 0)	766 \pm 2,531	17 \pm 33	35.5	33.3
40.0–49.9% ($n = 18$ and 3)	8 \pm 16	12 \pm 9	66.7	0.0
30.0–39.9% ($n = 10$ and 4)	9 \pm 21	6 \pm 9	60.0	25.0
20.0–29.9% ($n = 9$ and 2)	33 \pm 84	9 \pm 12	44.4	0.0
10.0–19.9% ($n = 16$ and 1)	5 \pm 8	0	56.3	100.0
<10% ($n = 24$ and 3)	4 \pm 10	0.3 \pm 0.6	70.8	67.0

^a Data from San Francisco Bay, Chesapeake Bay, Biscayne Bay, Hudson-Raritan estuary, Delaware Bay, New York/New Jersey REMAP, New Bedford Harbor, and Louisianian Province of EMAP.

Criteria for the classification of sediment toxicity on the basis of effects measured in bioassays (Van Elswijk et al., 2001).

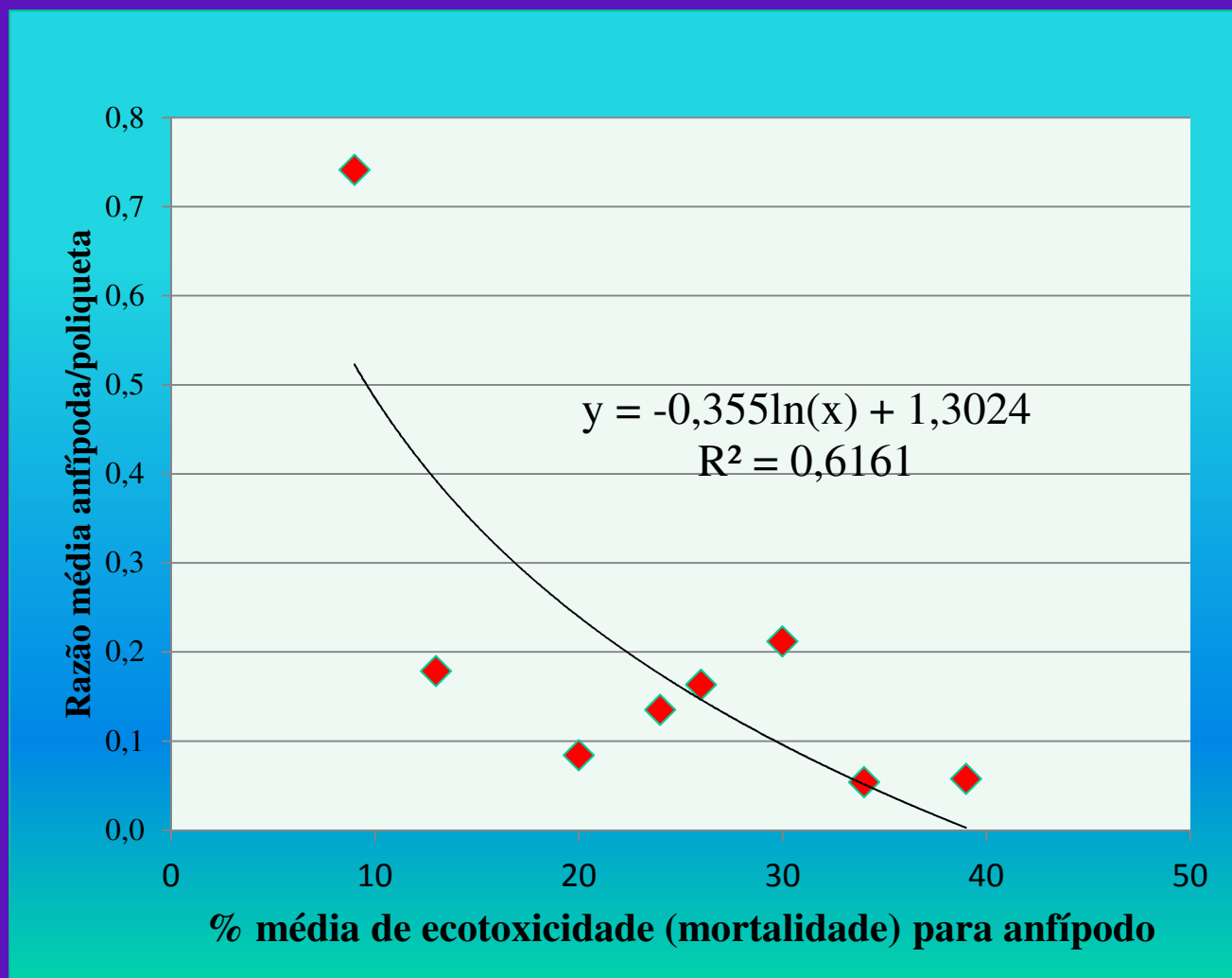
Bioassay (type)	Parameters and criteria			
<i>Chironomus riparius</i> (sediment)	Parameters			
	Mortality eggs, prior to start sediment bioassay (incubation of eggs in elutriate)	Mortality larvae	Inhibition of development	Weight reduction (relative to control)
Criterion 1	mortality > 25%	mortality > 10% mortality < 50%	inhibition > 10% inhibition < 50%	effect > 10% effect < 25%
Criterion 2	mortality ≥ 50%	mortality ≥ 50%	inhibition ≥ 50%	effect ≥ 25%
<i>Daphnia magna</i> (sediment pore water)	Parameters			
	NOEC-mortality (in % dilution of pore water)	Mortality in undiluted pore water	NOEC- reproduction	Inhibition of reproduction in undiluted pore water
Criterion 1	NOEC < 100% NOEC > 10%	-----	NOEC < 100% NOEC > 10%	Inhibition > 10% Inhibition < 50%
Criterion 2	NOEC ≤ 10%	mortality ≥ 50% within 48h	NOEC ≤ 10%	Inhibition ≥ 50%
<i>Vibrio fischeri</i> (sediment pore water)	Parameters: TU= 1/EC20 (determined after 5, 15 and 30 min)			
Criterion 1	1/EC20 > 2			
Criterion 2	1/EC20 ≥ 10			

¹⁾ Exceedance of criterion 1 results in class 2 toxicity (moderate effects); exceedance of criterion 2 results in class 3 toxicity (strong effects). Otherwise, class 1 (no toxicity).

²⁾ For each test, the most sensitive parameter is used for classification; effects on which score depends must be significant at $p < 0.05$ using an appropriate statistical test.

EVIDÊNCIA DE SUPORTE AO NÍVEL DE EFEITO TÓXICO

Relação dos resultados dos ensaios ecotoxicológicos com a comunidade bentônica *in situ*, na área de disposição oceânica de Santos/SP. Dados do monitoramento da CODESP (maio/2006 até dezembro/2007)



Avaliação do ambiente quanto a presença de poluentes

