PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA AMBIENTAL
MESTRADO – GESTÃO E TECNOLOGIA AMBIENTAL

Éverton Unfer Pezerico

EFLUENTE PROVENIENTE DA IODOTERAPIA (^{131}I), DE UM HOSPITAL REFERÊNCIA EM ONCOLOGIA NO SUL DO BRASIL: UMA NOVA ABORDAGEM

Santa Cruz do Sul

2019

UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL

EFLUENTE PROVENIENTE DA IODOTERAPIA (^{131}I), DE UM HOSPITAL REFERÊNCIA EM ONCOLOGIA NO SUL DO BRASIL: UMA NOVA ABORDAGEM

Éverton Unfer Pezerico

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental – PPGTA Mestrado e Doutorado, Linha de Pesquisa - Tecnologias de Tratamento de águas de abastecimento e residuárias. Universidade de Santa Cruz do Sul.
Orientador: Prof. Dr.-Eng. Diosnel A. Rodriguez Lopez
Co-orientadora: Profª. Drª Adriane Lawisch Rodriguez

Santa Cruz do Sul

2019

À minha esposa e filhos, sempre presentes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família pelo apoio e paciência, em especial a minha esposa que supriu minha ausência quando necessário; aos meus filhos, quem compensarei pela falta nas brincadeiras; aos meus pais pelos fundamentos para que o caminho não fosse tão tortuoso; aos professores do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental pela presteza e solicitude; em especial ao meu ao meu professor orientador Dr. Diosnel A. Rodriguez Lopez pela paciência, persistência e conhecimentos transmitidos; a minha Co-orientadora Drª Adriane Lawisch pelas contribuições e apoio; aos colegas e amigos pelo apoio constante.

Agradeço ao Prof. Dr. Alexandre Rieger, pelas elucidações e pelas boas ideias.

Agradeço também a colega Daiane pelos esclarecimentos e ajuda com o Ensaio Cometa, assim como a amiga Priscila pela ajuda com a contagem das lâminas e ajuda com o Ensaio Cometa.

Também agradeço à CAPES - Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - pela concessão da bolsa de estudos.

Criamos a época da velocidade, mas nos sentimos enclausurados dentro dela. Nossos conhecimentos fizeram-nos céticos; nossa inteligência, empedernidos e cruéis. Pensamos em demasia e sentimos bem pouco.

Charles Chaplin

RESUMO

O iodo radioativo (^{131}I) é o radio-fármaco mais difundido na área da saúde, em especial no tratamento do carcinoma da tireoide, principalmente nos casos em que se administra elevadas doses do radioisótopo, entre 100 e 200 mCi, quando há a necessidade de internação do paciente na iodoterapia. Em média 80% da dose não absorvida pelo órgão tratado é eliminada nas primeiras 48h na urina dos pacientes submetidos ao tratamento. O lançamento sem controle deste efluente específico, libera um contaminante na rede coletora de esgoto com potencial para modificar as características do meio ambiente por onde passar. Neste trabalho, foi pesquisado a presença de radioatividade e o decaimento da dose do radioisótopo ^{131}I nas amostras de efluente coletadas, assim como analisado o efeito da radioatividade sobre a população de microrganismos presentes no efluente hospitalar. A genotoxicidade deste efluente foi analisada por meio do ensaio Cometa, utilizando *Daphnia magna* como organismo teste, de modo a verificar o dano celular causado pelo efeito da radioatividade do ^{131}I contido no efluente. Os resultados demonstraram que o decaimento da radioatividade segue uma cinética de primeira ordem, e o iodo apresenta uma meia vida de oito dias. O efluente a ser lançado no meio ambiente, apresenta ainda níveis elevados de radioatividade, maiores do que o recomendado pelas normas. Os ensaios de toxicidade com *Daphnia magna* demonstraram que o efluente não possui toxidade aguda com o ^{131}I. Porém, os ensaios de genotoxicidade com o Ensaio Cometa, com o mesmo organismo, apresentaram índice de danos elevados. O sequenciamento genético dos microrganismos presentes no efluente contaminado com ^{131}I, demonstrou que, sobre influência da radioatividade aconteceram alterações qualitativas e quantitativas das espécies de fungos e bactérias presentes no efluente. Muitos dos gêneros de fungos e bactérias encontrados no efluente hospitalar tem como característica resistência a tratamentos convencionais com antibióticos, que por sua vez influenciados pelo efeito mutagênico da radioatividade, liberando o ^{131}I sem controle, a possibilidade de se desenvolver organismos cada vez mais resistentes neste ambiente é amplificada. O desaparecimento de certos gêneros de fungos e bactérias, certamente foi causado pela presença do ^{131}I, com efeito da radioatividade.

Palavras chave: iodoterapia, efluente hospitalar, radioatividade, genotoxicidade, meio ambiente.

ABSTRACT

Radioactive iodine (^{131}I) is the most widespread radio-drug in the health area, especially in the treatment of thyroid carcinoma, mainly in cases where high doses of the radioisotope are administered, between 100 and 200 mCi, when hospitalization is needed for iodine therapy. On average, 80% of the dose which is not absorbed by the treated organ is eliminated in the first 48 hours through the urination of these patients who are undergoing this treatment. The uncontrolled release of this specific effluent contains a contaminant that is extricated in the sewage network with the potential to modify the characteristics of the environment in which it flows through. In this paper, the presence of radioactivity and the decay of the radioisotope ^{131}I in the collected effluent samples were investigated, as well as the effect of radioactivity on the population of microorganisms present in the hospital effluent. The genotoxicity of this effluent was analyzed by the Cometa test means, using Daphnia magna as test organism, in order to verify the cellular damage caused by the effect of ^{131}I radioactivity contained in the effluent. The results showed that the decay of the radioactivity follows a first order kinetics, and iodine has a half-life of eight days. The effluent to be released into the environment also has high levels of radioactive, higher than the recommended by the standards. Daphnia Magna toxicity tests have demonstrated that the effluent has no acute toxicity with ^{131}I. The genetic sequencing of the microorganisms present in the effluent contaminated with ^{131}I, showed that, under the influence of radioactivity, qualitative and quantitative alterations in species of fungi and bacteria present in the effluent have occurred. Many of the fungi and bacteria genera found in the hospital effluent has the characteristic resistance to conventional treatments with antibiotics, which in turn are influenced by the mutagenic effect of radioactivity, releasing ^{131}I without control, the possibility of developing increasingly resistant organisms in this environment is amplified. The disappearance of certain genera of fungi and bacteria certainly was caused by the presence of ^{131}I, with effect of radioactivity.

Key words: iodine therapy; hospital effluent; radioactivity; genotoxicity; environment.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Binucleação de linfócito com formação de micronúcleo..... 20

Figura 2 - Produção dos hormônios tireoidianos 22

Figura 3 - Procedimento para controle de qualidade do medidor de atividade, curiômetro. 28

Figura 4 - Medidor de Atividade, Ativímetro ou Curiômetro..... 29

Figura 5 - Representação do organismo teste*, Daphnia magna* 35

Figura 6 - Delineamento da pesquisa, identificando a origem do efluente, o setor gerador do efluente, tipo de amostra, análises realizadas, identificando as amostras em: Bruto, amostra 2, amostra 3 e amostra 4, e seus respectivos períodos de análise. 40

Figura 7 - Classe de dano do nucleóide em ordem crescente de 0 a 4, onde 0 é ausente de dano, 1 – nível baixo dano, 2 – nível médio de dano, 3 – nível alto de dano e 4 – nível muito elevado de dano..... 44

Figura 8 – Radiação absorvida acumulada pelos dosímetros colocados no tanque de amostragem contendo efluente com ^{131}I, nos períodos: inicial, 8, 16 e 24 dias..... 48

Figura 9 – O decaimento da radiação absorvida pelos dosímetros, ao longo do tempo, acoplados nos tanques de amostragem contendo efluente com ^{131}I, nos períodos: 8, 16 e 24 dias. 49

Figura 10 – Gráfico da análise de DBO_5, DQO, Fosforo Total, Nitrogênio Amoniacal, Nitrogênio Total Kjeldahl do efluente da iodoterapia. 51

Figura 11 - Gráfico do resultado das análises de coliformes em NMP/100mL (número mais provável) das amostras 2, 3, 4 e efluente bruto, do efluente da iodoterapia..... 52

Figura 12 - Evidência de dano no nucleoide das amostras submetidas ao teste de genotoxicidade com organismo teste *Daphnia magna,* identificados em sua maioria em classe 2, classe 3 e classe 4. 55

Figura 13 - Variação do Frequência de Dano em nucleoides de *Daphnia magna* expostos a amostras do efluente da iodoterapia armazenado durante o período das análises, de: amostra 2 (8dias), amostra 3 (16dias) e amostra 4 (24dias) 57

Figura 14 - Variação do Índice de Dano em nucleóides de *Daphnia magna* expostos a amostras do efluente da iodoterapia armazenado durante o período das análises, de: amostra 2 (8dias), amostra 3 (16dias) e amostra 4 (24dias) 58

Figura 15 - Representação gráfica do número total de leituras dos gêneros de bactérias, em proporção, contidas nas amostras da análise de sequenciamento genético, do efluente da iodoterapia para: controle bruto (coluna1), AM 2 (coluna 2), AM 3 (coluna 3) e AM 4 (coluna 4)..... 61

Figura 16 - Representação gráfica do número total de leituras dos gêneros de fungos encontrados nas análises de sequenciamento genético do controle bruto, Amostra 2, Amostra 3 e Amostra 4. 63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais radioisótopos e suas incorporações preferenciais com órgãos ou tecidos. 19

Tabela 2 - Limites de exposição de dose efetiva e dose equivalente para pessoas do público em geral e para profissionais da área, trabalhadores do hospital. .. 27

Tabela 3 - Média e desvio padrão dos registros de dose para a dose absorvida nos períodos: inicial (0), 8 dias, 16 dias e 24 dias. 47

Tabela 4 - Frequência de Dano (FD) e Índice de Dano (ID) em nucleoides de *Daphnia magna* expostos a amostras do efluente de iodoterapia armazenado durante o período das análises, de: inicial (0dias), amostra 2 (8dias), amostra 3 (16dias) e amostra 4 (24dias)..... 55

Tabela 5 - proporção em (%) de *Proteobactérias* dos gêneros *Pseudomonas e Acinetobacter*, nas amostras da análise de sequenciamento genético, no efluente bruto (coluna 1), na amostra 2 (coluna 2), na amostra 3 (coluna 3) e na amostra 4 (coluna 4). 60

LISTA DE ABREVIATURAS

CDT	Carcinoma Diferenciado da Tireoide
CNEN	Comissão Nacional de Energia Nuclear
Bi	Becquerel
MBq	Megabecquerel
mSv	Milisievert
SSB	Quebra de fita simples (single-strand break)
DSB	Quebra de fita dupla (double-strand break)
MN	Micro Núcleo (Micronuclei)
DNA	Ácido Desoxirribonucleico (Deoxyribonucleic Acid)
ICRP	Comissão Internacional de Proteção Radiológica (International Commission on Radiological Protection)
RNA	Ácido ribonucleico (Ribonucleic Acid)
QT	Quarto Terapêutico
SMN	Serviços de Medicina Nuclear
LET	Transferência Linear de Energia (Linear Energy Transfer)
IAEA	Agência internacional de energia atômica (International Atomic Energy Agency)
Euratom	*Comunidade Europeia de Energia Atómica (European Atomic Energy Community)*
BSS	*Norma Básica de Segurança (Basic Safety Standard)*
ETE	*Estação deTtratamento de Efluente*
EC	Ensaio Cometa
SCGE	Eletroforese em Gel de Célula Única (Single Cell Gel Electrophoresis)
IOE	Indivíduo Ocupacionalmente Exposto
TLD	Dosímetro Termoluminescente (Thermoluminescent Dosimeter)
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
NBR	Norma Brasileira
DI	Índice de Dano (Damage Index)
DF	Frequência de Dano (Damage Frequency)
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
NGS	Sequenciamento de Próxima Geração (Next Generation Sequencing)
MDR	Multidrug Resistance
ESBL	Beta Lactamase de Espectro Estendido (Extended-Spectrum Beta-Lactamase)
CIMs	Métodos independente de cultura (Culture independent methods)
DGGE	Eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)
SSCP	Polimorfismo de conformação de filamento único (Single Strand Conformation Polymorphism)
PCR	Reação em cadeia da polimerase (Polymerase Chain Reaction)

LISTA DE SÍMBOLOS

mCi	Milicurie
I	Iodeto
(ɣ)	Gama
^{131}I	Radioisótopo do Iodo 131
Tc – 99m	Radioisótopo de Tecnécio – 99m (Technetium)
Cr-51	Radioisótopo de Cromo - 51
Ga-67	Radioisótopo de Gálio - 67

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 15
2 OBJETIVOS 16
2.1 Objetivo Geral 16
2.2 Objetivos Específicos 16
3 REVISÃO DA LITERATURA 17
3.1 Radioatividade 17
3.1.1 Radiação, Características e Utilização 17
3.1.2 Radiação Gama (ɣ) 18
3.1.3 Efeito Celular da Radiação Gama (ɣ) 19
3.1.4 Produção de hormônios na Glândula Tireóide 21
3.1.5 Radiação na Área da Saúde 23
3.2 Iodoterapia 23
3.2.1 Exposição por Radiação Difusa 25
3.2.2 Exposição da População em Geral à Radiação 25
3.3 Tempo de Meia Vida do Radioisótopo 26
3.3.1 Meia Vida Física 26
3.3.2 Meia Vida Biológica 26
3.4 Limites de Exposição Humana à Radiação 27
3.5 Requisitos de Segurança e Proteção Radiológica 28
3.6 Rejeitos Radioativos e Impactos Ambientais 30
3.6.1 Gerenciamento de Rejeitos Radioativos 32
3.6.2 Atendimento à Legislação 32
3.6.3 Retenção do Efluente 33
3.7 Bioindicadores 34
3.7.1 Testes Ecotoxicológico e Genotoxicológico 35
3.7.2 Ensaio Cometa 36
3.7.3 Microbiologia do Efluente Hospitalar 36
3.8 Análise Microbiológica Independente de Cultivo 37
3.9 Tecnologia de Sequenciamento Genético de Segunda Geração 38
4 METODOLOGIA 39
4.1 Ponto de Amostragem 39
4.1.1 Amostragem 39
4.2 Dosimetria e Decaimento Radioativo 41
4.3 Análise Físico-química e Microbiológica 41
4.4 Teste de Sensibilidade com *Daphnia magna* 42

4.4.1 Teste de Ecotoxicidade com *Daphnia magna* 42
4.4.2 Ensaio Cometa Utilizando *Daphnia magna* 43
4.5 Sequenciamento Genético das Amostras..... 45
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....46
5.1 Dosimetria para Análise do Efluente 46
5.1.2 Dosimetria para Análise do Tempo de Decaimento Radioativo 47
5.2 Características Físico-químicas e Microbiológicas do Efluente..... 50
5.3 Teste de Ecotoxicidade com *Daphnia magna*..... 53
5.4 Teste de Genotoxicidade com *Daphnia.magna*..... 54
5.5 Sequenciamento Genético das Amostras..... 58
6 CONCLUSÕES.....65
REFERÊNCIAS 67

1 INTRODUÇÃO

A crescente utilização do ^{131}I, com o aumento das doenças suscetíveis a este tratamento, pode criar um precedente ainda desconhecido, uma vez que 80% da substância ativa deste tratamento passa diretamente pela urina do paciente e pode ser liberada sem tratamento prévio na rede coletora de esgoto, (KRAWCZYK; et. al, 2013).

Há uma dificuldade prática de se calcular o risco de exposição das pessoas que transitam nas proximidades do local de descarga do efluente, produzido pelo descarte do ^{131}I contido na urina de pacientes e incorporado ao efluente do hospital (SAPIENZA, et. al, 2009).

A ausência de limites de exposição torna a liberação do efluente da iodoterapia, contaminado com radioisótopo do ^{131}I, um lançamento de alto risco para os organismos não humanos, por conta dos efeitos genéticos, levando uma parcela para a morte e outra à mutação quando a reconstituição do DNA é malsucedida. Isto resulta em uma atitude cada vez mais conservadora para a liberação da radiação ionizante, gerando cautela. Os limites de exposição a população em geral, surgiram na década de 1950, quando as normas de proteção radiológicas foram modificadas com a finalidade de preservação da saúde da população (EISENBUD, et. al, 1997).

Estudo realizado em estações de tratamento de efluentes municipais, de cidades espanholas, mostrou que as etapas de tratamento existentes, apesar de apresentarem traços significativos de radioatividade, podem ser eficientes no que se refere à remoção destes elementos destas águas residuais (MONTAÑA, et. al, 2011).

A falta de estudos relacionados ao efeito da radioatividade contida no efluente sobre os seres vivos não humanos é mais um aspecto de relevância para a realização deste trabalho. Este tema é um campo fértil para a pesquisa quando se vislumbra as possibilidades de mudanças de condições e comportamento, quando falamos em sustentabilidade, segurança e preservação da saúde pública e do meio ambiente, sendo assim justifica-se este estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Caracterizar e avaliar o efeito biológico sobre os micorganismos, físico químico do efluente proveniente da iodoterapia ^{131}I de um hospital referência em oncologia no sul do Brasil.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o decaimento da radioatividade do efluente;
- Analisar as características físicas, químicas e microbiológicas do efluente da iodoterapia em função do tempo de decaimento da dose absorvida;
- Avaliar a Ecotoxicidade e a Genotoxicidade do efluente da iodoterapia;
- Avaliar o impacto do efluente da iodoterapia nas comunidades bacterianas e de fungos utilizando metagenômica;

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Radioatividade

A radioatividade natural foi descoberta por Henry Becquerel, professor francês, em 1896. Segundo este pesquisador, certos minerais podiam emitir uma radiação natural, capazes de deixar impressões em uma chapa fotográfica, fato este que mudou os conceitos da época sobre radioatividade. Após a descoberta de Becquerel, entre os que se interessaram pelo tema, o cientista *sir* Ernest Rutherford demonstrou em uma experiência que existiam três tipos de radioatividade natural: Alfa, Beta e Gama (BITELLI, 1982).

Com a limitação, principalmente na quantidade de materiais naturalmente radioativos e por consequência, a restrição das atividades que dependiam destes materiais, somente quase 40 anos mais tarde, em 1934, seria possível a produção de elementos radioativos artificiais. Com o desenvolvimento de reatores nucleares em 1943, o casal Frederic e Irene Joliot Curie proporcionou o início da descoberta de uma série de radioisótopos que seriam produzidos em uma escala maior, que por sua vez eram fornecidos em grande quantidade para o emprego nas mais diferentes áreas, entre elas, a medicina nuclear como elemento traçador. Dentre estes elementos traçadores, podemos citar como um dos mais importantes o iodo 131 (^{131}I) (*GEORGE SHAW DIVISION OF AGRICULTURAL & ENVIRONMENTAL SCIENCES,* 2007).

O ^{131}I é considerado o radioisótopo mais perigoso eliminado em acidentes nucleares, devido ao seu alto rendimento de fissão, temperatura de vaporização relativamente baixa, tempo de permanência em suspensão elevado, penetração na pele e acumulo na glândula tireoide (NYGREN et al., 2017).

3.1.1 Radiação, Características e Utilização

Radiações são produzidas de ajustes finos nas camadas eletrônicas ou no núcleo de um átomo ou ainda pela interação deste com outras radiações ou partículas. As partículas de ondas eletromagnéticas emitidas, durante a

reestruturação ou ajuste do núcleo para atingir a estabilidade, é definida como Radiação Nuclear. Estas são altamente energéticas se comparadas as emitidas pelas camadas eletrônicas (TAUHATA et al, 2013).

As radiações eletromagnéticas de interesse são: as radiações X e a Gama. O grande poder de penetração e a capacidade de percorrer grandes espessuras antes de sofrer interação é que as diferencia das radiações Alfa e Beta de mesmo gênero (TAUHATA et al, 2013).

O perigo da radioatividade, seja por exposição dos órgãos externos ou internos, pode resultar em danos, que quando mesmo superficiais, podem ser reversíveis para a exposição externa, como pele e tecidos, enquanto que os danos genéticos causados pela exposição interna, são definitivos, cumulativos e irreversíveis (FISCHER et al, 2009).

Cabe aos responsáveis pela proteção radiológica, analisar os riscos e pôr em prática os métodos aplicáveis à prevenção e controle visando evitar um possível dano por exposição demasiada, dose excessiva ou outra forma de contaminação por radiação ionizante, seja ela Beta, Alfa ou Gama (BITELLI, 1982).

3.1.2 Radiação Gama (ɣ)

O uso de radiofármacos, na obtenção de diagnósticos por imagens médicas e no tratamento ou terapia de carcinomas na medicina nuclear, em locais específicos do corpo humano está apresentada na Tabela 1. Para cada uma destas aplicações é utilizado um radiofármaco apropriado com radiação gama (ɣ), emitida por um radioisótopo nele associado. Por ter natureza ondulatória (eletromagnética) a radiação (ɣ), possui um alto poder de penetração, tendo sua origem no próprio núcleo do átomo com comprimento de onda pequeno e alta frequência, o que facilita o uso de radioisótopos (TAUHATA et al, 2013).

Tabela 1 - Principais radioisótopos e suas incorporações preferenciais com órgãos ou tecidos.

ÓRGÃO	CÓDIGO	NOME
CÉREBRO	Tc-99m	Ácido Dietileno triamino Pentacético
TIREÓIDE	I 131	Iodeto
SISTEMA ÓSSEO	Tc-99m	Metileno Difosfonato
CORAÇÃO	Tc-99m	Pertecnetato
ESTÔMAGO	Tc-99m	Pertecnetato
RINS	Tc-99m I 131	Ácido Dietileno triamino Pentacético Citrato Estanhoso Ácido Dimercaptosuccínico Hippuran
LINFOGRAFIA	Tc-99m	Dextran 500
INTESTINO	Cr-51	SAH
TECIDOS MOLES	Ga-67	Citrato
FÍGADO	Tc-99m Tc-99m Tc-99m I 131 I 131	Estanho Coloidal Enxofre Coloidal Fitato Risa Bengala Bromosulfaleína

Fonte: Adaptado de Tauhata et al, 2006

O principal emissor de radiação gama (ɣ) é o ^{131}I. No composto de iodeto, esta radiação tem grande capacidade de penetração nos tecidos e órgãos permitindo assim uma melhor visualização do que ocorre no interior dos mesmos em exames de contraste de alta definição. Pelo poder de penetração deste composto, a proteção contra este tipo de radiação se torna mais difícil (NYGREN et al., 2017).

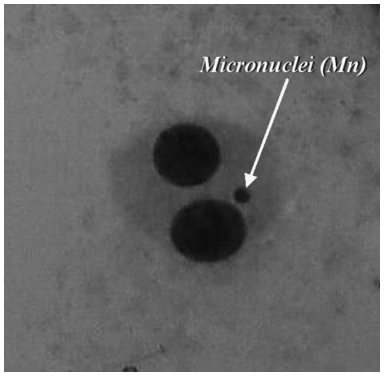
3.1.3 Efeito Celular da Radiação Gama (ɣ)

A versatilidade e eficiência do uso do ^{131}I no tratamento do carcinoma de tireóide tem proporcionado a ampliação do seu uso ao longo dos anos, como tratamento terapêutico apropriado para o hipertireoidismo. No entanto, em descobertas recentes este radioisótopo é considerado causador de dano oxidativo nas células de tecidos não alvo do tratamento (JAFARPOUR et al., 2018).

Os efeitos colaterais podem ser diversos, desde a indisposição gastrointestinal, neoplasias e até derrogação da medula óssea. Outras consequências podem ser o rompimento de fita simples ou de fita dupla (DSBs) do DNA, originando cáncers secundários em função de reparação celular mal sucedida. Após o tratamento com ^{131}I os riscos de fita simples e de fita dupla no DNA aumentam, mesmo após o fim da sua meia vida biológica (JAFARPOUR et al., 2018).

Apesar de não haver um aumento de fatalidades em pacientes sob ou pós tratamento para hipotireoidismo, desde que seguidos os protocolos recomendados, há relatos e estudos que indicam um aumento significativo de canceres secundários devido aos efeitos gerados pelo ^{131}I chamado de frequência de micronúcleos (MN). Na Figura 1 está apresentado o surgimento de uma alteração estrutural cromossômica em células em divisão. A frequência desta alteração no sangue periférico pode ser considerada um “dosímetro biológico” para pacientes em tratamento com radioterapia (GUTIERREZ *et al.*, 1998; ARAMI et al., 2013).

Figura 1 - Binucleação de linfócito com formação de micronúcleo



Fonte: (ARAMI et al., 2013)

Em pacientes graves tratados com radioisótopos, outro fator relevante é que tal alteração funcional celular leva também a uma redução significativa das defesas antioxidantes das mesmas, demostrado pela depleção exacerbada de vitamina E nestes pacientes (ARAMI et al., 2013).

A relação entre a ablação pós tireoidectomia em pacientes expostos a altas doses de ^{131}I e o aumento da incidência de segundos tumores primários

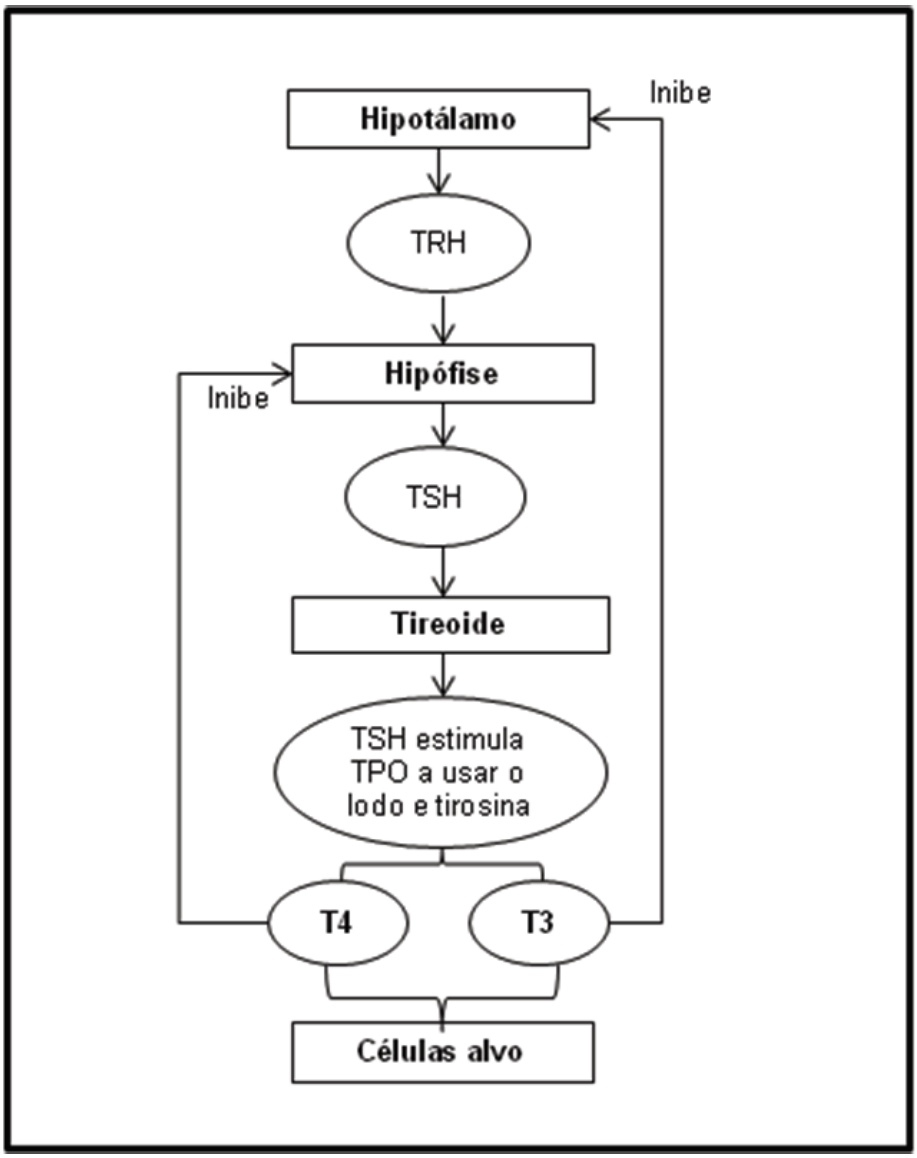
nestes pacientes não tem relação direta, principalmente para o câncer de mama, o qual em evidências citadas no estudo relacionam com mais ênfase as características genéticas dos pacientes a ao metabolismo de uma proteína específica como causadora de dano ao DNA de várias células sussetiveis (VERKOOIJEN et al., 2006).

3.1.4 Produção de hormônios na Glândula Tireóide

A glândula tireóide é o principal alvo do radioisótopo do Iodo. Por ser o tecido com maior afinidade recebe a maior parte da dose administrada distribuída na corrente sanguínea. Cerca de 90% dos hormônios liberados pela tireóide são de (tiroxina ou T4) e 10% somente são de (tri-iodotironina ou T3). Na combinação com a tirosina, o iodo é convertido a iodo orgânico na tireóide, havendo assim a formação de monoiodotiresina e diiodotiresina e por conjunção formam diiodotironina, (tri-iodotironina ou T3) e tetraiodotironina (tiroxina ou T4) apresentado na Figura 2 (MEZZOMO e NADAL, 2016)

.

Figura 2 - Produção dos hormônios tireoidianos



TRH: hormônio liberador de tireotropina; TSH: hormônio estimulante da tireoide; TPO: peroxidase da tireoide; T4: tiroxina; T3: tri-iodotironina.

Fonte: (MEZZOMO e NADAL, 2016)

A partir daí a tireóide libera para o sangue a T3 e a T4 ligada a uma proteína denominada tireoglobulina. A tiroxina é metabolizada nas células produzindo como metabólito o iodeto que será eliminado em 80% nas primeiras 48 horas pela urina do paciente e os outros 20%, não aproveitados, eliminados pelas outras secreções do paciente como fezes, suor ou até mesmo pelo cabelo (MEZZOMO e NADAL, 2016).

3.1.5 Radiação na Área da Saúde

Procedimentos terapêuticos nucleares representavam menos de três por cento de todos os procedimentos de medicina nuclear na década de 1970. Entretanto, já existia uma significativa mudança no uso de radioisótopo, com um aumento no uso em procedimentos médicos em medicina nuclear da ordem de 89%, com uma taxa de crescimento anual de 20%. O reflexo deste aumento está diretamente ligado ao tempo de meia vida dos elementos disponíveis, bem como à descoberta de novas substâncias com tais propriedades (DIELMAN, 1978).

O ^{131}I é considerado o radioisótopo com maior potencial de diversificação de uso, no tratamento do câncer, sendo o radioisótopo mais usado em quantidade de dose administrada, para o tratamento de câncer de tireoide (CAROLAN, HUGHES, HOFFMANN, 2011).

A glândula tireóide é o órgão de maior relevância para o uso do ^{131}I tendo em vista a sua eficiência na remoção das células tumorais residuais pós tireoidectomia, sua ação é direta na absorção do iodo pelas células foliculares e retido pelo metabolismo o que causa danos irreparáveis a alvos como DNA e RNA (*Ribonucleic Acid*) nas células cancerosas levando-as a morte (JAFARPOUR et al., 2018).

3.2 Iodoterapia

É um processo terapêutico que utiliza isótopos de ^{131}I em doses elevadas e controladas com a finalidade de buscar o efeito deletivo sobre determinados tecidos cancerosos. Os níveis de radioatividade empregados neste processo superam em muito os níveis empregados em diagnósticos, podendo variar de alguns mCi, a até centenas de mCi ou seja cerca de 1000 (mil) vezes superior a radiação em diagnósticos (BITELLI, 1982).

O ^{131}I é o radiofármaco mais amplamente utilizado em medicina nuclear para fins terapêuticos, principalmente para o tratamento de hipertireoidismo e câncer de tireóide. Nos países desenvolvidos, o número médio de tratamentos de hipertireoidismo é de 150 por milhão de pessoas e 38 tratamentos de câncer de tireóide por milhão de pessoas; no entanto, este último representa um maior

fonte potencial de poluição da água, tendo em vista a elevada dose aplicada, sendo que desta 80%, é eliminada pela urina do paciente durante as primeiras 48 horas após a aplicação (ROSE et al, 2012).

O protocolo padrão para tratar câncer de tireóide é a remoção de toda a glândula tireóide seguido por administração de ^{131}I para destruir qualquer tecido remanescente ou células. A pacientes com câncer de tireoide normalmente são administradas doses entre 4000 e 8000 MBq (megabecquerel) em comparação com 100 e 1000 MBq de ^{131}I para tratamentos com hipertiroidismo (ROSE et al, 2012).

A liberação do paciente somente ocorrerá se constatado um valor de dose inferior a 0,03 mSv/h medido a uma distância de referência de dois metros do mesmo. Além disso as condições clínicas, sociais e domiciliares também servirão de parâmetros para a liberação. Caso contrário o mesmo deve permanecer internado até atingir os parâmetros mínimos necessários (CNEN, 2014; MCGOWAN et al., 2013).

O cálculo para se chegar a esta dose terapêutica varia com a influência de diferentes fatores, um deles e talvez o mais importante é a característica específica de cada célula tumoral e o fator de oxigenação desta célula, fator este que pode ser prejudicado pela má vascularização do paciente. Com a falta de oxigênio, a sensibilidade à radiação desta célula diminui e por consequência a dose a ser administrada tende a aumentar exponencialmente, daí o problema é adequar a dose ideal para que se consiga esterilizar as células cancerosas sem criar lesões graves nos tecidos sãos circunvizinhos (TUBIANA, BERTIM, 1989).

No caso da tireóide, figado e rins podem sofrer empobrecimento celular por uma exposição à uma dose elevada. Sua recuperação celular é lenta e gradual com longo intervalo entre o parar de se dividir e efetivamente a morte das células irradiadas. Desta forma os resultados podem vir a ser percebidos apenas uma década depois do tratamento como no caso do hípertireoidismo (TUBIANA, BERTIM, 1989).

Um dos fatores determinantes para a escolha do ^{131}I na terapia do carcinoma da tireoide é o seu tempo de meia vida, que é de 8,02 dias (SHAW, 2007).

3.2.1 Exposição por Radiação Difusa

Após o tratamento, o paciente deve ser considerado uma fonte radioativa, pois nas primeiras 48hs após ter recebido a dose, a maior parte do radioisótopo do ^{131}I não absorvido pelo tecido da tireoide é liberado nas secreções o que aumenta o risco de contaminação (AMANO, 2011; MCGOWAN et al., 2013).

Após sua alta, o paciente recebe instruções de como proceder, com precauções necessárias para não expor outros membros da família a radiação pois o tempo de meia vida do isótopo é de pouco mais de 8 dias. Precauções especiais podem ser necessárias para idosos e crianças, por fazerem parte de grupo de risco (AMANO, 2011).

O principal exemplo de radiação difusa são as doses muito baixas, no entanto, não se pode afirmar, sobretudo por falta de estudos mais aprofundados em radioproteção, que o efeito destas doses provoca o surgimento de câncer por exposição às chamadas *Linear Energy Transfers* (LET), que são as radiações difusas, periféricas, oriundas do tempo de frenagem da penetração da radiação até que se atinja o órgão ou tecido a ser tratado. Este tempo acaba por expor outros órgãos e tecidos sujeitos a desenvolver um câncer que pode ser detectado até 40 anos após a exposição a doses de baixo LET, No caso da leucemia, a frequência é de no máximo entre 5 e 7 anos (TAUHATA et al, 2013).

3.2.2 Exposição da População em Geral à Radiação

A fim de evitar consequências danosas ao público em geral, foram estabelecidos limites de exposição para pessoas não envolvidas ocupacionalmente com atividades relacionadas ao risco de exposição a radioatividade (EICHHOLZ, 2007)

Para tanto estabeleceu-se que as doses correspondentes de acordo com a legislação vigente seriam:

Dose efetiva de 1mSv ao ano;

Em circunstâncias especiais a dose efetiva pode aumentar, desde que a média não ultrapasse 1mSv por ano em 5 anos;

Dose equivalente de lente de olho de 15mSv por ano;

Dose equivalente de pele de 50mSv por ano;

Estes limites de dose podem ser usados como referência para limite de exposição à radiação penetrante (EICHHOLZ, 2007; MCGOWAN et al., 2013)

3.3 Tempo de Meia Vida do Radioisótopo

3.3.1 Meia Vida Física

As características de cada radioisótopo com suas particularidades é o que vai determinar o tempo em que cada um vai levar para reduzir a sua radioatividade pela metade, ou seja, é o tempo necessário para o decaimento da metade da radioatividade do radioisótopo. Este tempo pode variar desde uma fração de segundos, até milhões de anos. Para o ^{131}I este tempo é de 8,04 dias (BITELLI, 1982; SHAW, 2007).

3.3.2 Meia Vida Biológica

Esta por sua vez depende do metabolismo de cada ser vivo, a radioatividade que não foi absorvida ou aproveitada é liberada ou eliminada pelas vias normais, tais como: urina, fezes e suor. No caso do ^{131}I este tempo é de cerca de 138 dias para o tratamento da tireóide (BITELLI, 1982; TOMIDA, 1978; MCGOWAN et al., 2013).

Já a meia vida efetiva, é o resultado da meia vida física e da meia vida biológica do dioisótopo, ou seja, é o tempo de redução da exposição do tecido à metade da radioatividade, quer seja pela meia vida física ou quer seja pela meia vida biobiológica do elemento radioativo (BITELLI, 1982; COX E ARAI, 2014).

3.4 Limites de Exposição Humana à Radiação

A questão dos limites de exposição ao público surgiu na década de 1950, quando as normas foram modificadas com a finalidade de proteção do público em geral. O tema assume importância acrescida na época por conta da preocupação internacional com os testes de armas nucleares na atmosfera. A época, a ausência de limites foi invocada primeiramente por conta dos efeitos genéticos por exposição à radiação proveniente das explosões dos testes, e logo relacionada com câncer, o que resultou em uma atitude cada vez mais conservadora para a emissão de radiação ionizante, gerando cautela e estabelecendo níveis de exposição máxima admissíveis a partir de então, para a população em geral, os quais persistem até os dias de hoje (EISENBUD et. al, 1997).

Promulgado em 1953 pela *International Commission on Radiological Protection* (ICRP) a base da exposição estabelece limites para profissionais ou trabalhadores e para o público em geral (TUBIANA, BERTIM, 1989).

Como condição limitante do processo de otimização da proteção radiológica em uma instalação, deve ser adotado um valor máximo de 0,3 mSv para a restrição da dose efetiva anual média para indivíduos do grupo crítico. Os limites de exposição, segundo determina a norma em vigor estão dispostos na Tabela 2 (CNEN, 2011).

Tabela 2 - Limites de exposição de dose efetiva e dose equivalente para pessoas do público em geral e para profissionais da área, trabalhadores do hospital.

Limite de Doses Anuais			
Grandeza	Órgão	Individuo ocupacionalmente exposto	Indivíduo do Público
Dose Efetiva	Corpo Inteiro	20 mSv	1 mSv
Dose Equivalente	Cristalino	20 mSv	15 mSv
	Pele	500 mSv	50 mSv
	Mãos e Pés	500 mSv	-----

Fonte: Adaptado de CNEN, 2011.

Os serviços de medicina nuclear (SMN) utilizam rotineiramente calibradores de radioisótopo, também chamados de ativímetros, que medem a atividade de soluções contendo radiofármacos, quando administradas doses de ^{131}I em pacientes, tanto para exames de diagnóstico quanto para iodoterapia. Na Figura 3 é evidenciado o teste de controle de qualidade do medidor de atividade,

Curiômetro, estabelecido pela norma CNEN NN 3.05, aplicado pelo serviço de medicina nuclear. Na otimização do exame ou do tratamento terapêutico é imprescindível a determinação da eficiência da atividade do radiofármaco para garantir sua qualidade e para que o paciente não seja exposto a doses desnecessárias ou insuficientes (ALABARTE et al, 2004).

Figura 3 - Procedimento para controle de qualidade do medidor de atividade, curiômetro.

Testes de Controle de Qualidade do Medidor de Atividade			
Teste	**Periodicidade**		**Objetivo**
Repetibilidade	A	D	Verificar a constância na resposta do equipamento para diferentes fontes de referência, devendo as medidas estar dentro de um intervalo de ± 5% (cinco por cento).
Ajuste do zero	A	D	Verificar e ajustar o "zero" do calibrador de dose, se o equipamento dispuser dessa função.
Radiação de fundo	A	D	Verificar a radiação de fundo devendo as medidas estar dentro de um intervalo de ± 20% (vinte por cento).
Alta voltagem	A	D	Verificar a tensão de entrada, quando disponível, no calibrador de dose, devendo as medidas estar dentro de um intervalo de ± 1% (um por cento).
Exatidão	A	S	Verificar a exatidão nas medidas de um calibrador de dose através da utilização das fontes de referência, devendo as medidas estar dentro de um intervalo de ± 10% (dez por cento).
Precisão	A	S	Verificar a precisão nas medidas de um calibrador de dose através da utilização das fontes de referência, devendo as medidas estar dentro de um intervalo de ± 5% (cinco por cento).
Linearidade	A	An	Verificar a linearidade nas medidas de um calibrador de dose através da utilização de uma fonte de meia vida curta, devendo as medidas estar dentro de um intervalo de ± 10% (dez por cento).
Teste de geometria	A	An	Verificar se os fatores de calibração do equipamento para recipientes e volumes diferentes daqueles usados nos testes usuais estão corretos.

Fonte: Norma CNEN NN 3.05

A = Aceitação, ou após serviços de manutenção ou correção, ou quando os valores estiverem fora do intervalo de tolerância com relação ao valor de referência.
D = Diário.
S = Semestral.
An = Anual.

3.5 Requisitos de Segurança e Proteção Radiológica

É obrigatório e necessário para o atendimento a resolução vigente que todo o serviço de medicina nuclear possua equipamentos de proteção individual e equipamentos de proteção coletiva, em especial vestimentas e barreiras com

blindagem para aplicação, transporte e manipulação de fontes e rejeitos radioativos (CNEN, 2014).

É obrigatório possuir fontes radioativas de referência exclusivas de uso do setor, para a calibração dos equipamentos bem como testes de qualidade dos instrumentos garantindo compatibilidade e fidelidade das medições, atestando as informações prestadas (CNEN, 2014).

É necessário o uso de medidor de atividade compatível com a energia e características das atividades desenvolvidas pelo setor, iodoterapia, apresentado na Figura 4, sendo vedado o uso de medidor com detector tipo Geiger-Müller. Os medidores de taxa de dose absorvida, dosímetros, podem ser usados como medidor de atividade desde de que sejam convertidas corretamente as unidades (CNEN, 2014).

Todos os equipamentos e instrumentos devem ser periodicamente testados e calibrados, cada qual ao seu tempo de acordo com as especificações técnicas e de uso dos mesmos (CNEN, 2014).

Figura 4 - Medidor de Atividade, Ativímetro ou Curiômetro

3.6 Rejeitos Radioativos e Impactos Ambientais

Por gerações o meio ambiente vem sendo utilizado para satisfazer as mais diferentes necessidades da humanidade, não somente pela capacidade de fornecer subsídios para a nossa existência mas também como área, para o descarte de resíduos. Sabemos e comprovamos a cada período de nossa existência que a capacidade dos sistemas naturais de absorver os resíduos e contaminantes é limitado. Estes limites são tanto quantitativos como qualitativos. Poucos locais estão devidamente preparados ou adequados à receber resíduos sólidos considerados perigosos, o que restringe o seu descarte a poucos locais (George Shaw Division of Agricultural & Environmental Sciences, 2007).

Segundo a IAEA (*International Atomic Energy Agency*), rejeito radioativo é todo e qualquer material proveniente de atividades humanas que contenham radioisótopo em quantidade superior ao que estabelece a norma, que dá as diretrizes para o licenciamento de instalações radioativas. Dado o potencial de periculosidade, e a relevância do tema, a IAEA determina um conjunto de atividades técnico-administrativas que envolvem: a coleta, segregação, manuseio, tratamento, acondicionamento, transporte, armazenamento, controle e disposição final dos rejeitos gerados, promovendo assim uma gestão integrada com o objetivo de preservar a saúde pública, os trabalhadores e o meio ambiente (AMANO, 2011).

Quanto aos resíduos perigosos em estado líquido, este limite quantitativo e qualitativo, de locais para tratamento e disposição final, são ainda mais restritos do que para os resíduos sólidos, o que acaba por comprometer o tratamento e posterior destinação correta dos mesmos (George Shaw Division of Agricultural & Environmental Sciences, 2007).

A descarga de resíduos radioativos no esgoto confere um prejuízo, não somente à comunidade onde está inserido, mas ao longo do seu deslocamento atingindo as comunidades ou localidades por onde se estende esta rede coletora, uma vez que no caso do ^{131}I que possui meia vida de 8,02 dias a radioatividade pode percorrer grandes distâncias. Como todo o esgoto o seu destino final são os rios, mares por onde percorrem canalizações do edifício onde se situa a unidade de tratamento, medicina nuclear, o esgoto da cidade entre outros. Em todos estes locais existe uma biota local formada por microrganismos

que acabam por absorver e concentrar materiais radioativos tais como: fósforo e iodo. O efeito cumulativo desta absorção pode ser perigosa, este efeito pode se propagar pela cadeia alimentar, contaminando demais espécies da biota local (FISCHER et al., 2009; BITELLI, 1982).

A literatura apresenta situações, relacionadas a descarga de efluente radioativo em cidades costeiras, que propiciam um efeito cumulativo em frutos do mar, principalmente nas algas, que quando consumidas ou manipuladas tornam-se fontes radioativas (CAROLAN et al., 2011). Segundo Krawczyk, et. al (2013), tal preocupação pode ser comprovada, com estimativa das doses recebidas por quem consome e manipula alimentos irradiados, além da identificação da presença do ^{131}I no lodo das estações de tratamento de efluentes destas regiões.

Os principais impatcos ambientais em estuários são resultados da ineficiência ou mesmo falta de um sistema de tratamento o que acaba levando águas cruas para ambientes aquáticos, amplificado pela falta de planejamento de saneamento urbano e crescimento desordenado das grandes cidade. Evidência disto é a concentração de coliformes elevada em estuários próximos a grandes centros urbanos que associados a poluentes com difícil ou nenhum tratamente como o ^{131}I pode aumentar o impacto ambiental nestes manaciais (SOUSA et al., 2016).

O tempo de pemanência do ^{131}I, no esgoto e na estação de tratamento, quando há, de hospitais, respectivamente são maiores do que em outros efluentes, provavelmente pela afinidade do iodo com a matéria orgânica, magnificando o efeito da radioatividade uma vez que bactérias e fungos tem seu desenvolvimento subsidiado por esta matéria orgânica, estendendo o efeito a outros níveis tróficos da cadeia alimentar (FISCHER et al., 2009; MCGOWAN et al., 2013).

Confome a CNEN 3.05, todos os rejeitos devem seguir rigorosamente os procedimentos que propisciem um controle rígido sobre: a geração na fonte com a identificação do procedimento e suas características físicas, biológicas, químicas e radiológicas, bem como volume, classificação, tempo de armazenamento e inventário para posterior liberação e descarte. Tal armazenamento obrigatoriamente deve estar localizado na mesma edificação em que se encontra o serviço de medicina nuclear, evitando assim transporte

por outras edificações e reduzindo o risco de contaminação. O local deve ainda permitir a segregação dos rejeitos em grupos predefinidos e seu acesso restrito ao pessoal autorizado. A atualização de procedimentos adotados pela CNEN, propõe o descarte direto baseado no cálculo de diluição do efluente da unidade de internação para tratamento com o restante do efluente da instituição, incluindo a água pluvial não captada. Neste contexto o efeito da diluição abrandaria a radioatividade do ^{131}I levando a níveis aceitáveis de lançamento.

3.6.1 Gerenciamento de Rejeitos Radioativos

A agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) em 1995 publicou, “Princípios de Gestão de Resíduos Radioativos”, visando proporcionar uma proteção à saúde humana e ao meio ambiente preconizando o fato de que uma má gestão pode resultar em efeitos danosos à saúde humana e ao meio ambiente agora e no futuro (AMANO, 2011).

É necessário, que seja avaliada a dose de descarga de radioisótopos para que se estabeleça o melhor modelo para o fornecimento, baseado em critérios ambientais, dos locais de descarga, de uma dose anual de referência permitida e assim definir quais as medidas ideais de controle a serem adotadas para estimar os limites máximos para o transporte de radioisótopo nos corpos d’água (AMANO, 2011; MCGOWAN et al., 2013).

3.6.2 Atendimento à Legislação

É requerida uma permissão ou autorização especial do órgão regulador para lançamentos de radioisótopos no ambiente, desde que apresentadas às informações relevantes, tais como: avaliação da natureza do lançamento; magnitude e probabilidade das exposições atribuídas às descargas; uma avaliação de segurança adequada; incluindo uma explicação de como a proteção radiológica foi otimizada para permitir tal lançamento. Tais informações devem ser apresentadas antes do início dos lançamentos (EICHHOLZ, 2007).

É necessário que os níveis de lançamento contidos na autorização sejam revistos pelo órgão ambiental, fiscalizados pelo menos uma vez a cada três anos ou em uma frequência pré-determinada, de acordo com uma avaliação prévia que indique tal necessidade ou em casos de modificação de plantas, ou de suas condições de lançamento. Estas medidas são razoavelmente cabíveis em qualquer condição que possa afetar a exposição pública (EICHHOLZ, 2007; SHAW, 2007; MCGOWAN et al., 2013).

O grau de importância de um radioisótopo como contaminante ambiental é ditado pela sua meia vida física. Quanto maior a meia vida física, maior será a residência do contaminante no sistema ecológico e por consequência maior será o impacto no meio. Normalmente um impacto causado por um radioisótopo no meio ambiente resulta na exposição de organismos vivos à radiação liberada com efeito cumulativo e com reflexos significativos no meio ambiente (George Shaw Division of Agricultural & Environmental Sciences, 2007).

Um grande avanço na Norma Básica de Segurança (BSS) da *The European Atomic Energy Community* (Euratom), é a inclusão de monitoramento para a proteção radiológica das demais espécies no ambiente, além dos seres humanos. Ressalta-se que esta norma está em consonância com a *International Commission on Radiological Protection* (ICPR). Estes requisitos estão ainda sob análise jurídica e avaliação pela Comunidade Europeia da Energia Atómica (Euratom) (Janssens et al, 2013).

A norma CNEN 8.01, (2014) estabelece como nível máximo de dispensa de rejeito radioativo líquido na rede coletora de esgoto sanitário o valor de $1x10^7$ Bq (Bequerel) ao ano.

3.6.3 Retenção do Efluente

Com uma meia vida física superior ao tempo que o efluente leva para ser tratado, o ^{131}I está muitas vezes presente no efluente tratado e é descarregado no ambiente aquático, sejam rios ou no mar, e ainda com uma energia gama relativamente alta e de fácil detecção. Por vezes este efluente tratado pode virar Água de reuso, seja para fins industriais, residencial ou municipal o que fornece uma potencial via de exposição à radiação gama do público em geral. O mesmo

acontece quando da reutilização do lodo das estações de tratamento de efluente (ETE) na incorporação no solo agrícola (CAROLAN, HUGUES, HOFFMANN, 2011).

Os resíduos líquidos podem provocar uma irradiação na população, quando despejados sem monitoramento no esgoto, e pós tratados servir de água de reuso. O efluente contaminado pode se integrar aos vegetais e animais, entrando na cadeia alimentar e atingir o homem. Além da dispersão na água, no solo, os rádio elementos podem percolar infiltrando no solo e atingir o lençol freático mais próximo e a sua velocidade de diluição e dispersão, vai depender das características e natureza deste solo, tais como: Geologia, permeabilidade, morfologia, hidrologia e volume de recarga (TUBIANA, BERTIN, 1989).

Segundo Howe e Hunt (1984), no Reino Unido, foram encontrados alguns cisnes com níveis elevados de radioisótopos de ^{131}I acumulado na glândula tireóide, encontrados mortos a jusante do ponto de lançamento de esgoto no rio que habitavam. A rota do efeito cumulativo do ^{131}I nos cisnes é a partir da deposição do radioisótopo na base alimentar formada por algas filamentosas, que se proliferam no rio, que por sua vez recebe o efluente que tem origem em hospitais e laboratórios da região de *East Midlands* onde por bioacumulação tem a sua magnificação nos animais que se alimentam deste ecossistema (HOWE, HUNT, 1984).

3.7 Bioindicadores

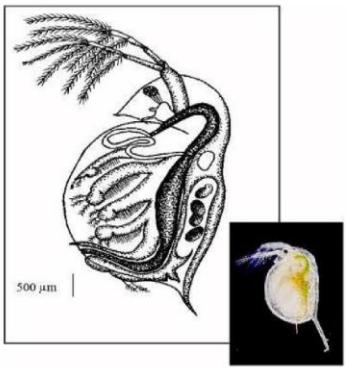
Não há restrições para o uso de Bioindicadores, independente do meio a ser analisado. O que há é uma resposta relacionada a disponibilidade de um composto e sua influência sobre o meio, oferecendo um diagnóstico através de um organismo teste do ambiente em análise. Tem a sua confiabilidade baseada em metodologia de laboratório padronizada e amplamente aplicada fidelizando as características e condições do ambiente estuado. Dentre os organismos está a *Daphnia magna* (LOBO et al., 2014, 2015; PAULA, 2010).

O microcrustáceo *Daphnia magna* ilustrado na Figura 5, é extremamente sensível as variações ambientais por mais ínfimas que sejam comumente utilizadas para diagnósticos de toxicidade de ambiente aquático, em especial

efluentes com contaminantes potencialmente nocivos (SILVA, 2014). Por serem organismos extremamente frágeis, além dos efeitos toxicológicos pode-se analisar ainda a desestruturação do seu DNA por influência de substâncias com características mutagênicas.

Destaca-se ainda a sua capacidade de reprodução e ciclo de vida e padrão genético praticamente invariável além de ser um organismo teste reconhecido internacionalmente.

Figura 5 - Representação do organismo teste*, Daphnia magna*



Fonte: MOURA, et al*,* 2017

3.7.1 Testes Ecotoxicológico e Genotoxicológico

Efeitos nocivos deixam seus registros não somente no meio onde são descartados, mas também registram em organismos que habitam estes meios, bioindicadores, marcas ou danos por vezes irreparáveis que possibilitam identificar o agente causador bem como determinar a sua capacidade destrutiva e espectro de ação ao longo do seu curso (SILVA, 2014).

Para a determinação destes fatores muitos testes estão à disposição dos pesquisadores (FONSECA, PEREIRA, 2004). Tais testes são muito relevantes uma vez que um poluente ou contaminante pode não se mostrar tóxico ao organismo teste, mas pode ser mutagênico ou carcinogênico (KLAASSEN, WATKINS, 2012). Dentre os testes a disposição existem alguns que se destacam pela eficácia, baixo custo, reconhecimento científico e facilmente aplicável. Destas podemos destacar o Ensaio Cometa (EC), que consiste na exposição de

organismos vivos, a uma amostra do efluente a ser analisado avaliando assim o efeito do ambiente ao qual é introduzido.

De acordo com Oliveira (2015), o efeito conhecido como biomagnificação em organismos vivos, pode levar, a níveis mais elevados da cadeia alimentar os contaminantes detectados nos níveis trófico inferiores.

3.7.2 Ensaio Cometa

Conforme Klassen et al. (2012), é possível identificar mutágenos em células de seres vivos por meio de testes de curta duração analisando o DNA e as alterações promovidas por amostra contaminada com potencialidade para tal. Tais mutações podem ser por decorrência de alteração nas ligações químicas ou perda de átomos.

O método SCGE (*Single Cell Gel Electrophoresis*) é aceito e amplamente utilizado por ser de fácil aplicação, baixo custo e não precisar de muito material genético, além de representar com fidelidade a situação do meio uma vez que a amostra é exposta as condições reais do efluente a ser analisado. Este método evidencia as lesões celulares por menores que sejam ou por menor que seja a exposição (SILVA, 2014).

O Ensaio Cometa (EC), tem significativa importância na detecção de dano genético induzido por radiação, sua alta sensibilidade é mencionada por diferentes autores que propõe o seu uso com ênfase no biomonitoramento (GUTIERREZ et al., 1998).

3.7.3 Microbiologia do Efluente Hospitalar

Há uma concentração de Enterobactérias e fungos multirresistentes, associadas ao efluente hospitalar, principalmente nas unidades de terapia intensiva, como por exemplo a iodoterapia. As bactérias que impões maior resistência as drogas são as do tipo Gran negativas, permanecendo no efluente aderidas às partículas sólidas em sua grande maioria. Normalmente a maior concentração é de coliformes como a *Escherichia coli*. Um processo físico

simples de precipitação do material em suspenção, tem condições de remover a maioria dos patógenos gerados no efluente, evitando assim contaminação ambiental do corpo receptor além de facilitar outros processos de tratamento posteriores (CHITNIS et al., 2004).

Os microrganismos *Acinetobacter baumannii, Sthaphylococcus sp.*, *Sthaphylococcus aureus*, Enterobactérias produtoras de betalactamases de espectro estendido (ESBL), bactérias do grupo CESP (*Citrobacter spp., Enterobacter, Serratia e Providencia*), *Enterococcus, Klebsiella pneumoniae*, produtora de carbapenemase e *Acinetobacter sp.*, dentre outras, são os mais comumente encontrados em UTI (unidade de terapia intensiva) (GOMES et al., 2014).

Fungos não são tão conhecidos e estudados como as bactérias, mas nem por isto são menos importantes. Estudos recentes apontam para um aumento de casos de infecção por fungos em pacientes imunocomprometidos, dentre os quais se destacam, *Scedosporium prolificans, Scedosporium apiospermum* e *P. boydii*, pelo risco de morte associado a eles. *Pseudallescheria boydii* e *S. apiospermum* ocorrem normalmente em clima temperado, porém são espécies termotolerantes capazes de resistir a mudanças de temperatura e pressão bem como as condições críticas de efluentes hospitalares com difícil remoção mesmo com processo de tratamento deste efluente, usando em especial o nitrogênio existente para o seu desenvolvimento, o que lhes confere um potencial poluidor muito elevado (CORTEZ et al., 2008).

3.8 Análise Microbiológica Independente de Cultivo

Métodos independente de cultura (CIMs), tratam-se de métodos de análise direta de comunidades de microrganismos diretamente do ambiente que se quer analisar, sem a necessidade de cultiva-los para posterior análise. Estes métodos incluem: eletroforese em gel de gradiente de desnaturação (DGGE) / temperatura, polimorfismo de conformação de filamento único (SSCP), polimorfismo de comprimento de fragmento restrito, polimorfismo de comprimento de fragmento de restrito terminal e reação em cadeia da polimerase quantitativa (PCR) (SU et al., 2012).

3.9 Tecnologia de Sequenciamento Genético de Segunda Geração

O sequenciamento genético utilizado tem como característica mais importante a alta sensibilidade na detecção de DNA bacteriano em ambiente hospitalar e natural, precisão na biblioteca do gene 16s rRNA (V3-V4) para o sequenciamento na plataforma Illumina, juntamente com rigor na análise de bioinformática para a remoção de leituras erradas, possibilita fornecer informações fieis sobre a composição bacteriana das amostras (METZKER, 2010).

Níveis de antibióticos em águas residuais hospitalares é diferente de outros ambientes aquáticos, o uso intensivo de promove uma descarga abundante e variada no efluente, que concentra uma quantidade significativa de *Cultivable Multiple Antibiotic Resistant Bacteria* (CMARB) (WANG et al., 2018)**.**

4 METODOLOGIA

A parte experimental deste estudo foi desenvolvida a partir da coleta do efluente da unidade de iodoterapia (^{131}I), com doses administradas acima de 100 mCi, de um hospital referência em oncologia.

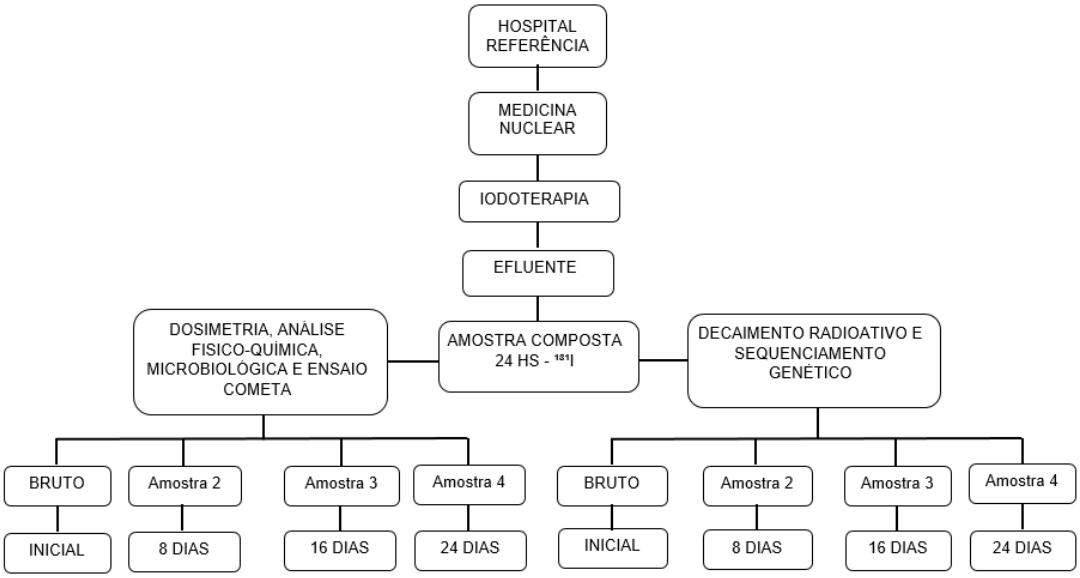
4.1 Ponto de Amostragem

A identificação do ponto de lançamento, com relevância para o estudo, foi determinada com a aplicação de corante traçador adicionado ao vaso sanitário do quarto de isolamento e posterior identificação na saída da caixa concentradora localizada na área externa do hospital. Tal medida se fez necessário, pois as reformas e ampliações não somente dos serviços prestados, mas de áreas construídas provocaram mudanças e derivações nas tubulações coletoras do esgoto, dificilmente registradas e identificadas, o que dificultou saber o ponto exato de coleta do efluente de interesse.

4.1.1 Amostragem

A Figura 6 apresenta um delineamento de pesquisa com as etapas desenvolvidas na ordem em que foram realizadas.

Figura 6 - Delineamento da pesquisa, identificando a origem do efluente, o setor gerador do efluente, tipo de amostra, análises realizadas, identificando as amostras em: Bruto, amostra 2, amostra 3 e amostra 4, e seus respectivos períodos de análise.



Amostra composta foi coletada antes da internação dos pacientes, sendo denominada de efluente bruto. Ela representa diretamente o efluente liberado pelo setor de iodoterapia, mas sem o contaminante ^{131}I, servindo como um controle para o experimento. Considerou-se que o intervalo de uma semana entre internações de pacientes para tratamento, possibilita que não haja radioisótopo do ^{131}I devido ao fluxo contínuo do efluente gerado na unidade.

A coleta do efluente foi denominada de amostra e iniciou imediatamente após a internação de dois pacientes, injetados com dose de 150 mCi de ^{131}I cada um. Esta amostra teve um volume total de 40 litros, que posteriormente foi fracionada em três embalagens menores, mimetizando um tanque de contenção para amostra parada.

A partir dos tanques, foram coletadas amostras do efluente armazenado em diferentes momentos: 8º, 16º e 24º dias, sendo então denominadas de amostras 2, 3 e 4, respectivamente. Esse intervalo de tempo foi escolhido para análise devido a meia vida do ^{131}I ser de 8,02 dias. Em cada um dos momentos, as amostras foram encaminhadas para análises laboratoriais físico-química, microbiológica, ensaios de eco e genotoxicidade e de sequenciamento genético (Figura 6).

4.2 Dosimetria e Decaimento Radioativo

Para a medição do decaimento, em cada amostra foram acoplados dosímetros termoluminescentes (TLDs) composto por uma fração de Fluoreto de Lítio e outra de Sulfato de Cálcio dopado com Disprósio, para captar a dose efetiva liberada pelo efluente contendo ^{131}I, com capacidade de medir doses entre 0,2 e 2000 mSv.

Nesta etapa a amostra composta foi fracionada em três novas embalagens que mimetizaram um tanque de contenção para amostra para, em cada um destes tanques foram acoplados três dosímetros, em lados alternados para absorver a dose efetiva liberada em direções diferentes.

Ao final de 8 dias o primeiro tanque ou embalagem, teve os dosímetros retirados e enviados ao laboratório para análise, ao final de 16 dias a segunda triplicata de dosímetros foi retirada do segundo tanque e enviado ao laboratório para análise, o mesmo aconteceu com o terceiro tanque, ao final de 24 dias sendo os dosímetros enviados ao laboratório para análise. A partir das análises foi possível identificar a dose recebida pelos dosímetros e ao longo do tempo analisar o comportamento da radioatividade contida no efluente através da dosimetria.

4.3 Análise Físico-química e Microbiológica

As amostras foram encaminhadas ao laboratório, em períodos de tempo distintos, de: bruto (tempo inicial), 8 dias (amostra 2), 16 dias (amostra 3) e 24 dias (amostra 4), e analisadas pela Central Analítica da Universidade de Santa Cruz do Sul, referência em análises de amostras com processos oxidativos, sejam eles físicos, químicos ou biológicos. Foram realizados ensaios de: DBO5 com Metodologia analítica segundo *Standard Methods for the Examination of Water and Waste water,* 2012 (SMEWW) 5210 B, DQO com metodologia SMEWW 5220 B, Fosforo Total com metodologia SMEWW 4500-P E, Nitrogênio Amoniacal com metodologia SMEWW 4500-NH3 B e Nitrogênio Total Kjeldahl com metodologia SMEWW 4500-Norg C. Para os ensaios de coliformes, totais e termotolerantes (ou fecais), foi seguida a metodologia

analítica segundo (*Standard Methods for the Examination of Water and Waste water* (2012)), SMEWW 9221 B e SMEWW 9221 e, respectivamente, seguindo parâmetros da Resolução Nº 128/2006 do Conselho Estadual do Meio Ambiente do RS – CONSEMA, de 24 de novembro de 2006.

A caracterização microbiológica, foi realizada através de metagenônica, resultando na diversidade microbiana (bactérias e fungos) presente nas amostras enviadas à Neoprospecta. As amostras foram fracionadas em embalagens de 200 mL cada, identificada de acordo com o período das análises, inicial (bruto), 8 dias (amostra 2), 16 dias (amostra 3), 24 dias (amostra 4), congeladas para preservar a amostra. Para o envio ao laboratório as amostras foram homogeneizadas, peneiradas para retirada do material grosseiro, e inseridas em microtubos para centrifugação em 10.000 rpm por 10 minutos. Após estas etapas de preparo, microtubos com os *pellets* resultantes foram preservados em temperatura de – 5 °C (CORATO et al., 2018), e posteriormente enviados ao laboratório para sequenciamento do DNA .

4.4 Teste de Sensibilidade com *Daphnia magna*

Seguindo a norma da ABNT NBR 12713 (ABNT, 2009), foi submetido um lote de indivíduos ao teste de sensibilidade de Dicromato de Potássio.

Para a aferição do cultivo de *Daphnia magna* foi realizada a exposição dos indivíduos a concentrações de Dicromato de Potássio (substância de referência) e também a um controle contendo água reconstituída como meio de diluição, cultura. Em ausência de luz o teste teve duração de 24 horas.

A mortalidade e imobilidade dos indivíduos foi o indicador de resultado da cultura e a análise do mesmo foi feita a partir do programa chamado *Trimmed Spearman-Karber* (HAMILTON, 1977).

4.4.1 Teste de Ecotoxicidade com *Daphnia magna*

O teste consiste na exposição de 10 indivíduos a um volume de 25mL do efluente analisado, para cada amostra sendo utilizado também um controle

com o mesmo número de indivíduos. Após 24 horas foi realizada a contagem dos indivíduos vivos e mortos de cada amostra. Após 48 horas foi feita a última contagem de indivíduos vivos e a partir deste dado cada amostra foi enquadrada no seu grau de toxicidade, conforme estabelece a norma 12713 (ABNT, 2009).

4.4.2 Ensaio Cometa Utilizando *Daphnia magna*

Para a realização do EC foi utilizado um volume de 25 mL de amostra de efluente com ^{131}I e controle (água reconstituída), onde cada uma das amostras e o controle receberam 10 exemplares de neonatos de *Daphnia magna*.

Após a exposição, os neonatos foram transferidos com o auxílio de pipetador automático e armazenados em solução contendo 850 µL de tampão fosfato salino (PBS com pH 7,4), 20mol/L de ácido etileno diamino tetra-acético (EDTA) e 50 µL de Dimetilsulfóxido (DMSO).

Posteriormente o material foi macerado e centrifugado durante 10 minutos, a uma temperatura de 4°C e a velocidade de 2100 rpm, sendo o sobrenadante removido e descartado. Após, o material foi exposto em 5 lâminas pré-cobertas e acrescido de agarose, sendo 20 µL de material e 80 µL de agarose de baixo ponto de fusão, mantida aquecida a 37ºC. A suspensão celular juntamente com a agarose foi disposta sobre a lâmina e recoberta por lamínula. Após 10 minutos sob refrigeração, retiraram-se as lamínulas e as lâminas que foram submetidas a uma solução de lise por 1 hora, processo esse que consiste no rompimento das membranas, tanto a celular, quanto a nuclear, expondo assim o material genético (MOURA, LOBO, RIEGER, 2017).

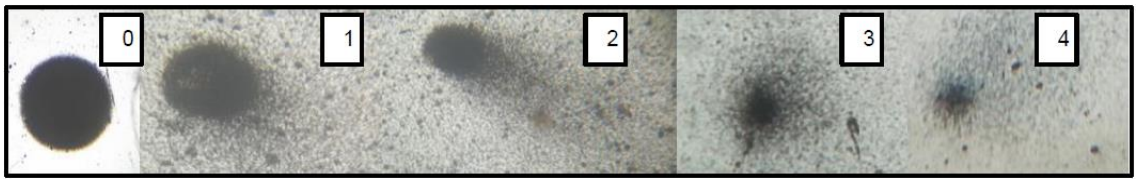
A solução de lise é composta de 2,5 M NaCl, 100 mol/L Na2 EDTA e 10 mol/L TRIS, com pH 10, no momento de uso se adiciona 1% Triton X-100, e 10% DMSO. Iniciou-se então a eletroforese alcalina (pH>12), para tal as lâminas foram submersas durante 15 minutos em tampão eletroforese para que ocorresse o desnovelamento do DNA. A seguir, deu-se seguimento a eletroforese (0,7 V/cm; 300 mA) com duração de 20 minutos. Terminada a eletroforese as lâminas foram neutralizadas (Tris 0,4M), lavadas com água destilada e postas para secar naturalmente. Após foram fixadas e secas

novamente, para receberem a coloração a base de nitrato de prata (MOURA et al., 2017).

Os nucleoides foram analisadas em microscopia óptica com aumento de 400x, em cada lâmina, sendo contabilizados 100 nucleóides, por lâmina e totalizando 500 nucleóides totais por amostra de *Daphnia magna.*

Os nucleóides foram quantificados e classificados em 5 classes de danos (0, 1, 2, 3 e 4). Quanto maior o dano maior o dígito correspondente, sendo a classe 0 destinada para DNA livre de dano, classe 1 baixo nível de dano do DNA, classe 2 DNA com nível médio de dano, classe 3 DNA com nível alto de dano e classe 4 com nível muito elevado de dano no DNA, representados na Figura 07.

Figura 7 - Classe de dano do nucleóide em ordem crescente de 0 a 4, onde 0 é ausente de dano, 1 – nível baixo dano, 2 – nível médio de dano, 3 – nível alto de dano e 4 – nível muito elevado de dano.



Fonte: MOURA, *et al,* 2017

Os resultados foram calculados como frequência de dano (FD) e índice de Dano (ID). A FD é calculada pela quantidade de nucleoides com dano em relação ao total e expresso em percentual. O ID é calculado pelo somatório do produto do número de nucleóides pelo respectivo número de classe (0,1,2,3 e 4) variando de 0 a 400 em unidades arbitrárias (u.a.).

Visando a padronização dos resultados de modo a poder compará-los ao longo do tempo e entre as diferentes amostras, os valores de FD e ID foram ajustados em relação à respectiva média do grupo Controle. O valor padronizado foi obtido pela razão entre a FD (ou ID) de cada amostra pela respectiva FD (ou ID) da média do grupo Controle de cada teste.

No processamento da informação, empregou-se a estatística descritiva para a tabulação dos dados e sua ilustração gráfica. Para a análise da FD e ID foi utilizada a análise de variância de duas vias (ANOVA) com pós-teste de Bonferroni para múltiplas comparações, uma vez que os dados apresentaram distribuição normal e variâncias homogêneas. Trabalhou-se com níveis de

significância de, no mínimo, 5% ($p<0,05$). As análises foram processadas utilizando-se o programa estatístico *GraphPadPrism*6.01 (*G*RAPHPAD, 2012).

4.5 Sequenciamento Genético das Amostras

Para a identificação da diversidade de microrganismos (bactérias e fungos), contidas no efluente, as amostras de pellets preservadas nos micro tubos foram enviadas para a realização do sequenciamento de nova-geração (NGS, do inglês *Next-Generation Sequencing*) com cobertura de 50 mil *reads* nos Laboratórios da Empresa Neoprospecta. As regiões V3-V4 do 16S RNAr para bactérias e as regiões ITS1 e ITS2 para fungos foram utilizadas. Os *primers* utilizados para identificação de Bactérias foram U341F (CCTACGGGRSGCAGCAG) e 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT) e para a identificação de Fungos os *primers* ITS1 (GAACCWGCGGARGGATCA) e ITS2 (GCTGCGTTCTTCATCGATGC). Após, os resultados foram sequenciados utilizando a plataforma Illumina MiSeq (Illumina Inc., USA), utilizando o kit V2 de 300 ciclos, *single-end*, seguindo instruções do fabricante. As sequências de DNA dos microrganismos foram analisadas através de um pipeline de propriedade da empresa Neoprospecta *Microbiome Technologies*, Brasil, considerando no máximo 1% de erro acumulado no sequenciamento. Posteriormente, para a classificação taxonômica os resultados foram comparados na biblioteca KAPA Kit de Quantificação para plataformas Illumina (KAPA *Biosystems, Woburn*, MA), e por fim, às análises de bioinformática foram carregados na plataforma *Neobiome* para visualização.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Dosimetria para Análise do Efluente

A análise dosimétrica preliminar, por parte da medicina nuclear do hospital, permitiu a retirada do efluente da unidade hospitalar, por não constatar nesta análise a presença de radiatividade no efluente coletado. No entanto as análises posteriores mostram divergência com a medição inicial. Na análise dos dosímetros afixados nas amostras, foram detectadas dose de radiação significativas em todas as amostras exceto no controle, que foi coletado antes da internação dos pacientes.

De acordo com COX e ARAI, (2014), a permanência do radioisótopo no meio ambiente é bem maior do que os 8,02 dias de sua meia vida física, e se incorporado ao solo e a água, é absorvido pelos seres vivos e posteriormente entram na cadeia alimentar de cada ambiente. Os resultados da dosimetria do efluente, estão apresentados na Tabela 3.

É preciso levar em consideração o efeito cumulativo de dose dos cristais, uma vez que estes não liberam radioatividade após absorve-la, a possível ionização por radiação gama de outras substâncias contidas no efluente e a condição de retenção biológica, denominado tempo de meia vida biológico do radioisótopo, que é de 138 dias, determinado principalmente pelo tipo de tecido e processo metabólico de cada indivíduo exposto a radioatividade (ROSE et al, 2012).

Os dosímetros utilizados mediram a dose efetiva emitida, o que corresponde aos raios emanados pelo radioisótopo em sua direção, sabendo-se que a irradiação ocorre em todos os sentidos e direções. As doses registradas são acumulativas com tempo máximo de 24 dias de exposição, os dosímetros utilizados não liberam a radioatividade por eles absorvida.

Os dosímetros identificam apenas os fótons liberados pelo radioisótopo, esta radioatividade liberada pelo radioisótopo do ^{131}I no efluente analisado, tem origem direta dos quartos de internação dos pacientes da iodoterapia, num total de dois quartos ocupados, com dose administrada em cada paciente de 150 mCi.

Os dados sobre as concentrações de radioisótopos no efluente, sedimentos e mananciais, apresentados no decorrer do trabalho corroboram com o potencial poluidor do efluente com estas características. Medições realizadas no mesmo ponto de amostragem em 2014 já evidenciavam o descaso com a legislação vigente, liberando doses do ^{131}I no efluente do hospital sem tratamento prévio. Estas doses puderam ser detectadas sem que fosse necessário reter este efluente (PEZERICO, 2014).

5.1.2 Dosimetria para Análise do Tempo de Decaimento Radioativo

A análise de decaimento da radioatividade do ^{131}I é importante, para determinar ou estimar o possível impacto por ele causado, devido ao tempo de permanência do mesmo no ambiente. As informações geradas pelas análises dos dosímetros mostraram que existia radioatividade acima dos níveis legais nas amostras durante todo o período de estudo, 24 dias (Figura 8).

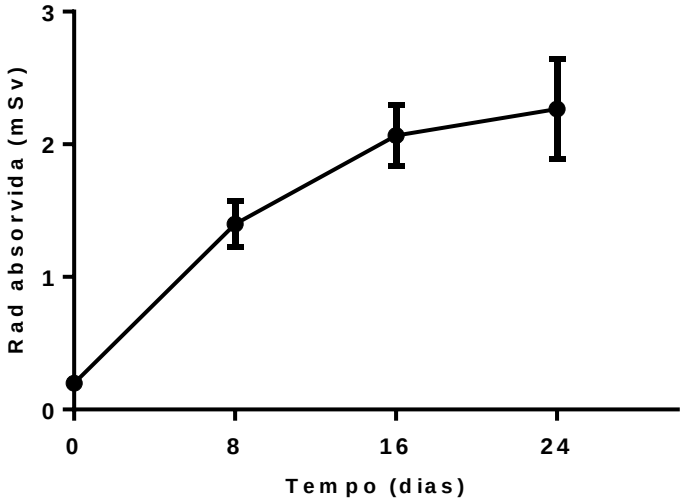
A Tabela 3 apresenta os resultados da dosimetria com análise estatística descritiva apresentando a média e desvio padrão da triplicata de dosímetros utilizada em cada amostra: bruto, 8, 16 e 24 dias.

Tabela 3 - Média e desvio padrão dos registros de dose para a dose absorvida nos períodos: inicial (0), 8 dias, 16 dias e 24 dias.

Tempo (dias)	D1 (mSv)	D2 (mSv)	D3 (mSv)	Média da Radiação Absorvida (mSv) (n = 3)
0	0,199	0,199	0,199	< 0,199* ± 0,0
8	1,3	1,6	1,3	1,40 ± 0,17
16	2,2	2,2	1,8	2,07 ± 0,23
24	2,1	2,7	2,0	2,27 ± 0,38

* Foi considerada como dose inicial a maior dose não mensurável pelo dosímetro, pois não foi detectada radiação absorvida no tempo inicial; D1, D2, D3: Dosímetros em triplicata na amostra; maior dose não mensurável, 0,199 mSv.

Figura 8 – Radiação absorvida acumulada pelos dosímetros colocados no tanque de amostragem contendo efluente com ^{131}I, nos períodos: inicial, 8, 16 e 24 dias.



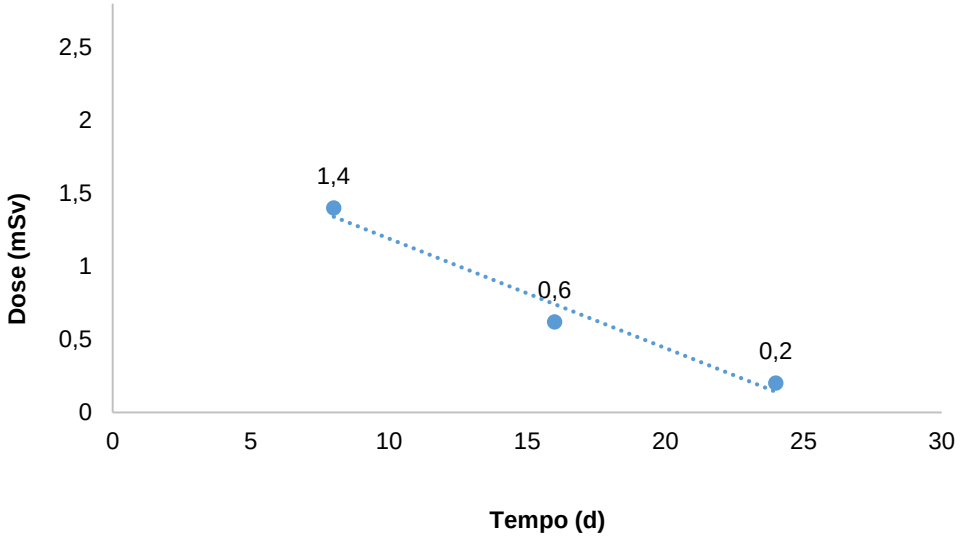
Os dados gráficos representam o valor médio ± desvio padrão.
Foi considerada como dose inicial a maior dose não mensurável pelo dosímetro, pois não foi detectada radiação absorvida no tempo inicial.

A Figura 8 mostra que as doses registradas tiveram elevação ao longo do tempo a partir da dose inicial, considerada a menor dose possível de ser detectada pelo dosímetro. O acúmulo de dose por parte do dosímetro, que tem relação direta com o tempo de exposição, pode justificar este aumento. Como a retirada dos dosímetros ocorreu em ordem temporal crescente, é da característica dos dosímetros que os subsequentes tenham absorvido uma dose maior, pelo efeito acumulativo.

A Figura 9 apresenta o decaimento da dose registrada pelos dosímetros, que corrobora com os dados encontrados na literatura, a qual define a meia vida do radioisótopo do ^{131}I como de 8,02 dias. Por não haver uma medida inicial e ser considerada somente a capacidade mínima de absorção pelo dosímetro, considera-se os dados da amostra do oitavo dia, como medida inicial. No período seguinte, 16 dias, a redução de dose detectada chegou a 52% da medida correspondente ao 8º dia e posteriormente, após 24 dias, a redução chegou a 86% da medida correspondente ao 8º dia. Mesmo assim, as medidas de radioatividade realizadas, estão muito distantes do ideal para os padrões de lançamento no efluente e de segurança, tanto ocupacional quanto da população em geral.

Os valores da radioatividade registradas nos dosímetros dentro do efluente, são de grande importância, uma vez que a maioria dos Hospitais no Brasil não possuem sistemas de retenção para estes efluentes, os quais são liberados diretamente na rede coletora de esgoto. Embora o tempo de meia vida deste radioisótopo seja de 8 dias dentro do efluente, este valor pode aumentar se o mesmo for adsorvido nos sedimentos ou no lodo das estações de tratamento. Segundo Hormann e Fischer (2017), o material adsorvido nos sedimentos pode ter uma meia vida superior aos 100 dias.

Figura 9 – O decaimento da radiação absorvida pelos dosímetros, ao longo do tempo, acoplados nos tanques de amostragem contendo efluente com ^{131}I, nos períodos: 8, 16 e 24 dias.



Não é possível fazer uma correlação entre a dose ministrada ao paciente, dose farmacológica, e a dose de exposição do dosímetro, pelo fato de que as unidades de medida utilizadas são diferentes e não são passíveis de conversão.

As informações sobre as internações no período de amostragem serviram tão somente para estipular o momento, dose e horário certos para a coleta do efluente diretamente dos quartos terapêuticos e no momento exato do uso das instalações sanitárias dos quartos.

5.2 Características Físico-químicas e Microbiológicas do Efluente

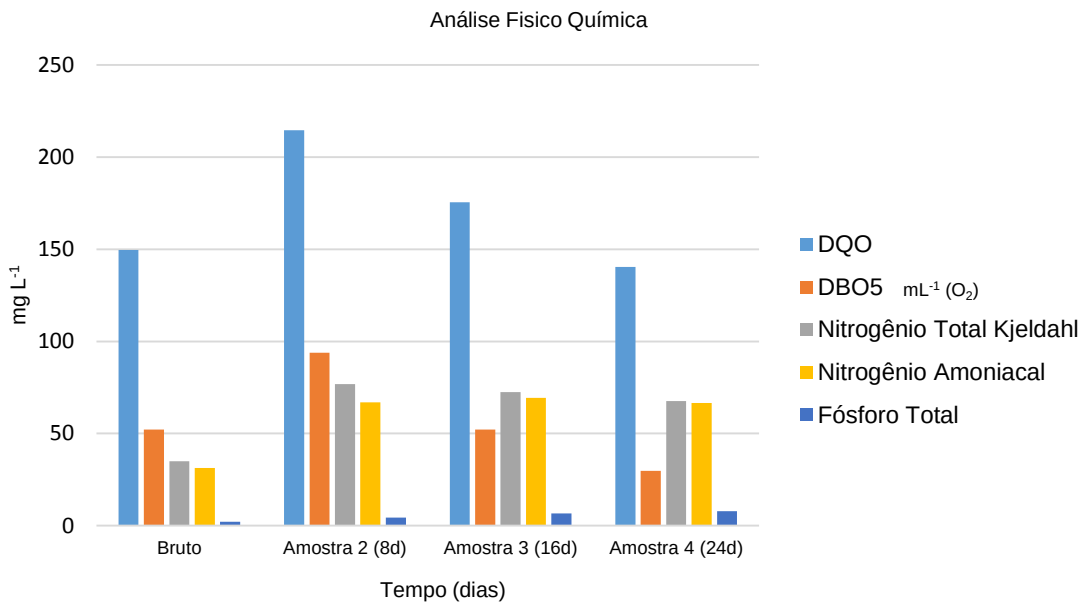
As análises realizadas de DBO_5, DQO, Fosforo Total, Nitrogênio Amoniacal, Nitrogênio Total Kjeldahl estão apresentadas na Figura 10. Os resultados refletem as características do efluente, o ciclo natural de consumo de oxigênio, matéria orgânica e posterior geração de gás carbônico. Ao final do período de 24 dias, o ambiente anaeróbio formado nos recipientes dificultou a remoção do Nitrogênio deixando-o estável no período.

Devido a que o efluente bruto foi coletado antes que o efluente contaminado, os mesmos apresentam características físico-químicas diferentes. Uma vez que o efluente contaminado foi coletado após o uso pelo paciente, ele deve apresentar uma concentração maior que o efluente bruto de matéria orgânica e dos outros compostos geralmente contidos no efluente urbano. Dessa forma, não é possível comparar estes parâmetros entre os dois tipos de efluentes. Os valores dos parâmetros analisados no efluente bruto mostram valores comuns aos efluentes urbanos.

Considerando os parâmetros do efluente contaminado, pode se ver que a concentração dos nutrientes não apresenta diferenças significativas. Isso se deve a que o processo anaeróbio, estabelecido nos recipientes que continham o mesmo, não se caracteriza por remoção elevada de nutrientes, uma vez que as bactérias anaeróbias só consomem a quantidade necessária para seu metabolismo nestas condições (VON SPERLING, 1996). Dessa forma, os valores do P e dos NH4 e NTK não apresentam variações significativas. A remoção biológica do N2 dos efluentes acontece pelo processo de nitrificação e desnitrificação. A nitrificação no esgoto ocorre quase que naturalmente sob condições aeróbias, desde de que as condições ideais existam, como: temperatura, oxigênio dissolvido e população de microrganismos adaptados e em abundância, entre outros fatores (CHEIS, 2014).

O processo anaeróbio estabelecido nos reatores é conhecido por ser um bom meio de redução de carga orgânica, a qual é convertida em gases de CO2 e de CH4 pelas bactérias. Dessa forma, a DBO_5 apresentou uma redução de 93,9 mg/L (O_2) para 29,8 mg/L (O_2) entre o oitavo e o vigésimo quarto dia. Esta redução da matéria orgânica também afetou a redução da DQO do sistema.

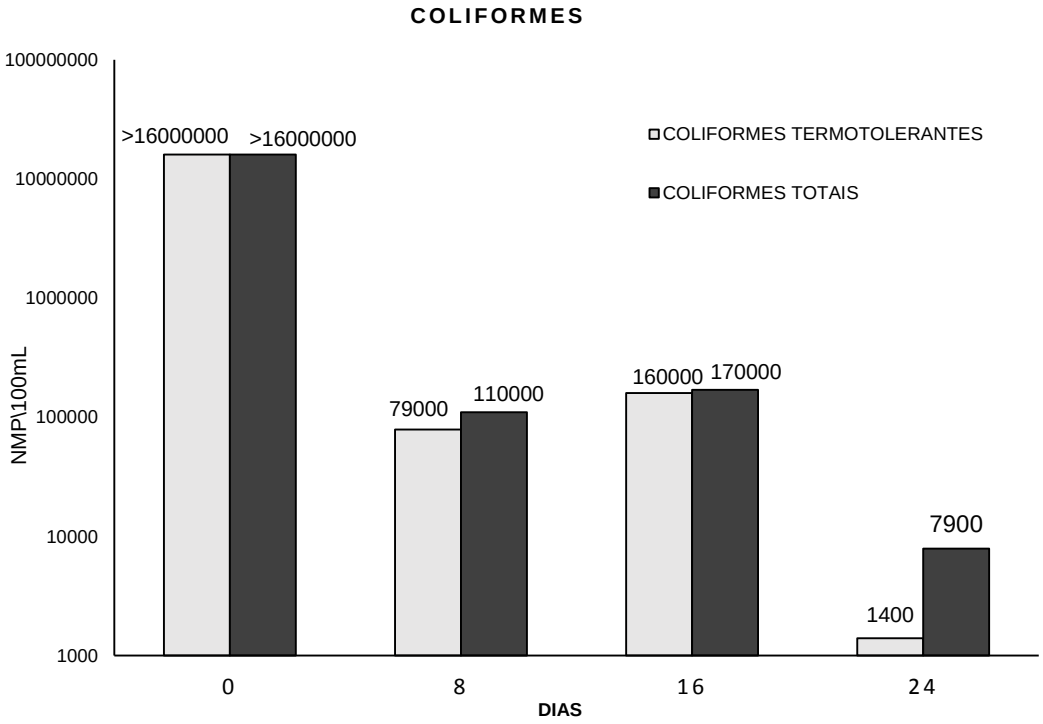
Figura 10– Gráfico da análise de DBO_5, DQO, Fosforo Total, Nitrogênio Amoniacal, Nitrogênio Total Kjeldahl do efluente da iodoterapia.



A eficiência na remoção de DBO_5 e DQO depende, entre outros fatores, do controle e adaptação do microrganismos existentes, principalmente quando expostos a compostos de difícil degradação. O tempo de adaptação vai depender entre outros, da temperatura, pH, concentração de oxigênio dissolvido, idade do lodo, tipo de substrato e a fonte da biomassa utilizada (CORDI et al., 2008).

As análises de coliformes totais e termotolerantes forneceu uma informação relevante, sobre as reações apresentadas pela alteração das condições do efluente, sem o ^{131}I no efluente bruto e com o ^{131}I nas demais amostras. A Figura 11 apresenta os resultados da análise de coliformes do efluente bruto e das amostras 2, 3 e 4.

Figura 11 - Gráfico do resultado das análises de coliformes em NMP/100mL (número mais provável) das amostras 2, 3, 4 e efluente bruto, do efluente da iodoterapia.



A população de bactérias encontradas no efluente está dividida nos seguintes filos: *Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Verrucomicrobia* e o mais abundante *Proteobacteria*. Este último filo representa 88% do total dos filos do efluente bruto.

O filo *Proteobacteria* apresenta um amplo e diversificado grupo dentro do domínio Bactéria, composto por organismos de crescimento rápido facilmente ajustados a ambiente rico em nutrientes e importantes para o ciclo do nitrogênio por serem fixadores deste (PINHEIRO, 2017; DEMIROĞLU et al., 2015).

A população de fungos encontrados no efluente está dividida em dois filos: *Ascomycota* e *Basidiomycota.* O filo *Basidiomycota* representa 86% do total dos filos do efluente bruto.

Houve redução brusca, na população de coliformes a partir do 8º dia representado pela amostra 2, demonstrando o efeito nocivo imediato da radioatividade contida no efluente. Após este período inicial o aumento da população no 16° dia, amostra 3, em relação a concentração inicial, demonstra uma fase de aclimatação ou breve adaptação as condições severas encontradas, logo alteradas novamente com a piora das condições não mais

somente pela radioatividade, mas agora com influência também, da redução natural das condições de sobrevivência em decorrência da falta de nutrientes, amostra 4. Outra possibilidade é o efeito da ionização das moléculas de outras substâncias no efluente, tornando tóxicos outros componentes existentes na amostra.

5.3 Teste de Ecotoxicidade com *Daphnia magna*

Este teste estabelece quão tóxica pode ser a amostra para os indivíduos expostos. Com uma exposição aguda com concentração de 100% do efluente, ou seja, sem diluição, o Iodo (^{131}I) neste estado, se mostrou atóxico para a finalidade, não havendo morte ou imobilidade de qualquer indivíduo exposto.

Os diferentes estados de valência do iodo têm diferentes impactos toxicológicos. O iodo elementar (I_2) dissolvido em água é conhecido por suas propriedades antibacterianas. Iodo elementar é usado para desinfetar o abastecimento de água e limpar feridas. Dentro da célula bacteriana, a molécula de iodo se liga prontamente aos grupos tiol em proteínas, desestabilizando a estrutura de carbono para carbono duplo, ligações em cadeias de ácidos graxos (COX e ARAI, 2014).

Conforme classificação da Norma ABNT 12713 (2009) a amostra que apresentar sobrevivência de indivíduos de até 80% é considerada não tóxica, nenhuma das amostras analisadas foi considerada tóxica, o que permitiu a continuidade do estudo.

É importante salientar que o iodo neste estado não tem princípio toxicológico, mas a sua radioatividade tem efeito genotóxico de seleção não natural de microrganismos ou até mesmo da introdução de alterações genéticas com mutações e deformações celulares, tendo assim um grande potencial para gerar alterações ao ambiente e a organismos presentes no efluente. Isto pode levar a possíveis consequências ecológicas em todas as esferas da cadeia alimentar por ter efeito de bioacumulação.

As elevadas doses observadas nas análises potencializam este risco onde o ^{131}I, por sua carga radioativa e não por si só, será um seletor

antropogênico da população de microrganismos no meio em que o efluente é lançado.

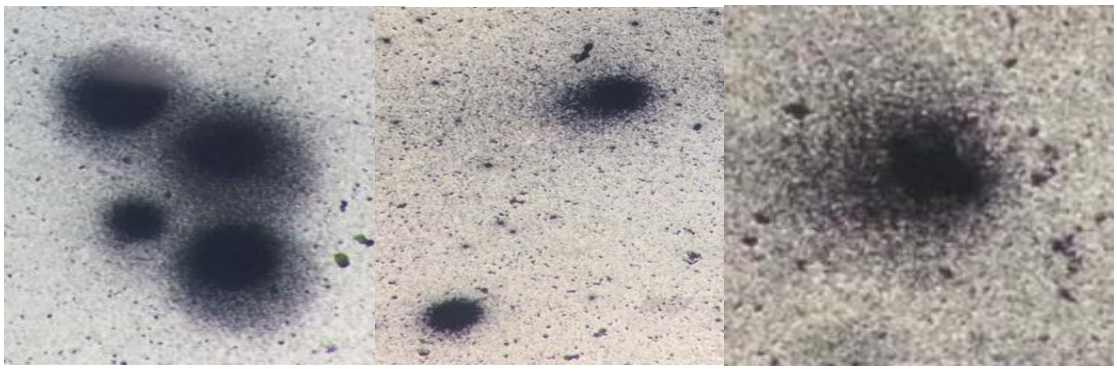
5.4 Teste de Genotoxicidade com *Daphnia.magna*

As amostras analisadas após o Ensaio Cometa, mostraram que houve dano celular em todas as amostras, comprovando a genotoxicidade do efluente, dano este visível também no controle (C).

O efluente testado provém de uma unidade de saúde de tratamento de câncer de tireóide, o que resulta na característica de relevância para o estudo, considerando somente o ^{131}I como contaminante deste efluente, certamente existem diversos outros tipos de agentes químicos que podem causar danos similares aos indivíduos expostos. Mas as características dos danos encontrados no controle do efluente bruto, que não teve contato com o ^{131}I, deixa claro a influência da radioatividade nas demais amostras expostas ao ^{131}I. O efluente bruto concentrou os danos na classe 1, diferente das amostras 2, (8 dias) que concentrou a maioria dos danos nas classes 2 e 3, a amostra 3, (16 dias) que concentrou os danos nas classes 3 e 4, e a amostra 4, (24 dias) que seguiu concentrando danos nas classes 3 e 4. Assim sendo, podemos afirmar que a presença da radioatividade do ^{131}I foi o que causou a elevação na classe de dano nos nucleoides das *Daphnia manga*, Figura 12, demostrando o seu efeito genotóxico sobre os organismos.

A fragmentação da fita simples do DNA é uma lesão considerada pre-mutagênica, por estar correlacionada a uma propriedade mutagênica e carcinogênica de poluentes ambientais. As quebras de fita dupla do DNA são mais significativas, por serem as de reparação mais difícil, levando a letalidade ou a mutação os organismos expostos, caso a reparação seja mal sucedida (COLLINS et al., 1997; KAMMANN et al., 2001).

Figura 12 - Evidência de dano no nucleoide das amostras submetidas ao teste de genotoxicidade com organismo teste *Daphnia magna,* identificados em sua maioria em classe 2, classe 3 e classe 4.



Classe 2 Classe 3 Classe 4

Como houve dano no controle os dados foram normalizados para efeito de correção em função dos resultados encontrados.

Os testes nas demais amostras mostraram efeitos ainda mais genotóxicos para o organismo teste *Daphnia magna,* do que os encontrados no efluente bruto.

A Tabela 4, apresenta a Frequência de Dano (FD) e o Índice de Dano (ID) de todas as amostras, com normalização do controle para ajuste do FD e do ID, sendo que os controles das amostras apresentaram dano, o que é plausível considerando a característica do efluente hospitalar.

Tabela 4 - Frequência de Dano (FD) e Índice de Dano (ID) em nucleoides de *Daphnia magna* expostos a amostras do efluente de iodoterapia armazenado durante o período das análises, de: inicial (0dias), amostra 2 (8dias), amostra 3 (16dias) e amostra 4 (24dias)

Tempo	FD ajustado			ID ajustado		
(dias)	Controle	Amostra	p	Controle	Amostra	p
Inicial - 0	1,00 ± 0,22	1,57 ± 0,15	< 0,0001	1,00 ± 0,27	2,07 ± 0,37	< 0,0001
8	1,00 ± 0,22	1,71 ± 0,22	< 0,0001	1,00 ± 0,27	2,47 ± 0,30	< 0,0001
16	1,00 ± 0,10	1,80 ± 0,14	< 0,0001	1,00 ± 0,12	3,27 ± 0,19****	< 0,0001
24	1,00 ± 0,17	1,76 ± 0,15	< 0,0001	1,00 ± 0,22	3,04 ± 0,29*	< 0,0001

ANOVA de duas vias para FD e ID ajustados em relação ao controle e seguido de pós-teste de Bonferroni para múltiplas comparações.
*Diferença significativa entre a exposição do 8º ao 24º dia (p<0,0135)
****Diferença significativa entre a exposição do 8º ao 16º dia. (p<0,0004)
Nível de significância (p≤0,05).

A amostra inicial, efluente bruto, sem o contaminante, ^{131}I, apresentou uma Frequência de Dano (FD) 57% superior ao seu controle inicial (Bruto), e o

Indice de Dano foi 210% superior ao seu controle, identificando dano causado por outras influências que não a radioatividade do ^{131}I, que neste momento não estava presente.

As demais amostras por sua vez já apresentavam o contaminante radioativo ^{131}I, o que as difere é o tempo de exposição a este contaminante.

A amostra 2, permaneceu durante 8 dias reservada com o efluente radioativo, antes de ser analisada, período este considerado de meia vida física do ^{131}I, onde sua radioatividade cai para a metade, ainda assim foi capaz de produzir danos celulares significativos, no organismo teste *Daphnia magna*, o FD em relação ao controle da amostra foi 71% superior, já o ID foi 250% superior ao controle desta amostra.

A amostra 3 (16 dias), permaneceu reservada, sob influência do efeito radioativo do efluente por um período de 16 dias, antes de ser analisada. Neste período, segundo a literatura apresentada, a radioatividade deveria ser a metade do apresentado na análise de 8 dias. Após este período houve a exposição aguda das *Daphnia magna,* no entanto*,* no EC verificou-se que os danos e efeitos nas células dos organismos teste foram maiores do que os anteriores, uma vez que o efeito é acumulativo em função do tempo e progressivo, mesmo que tenha se passado o período de meia vida física do radioisótopo de 8,02 dias, o efeito da meia vida biológica permanece por até 138 dias, outro fator é a possibilidade de que a amostra composta tenha sofrido efeito da radiação, tornando outros componentes também tóxicos, como medicamentos e outros, o que pode explicar os efeitos ainda maiores causados. A FD na amostra 3, foi 80% superior ao do seu controle, o ID apresentou dano 330% maior do que o seu controle.

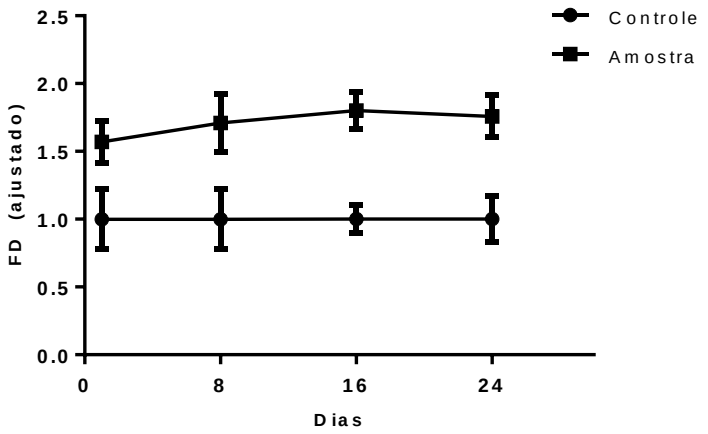
A Amostra 4 (24 dias), assim como a amostra 3, (16 dias) sofreu influência da meia vida biológica do ^{131}I, e após o período de 24 dias foi realizada a exposição aguda das *Daphnia magna* e posteriormente realizado o EC, que apresentou uma FD na amostra, 76% superior a FD do controle, e um ID 305% superior ao seu controle.

Nesta última amostra, os efeitos genotóxicos começam a reduzir, muito embora as condições do efluente ainda se mostrem muito nocivo ao organismo teste. É provável que o efeito da radioatividade tenha reduzido significativamente, assim como a meia vida biológica, uma vez que neste período

já há uma redução elevada na população de microrganismos contidos no efluente.

A Figura 13 representa a variação da Frequência de Dano em nucleoides de *Daphnia magna* expostos a amostras do efluente da iodoterapia armazenado durante o período das análises, de: amostra 2 (8 dias), amostra 3 (16 dias) e amostra 4 (24 dias).

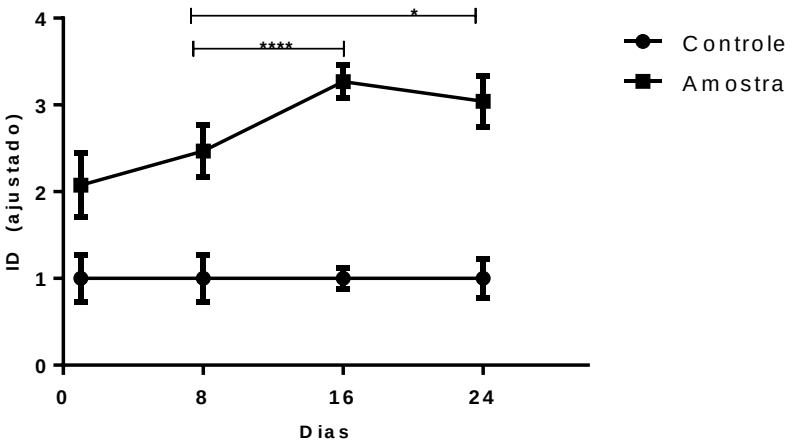
Figura 13 - Variação do Frequência de Dano em nucleoides de *Daphnia magna* expostos a amostras do efluente da iodoterapia armazenado durante o período das análises, de: amostra 2 (8dias), amostra 3 (16dias) e amostra 4 (24dias)



ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Bonferroni para múltiplas comparações. A comparação entre as amostras e os respectivos controles para cada tempo foi sempre significativamente diferente ($p<0,0001$) e não representada na Figura. Nível de significância ($p\leq0,05$).

A Figura 14 representa a variação do Índice de Dano em nucleoides de *Daphnia magna* expostos a amostras do efluente da iodoterapia armazenado durante o período das análises, de: amostra 2 (8 dias), amostra 3 (16 dias) e amostra 4 (24 dias).

Figura 14 - Variação do Índice de Dano em nucleóides de *Daphnia magna* expostos a amostras do efluente da iodoterapia armazenado durante o período das análises, de: amostra 2 (8dias), amostra 3 (16dias) e amostra 4 (24dias)



ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Bonferroni para múltiplas comparações. A comparação entre as amostras e os respectivos controles para cada tempo foi sempre significativamente diferente (p<0,0001) e não representada no gráfico.
*Diferença significativa entre a exposição do 8º ao 24º dia.
****Diferença significativa entre a exposição do 8º ao 16º dia.
Nível de significância (p≤0,05).

5.5 Sequenciamento Genético das Amostras

Foi analisada a diversidade de bactérias e fungos no efluente, apresentando sequências de DNA com base no banco de dados da biblioteca da Neoprospecta, empresa responsável pela metagenômica das amostras.

Foram detectados gêneros contendo fatores patogênicos ou chamados de oportunistas, analisados através de metagenômica de alto rendimento onde os gêneros mais abundantes foram: *Escherichia, Acinetobacter, Aeromonas, Myroides, Enterococcus, Proteus, Pseudomonas, Streptococcus*, sendo os dois primeiros os predominantes, pertencentes ao *phylum Proteobacteria* (WANG *et al.*, 2018).

Para as bactérias a análise apresentou não somente uma redução no número de indivíduos, mas também variações na predominância dos gêneros encontrados nas análises, variando de acordo com a amostra analisada, e todas diferem significativamente do controle, demostrado na Figura 15. Assim, a

redução pode se dar pela inviabilidade dessas bacterias, devido a radioatividade do ^{131}I, ou pelo efeito mutagêncio introduzido pelo mesmo no DNA das bacterias.

Os resultados obtidos com a análise do efluente bruto mostraram uma predominância das bactérias do filo *Proteobacterias*, principalmente as do gênero *Pseudomonas e Acinetobacter*. Estas bactérias são consideradas as principais causadoras de infecções hospitalares devido a sua alta resistência aos antibióticos, a qual é adquirida por mutações genéticas sofridas pelo constante uso destes medicamentos, principalmente por pacientes imunossuprimidos. Não por acaso o principal foco destas bactérias está nas unidades de tratamento intensivo (UTIs). Neste estudo verificou-se uma concentração muito elevada de *Proteobactérias* no efluente da iodoterapia, que tem como medida, a internação do paciente não pelo seu estado crítico, mas para evitar a contaminação por radioatividade após o tratamento com ^{131}I.

Os dados da Tabela 5 mostram a presença, em percentagem, destes dois gêneros de bactérias nas amostras analisadas. No efluente bruto, a presença destes dois gêneros perfaz 77,45% do total de leituras presentes. Este valor cai para 54,15% na amostra 2. Porém, a maior redução foi verificada com as bactérias do gênero *Pseudomonas*, cuja presença diminui de 43,37% no efluente bruto para 6,05% na amostra 3. Esta redução demonstra, o efeito negativo do ^{131}I sobre as bactérias deste gênero. O baixo valor encontrado na amostra 4 está também influenciado pela diminuição do substrato (alimento) presente na amostra.

Em relação às bactérias do Gênero *Acinetobacter*, houve uma redução de 58% do seu número na segunda amostra, se comparada com o seu número no efluente bruto. Porém, diferente das *Pseudomonas*, o número de *Acinetobacter* aumenta novamente na amostra 3, atingindo 65% do total de bactérias nesta amostra. Após 24 dias de teste, seu número cai para 28,26% do total. Este comportamento deste gênero demonstra que elas podem se adaptar rapidamente aos efeitos do radioisótopo, fazendo com que elas se multipliquem novamente.

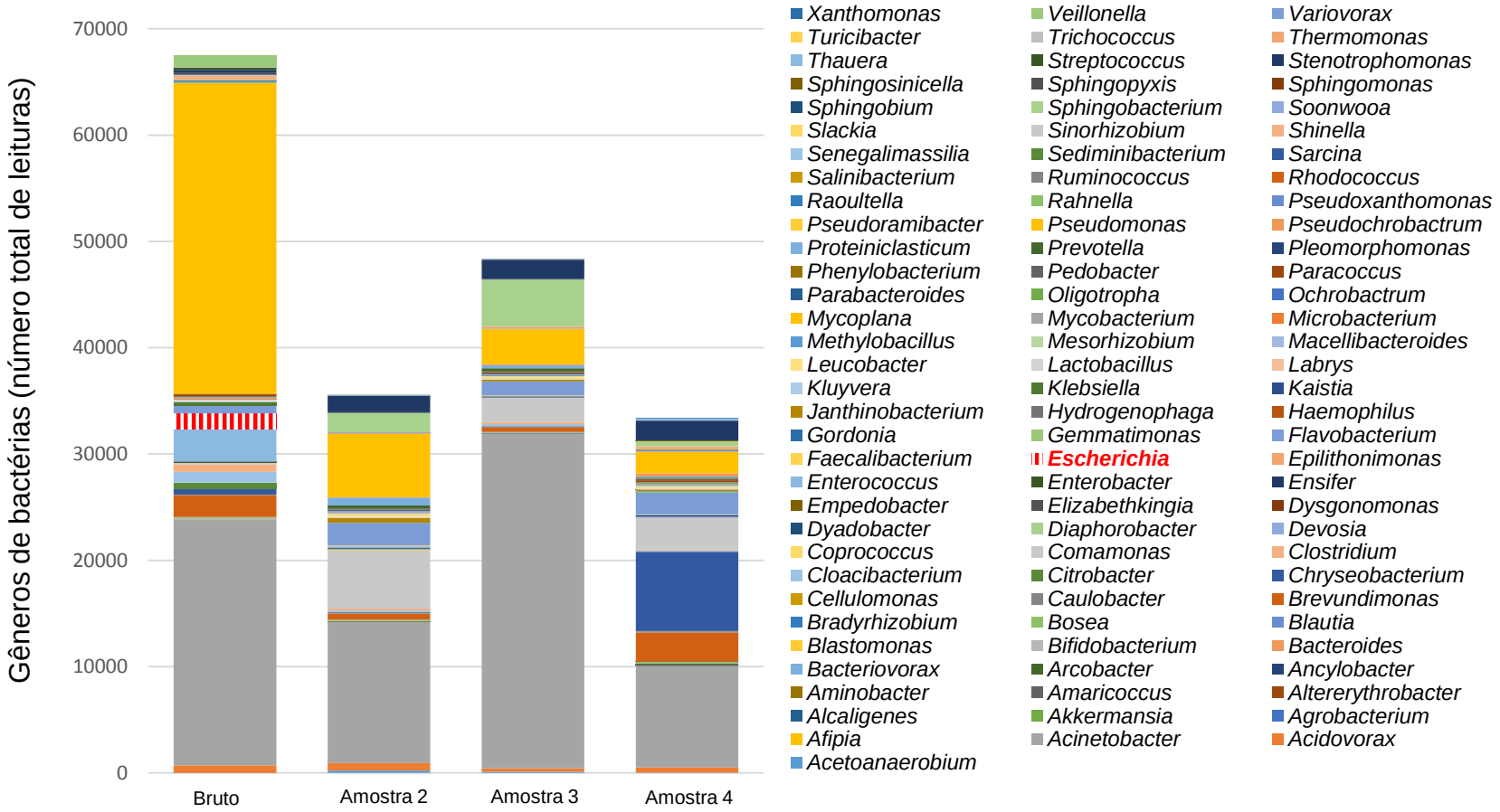
Vários gêneros de bactérias e fungos foram identificados apenas no efluente bruto. No efluente contaminados já não foi possível identificar a sua presença. O gênero *Escherichia* retrata este comportamento, visto também anteriormente na figura 11 onde os coliformes são afetados pela radioatividade

e reduzidos drasticamente. Este gênero foi identificado apenas no efluente bruto numa quantidade de leituras igual a 1480 (2,12% do total), sendo que nas amostras do 8, 16 e 24 dias já não foi identificada a presença deste gênero.

Tabela 5 - proporção em (%) de *Proteobactérias* dos gêneros *Pseudomonas e Acinetobacter*, nas amostras da análise de sequenciamento genético, no efluente bruto (coluna 1), na amostra 2 (coluna 2), na amostra 3 (coluna 3) e na amostra 4 (coluna 4).

Amostras	***Proteobactérias*** ***Pseudomonas (%)***	***Acinetobacter (%)***
Bruto	43,37	34,08
Amostra 2	16,74	37,41
Amostra 3	6,85	65,09
Amostra 4	6,05	28,26

Figura 15 - Representação gráfica do número total de leituras dos gêneros de bactérias, em proporção, contidas nas amostras da análise de sequenciamento genético, do efluente da iodoterapia para: controle bruto (coluna1), AM 2 (coluna 2), AM 3 (coluna 3) e AM 4 (coluna 4).



As bactérias e genes resistentes, modificados a partir de alterações genéticas, podem facilmente, e em um curto período de tempo, transferir esta mutação de forma linear através da proximidade de células bacterianas dentro de um mesmo biofilme ou micronicho (GARBISU et al., 2018).

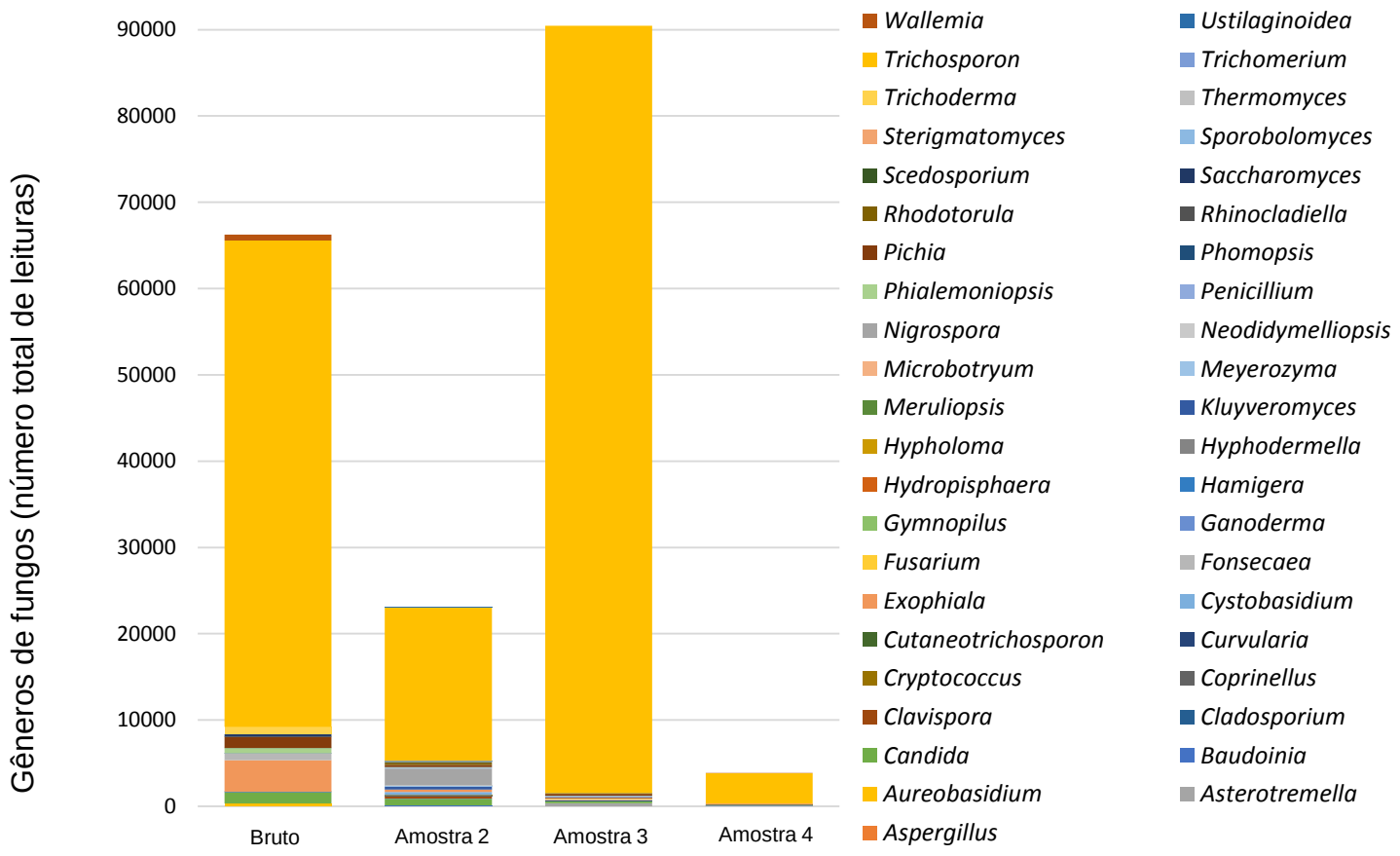
Para os fungos, assim como para as bactérias, houve um filo predominante nas análises. O comportamento da população de fungos apresentou não somente uma redução no número de leituras, mas também variações na predominância dos gêneros encontrados de acordo com a amostra analisada.

O efluente bruto apresenta um número total de leituras de gêneros de fungos de 66.592 (Figura 16), com uma redução de 66% das leituras na amostra 2. Essa redução pode estar associada entre outras, às condições de estresse imposta pela presença do ^{131}I. Os filos predominantes no efluente bruto foram os *Ascomycota e Basidiomycota*, sendo que este último corresponde a 81% dos fungos presentes. Dentre as espécies, a *Trichosporon Jirovecii e Trichosporon Montevidense***,** ambas pertencente ao filo *Basidiomycota*, predominam nas amostras.

A amostra 2 apresenta uma redução de 66% de leituras totais em relação à amostra bruta, porém, a predominância do gênero *Trichosporon* se mantém. Na amostra dos 16 dias, está predominância fica mais clara, uma vez que a este gênero corresponde a 98% do total de leituras existente na amostra 3. Esta amostra apresentou também um aumento de 392% no número total de indivíduos. Embora a amostra 3 tenha verificado um aumento do número de indivíduos, houve uma redução no número de gêneros presente. Alguns gêneros foram identificados apenas no efluente bruto, sendo que nas amostras 2, 3 e 4 já não foi possível identificá-los.

A redução populacional da amostra 4, que corresponde a um tempo de retenção de 24 dias, pode ser explicada por três hipóteses: (a) os fungos foram eliminados pela toxicidade do efluente relacionado à presença do ^{131}I, (b) os fungos entraram em estado de esporulação devido ao estresse causado pelo ^{131}I, (c) ou ainda houve alguma alteração no código genético das espécies, não reconhecidas pelo banco de dados da biblioteca da Neoprospecta.

Figura 16 - Representação gráfica do número total de leituras dos gêneros de fungos encontrados nas análises de sequenciamento genético do controle bruto, Amostra 2, Amostra 3 e Amostra 4.



Algumas espécies do gênero *Trichosporon* são comumente causadoras de infecções em pacientes imunossuprimidos, além de serem multirresistentes. Estas espécies estão se tornando clinicamente muito importantes, pela série de doenças que podem acometer à pacientes suscetíveis com baixa imunidade (TAP et al., 2016).

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos durante o monitoramento do decaimento da radiação ionizante com os dosímetros demonstrou que a radiação contida nos efluentes com ^{131}I apresenta valores significativamente maiores que o permitido para o lançamento destes efluentes no meio ambiente. Embora a meia vida do ^{131}I seja e 8 dias, a sua adsorção no sedimento pode prolongar a sua permanência no meio ambiente. Dessa forma, ele possui potencial para introduzir impactos importantes no meio do ecossistema onde for lançado. Os valores de radiação ionizante medidos demonstra que é necessária a adoção de medidas preventivas de controle, capazes de permitir o decaimento da radiação do efluente antes dele ser lançado no meio ambiente.

Em relação às características físico-químicas do efluente, a presença do ^{131}I não alterou os valores dos parâmetros analisados. Os valores da DBO5 apresentaram uma redução de 70% durante o teste, porém, essa redução está associada ao consumo do substrato carbonáceo pelos microrganismos.

A análise de decaimento da radiação ionizante contida no efluente, apresentou resultados compatíveis com a literatura, sendo que o decaimento desta radiação mostrou um tempo de meia vida de oito dias. Os resultados também mostraram que a utilização de dosímetros termoluminescentes é eficaz para este tipo de análise, corroborando com o descrito na literatura.

O teste de ecotoxicidade mostrou que o ^{131}I não é ecotóxico, para a finalidade que antecede o Ensaio Cometa, uma vez que a *Daphnia magna,* não apresentou características de imobilidade ou morte durante o ensaio. No entanto, a análise do ensaio cometa demostrou que os efeitos da radiação ionizante do ^{131}I nas células das *Daphnia magna* são extremamente destrutivos, apresentado níveis de dano entre classe 3 e classe 4 na maioria das amostras, sendo que o nível máximo de dano é da classe 4. Neste sentido, o ^{131}I não somente é toxico ao organismo teste, mas muito genotóxico.

O sequenciamento genético das amostras, permitiu uma identificação dos microrganismos contidos no efluente bem como sua variação dentro de cada etapa da amostragem, comprovando o efeito da genotoxicidade da radiação carreada pelo efluente, reduzindo o número total de leituras dos gêneros de bactérias nas análises, pela inviabilidade das mesmas, o que não permite mais

a sua identificação taxonômica. Outro fato apresentado pelo sequenciamento é a prevalência nas amostras das bactérias do filo Proteobacteria, principais causadoras de infecções hospitalares e até então limitadas às Unidades de Tratamento Intensivos (UTIs). Estas bactérias são organismos oportunistas e multirresistentes, por modificação genética, que pode ser potencializada pelo efeito da radiação, alterando significativamente as características genéticas destes indivíduos.

Os fungos tiveram um número menor de leituras, se comparados com as bactérias. E o seu número diminui nos efluentes contendo ^{131}I, tendo certos gêneros apresentado uma suscetibilidade maior à radiação.

Este trabalho traz uma nova abordagem sobre o efluente da iodoterapia, potencialmente poluidor quando descartado sem as precauções recomendada. O potencial genotóxico da radiação ionizante derivada do ^{131}I, comprovado neste estudo, não deixa dúvidas da modificação que pode ser causado na biota do ecossistema onde este efluente será descartado. Os efeitos da modificação genética de fungos e bactérias, pode alterar as características de comunidades inteiras presentes no ecossistema.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 12713**: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com Daphnia spp. (Cladócera, Crustácea). 3. ed. São Paulo, 2009.

ALABARTE, FG, Santos, CEL., Santos, SA, Xavier, AM, **Comparação de medidas de atividade dos radioisótopos de ^{131}I e 99mTC empregados em serviços de medicina nuclear de Porto Alegre**. Porto Alegre, 2004.

AMANO, Y. **Radiation protection and safety of radiation sources**: international basic safety standards. 2011.

ARAMI, S.; AHMADI, A.; HAERI, S. A. **The radioprotective effects of Origanum vulgare extract against genotoxicity induced by 131I in human blood lymphocyte**. Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals, v. 28, n. 3, p. 201-206, 2013. ISSN 1084-9785.

BITELLI, T. **Dosimetria e higiene das radiações**. São Paulo: Grêmio Politécnica, 1982 – 1º edição;

CAROLAN, J. V.; HUGHES, C. E.; HOFFMANN, E. L. **Dose assessment for marine biota and humans from discharge of 131 I to the marine environment and uptake by algae in Sydney, Australia**. Journal of environmental radioactivity**,** v. 102, n. 10, p. 953-963, 2011. ISSN 0265-931X.

CHEIS, D. **Remoção de nutrientes, como fósforo e nitrogênio, no tratamento de esgotos**. Revista TAE especializada em tratamento de água & efluentes, 2014.

CHITNIS, V. et al. **Bacterial population changes in hospital effluent treatment plant in central India. Water Research**, v. 38, n. 2, p. 441-447, 2004. ISSN 0043-1354.

COLLINS, A. R. et al. **The comet assay: what can it really tell us? Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 375, n. 2, p. 183-193,1997. ISSN 0027-5107.

CORDI, L. et al. **Montagem, partida e operação de um sistema de lodos ativados para o tratamento de efluentes: parâmetros físico-químicos e biológicos**. Engenharia Ambiental, Espírito Santo do Pinhal, SP, v. 5, n. 1, p. 97-115, 2008.

CORTEZ, K. J. et al. **Infections caused by Scedosporium spp. Clinical microbiology reviews**, v. 21, n. 1, p. 157-197, 2008. ISSN 0893-8512.

COX, E. M.; ARAI, Y. **Environmental Chemistry and Toxicology of Iodine**. In: (Ed.). Advances in Agronomy: Elsevier, v.128, 2014. p.47-96. ISBN 0065-2113.

CONSELHO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR - CNEM. Norma de Diretrizes Básicas de Proteção Radiológica – **NE- 3.01**, CNEN. 2011.

CONSELHO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR - CNEM. Requisitos de Segurança e Proteção Radiológica Para Serviços de Medicina Nuclear – **NE-3.05**, CNEN. 2013.

CONSELHO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR - CNEM. Gerência de Rejeitos Radioativos de Baixo e Médio Níveis de Radiação – **NE- 8.01**, CNEN. 2014.

DIELMAN,RW., **A Report on Hospital Effluent Problems with Low Level Radioisotopes, Environment International**. Pergamon Press. Palos Heights, USA. 1978; (1):51-53.

DE IODO, D. **INSTITUTO DE ENERGIA ATÔMICA**. 1978. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

DEMIROĞLU, H. et al. **Effectiveness of Linezolid, 127 I-Linezolid and 131 I-Linezolid Against Methicillin-Susceptible Staphylococcus Aureus by Time Kill Curve Methods**. Molecular Imaging & Radioisotope Therapy, v. 24, n. 1 2015. ISSN 2146-1414.

EISENBUD, M. Gesell, T. **Environmental Radiocactivity. Fourth Edition**. Cidade: São Paulo, Editora Elsevier, 1997. Disponível em: http://www.sitedirect.com

EICHHOLZ, G. G. **Applying Radiation Safety Standards in Radiotherapy.** Health Physics**,** v. 92, n. 2, p. 186, 2007. ISSN 0017-9078.

FISCHER, H. W. et al. **Medical radioisotopes in the environment–following the pathway from patient to river sediment.** Journal of environmental radioactivity, v. 100, n. 12, p. 1079-1085, 2009. ISSN 0265-931X.

FONSECA, C. A.; PEREIRA, D. G. **Aplicação da genética toxicológica em planta com atividade medicinal**. Infarma, v.16, nº 7-8, 2004

George Shaw Division of Agricultural & Environmental Sciences, University of Nottingham, University Park, Nottingham, NG7 2RD, UK **Radioactivity in the Environment**. Elsevier Ltd. 2007(10).

GOMES, A. C. et al. **Caracterização das infecções relacionadas à assistência à saúde em unidade de terapia intensiva**. Revista de enfermagem UFPE on line-ISSN: 1981-8963, v. 8, n. 6, p. 1577-1585, 2014. ISSN 1981-8963.

GUTIERREZ, S. et al. **Application of the single cell gel electrophoresis (SCGE) assay to the detection of DNA damage induced by 131I treatment in hyperthyroidism patients**: Oxford University Press and United Kingdom Environmental Mutagen Society 1998.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, V. **Trimed Spearman-Karber method for estimating medial lethal concentrations in toxicity bioassays**. Environ. Sci. Technol., v.7, p.714-719, 1977.

HORMANN, V.; FISCHER, H. W. **The physicochemical distribution of 131I in a municipal wastewater treatment plant**. Journal of environmental radioactivity, v. 178, p. 55-62, 2017. ISSN 0265-931X.

HOWE, JR., Hunt, AE, **Swan thyroid glands and river algae as indicators of iodine-125 and iodine-131 in the river trent and its tributaries**. The Science of the Total Environment. , Elsevier. Science Publishers B. V., Amsterdam.1984 (35):387-401.

HYPERTHYROIDISM PATIENTS: Oxford University Press and United Kingdom Environmental Mutagen Society 1998.

International Atomic Energy Agency - IAEA. **Regulatori Control of radioactive discharge to the envaironment**: Safety guide. Vienna: IAEA; 2000.

JANSSENS, A., Necheva, C., Tanner, V., Turai, I. **The new Basic Safety Standards Directive and its implications for environmental monitoring** - Journal of Environmental Radioactivity. 2013 (125):99-104.

JAFARPOUR, S. M. et al. **The radioprotective effects of curcumin and trehalose against genetic damage caused by I-131**. Indian journal of nuclear medicine: IJNM: the official journal of the Society of Nuclear Medicine, India, v. 33, n. 2, p. 99, 2018.

KAMMANN, U. et al. **A permanent fish cell line (EPC) for genotoxicity testing of marine sediments with the comet assay**. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, v. 498, n. 1, p. 67-77, 2001. ISSN 1383-5718.

KLAASSEN, C D.; WATKINS. **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull**. 2. ed. Porto Alegre: McGraw-Hill, 2012. xii, 460 p.

KRAWCZYK, E., Piñero, GF, Ferro, GM.A., 2012. **Discharges of nuclear medicine radioisotopes in Spanish hospitals**. J. Environ. Radioact. 2013; (116):93-8.

MONTAÑA, M., Camacho, A., Devesa, R., Vallés, I., Céspedes, R., Serrano, I., Blàzquez, S., Barjola, V., 2011. **The presence of radioisotope in wastewater treatment plants in Spain and their effect on human health**. *J. Environ. Radioact*. 2011 (60):77-82.

MCGOWAN, D. et al**. Iodine-131 monitoring in sewage plant outflow. Journal of Radiological Protection**, v. 34, n. 1, p. 1, 2013. ISSN 0952-4746.

MEZZOMO, T. R.; NADAL, J. **Efeito dos nutrientes e substâncias alimentares na função tireoidiana e no hipotireoidismo**. DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde, v. 11, n. 2, p. 427-443, 2016.

METZKER, M. L. **Sequencing technologies—the next generation**. Nature reviews genetics, v. 11, n. 1, p. 31, 2010. ISSN 1471-0064.

MOURA, D. C.; LOBO, E. A.; RIEGER, A. **Aplicação de ensaios ecotoxicológicos e genotoxicológicos utilizando Daphnia magna E Eisenia andrei como bioindicadores em solos de cultivo de tabaco orgânico e convencional, município de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil**. In: Adriane Theodoro Santos Alfaro;Daiane Garabeli Trojan. (Org.). DESCOBERTAS DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS 2. 1ed.Belo Horizonte: Atena, 2017, v. 2, p. 288-308.

MOURA, D. C.; SOUSA, C. M. M.; RIEGER, A.; LOBO, E. A. **Avaliação da qualidade da água de nascentes na bacia do Arroio Andréas, RS, Brasil, através de ensaios ecotoxicológicos e gentoxicológicos utilizando o ensaio cometa**. In: Vanessa Bordin Viera; Natiéli Piovesan. (Org.). Biotecnologia: Aplicação tecnológica nas ciências agrárias e ambientais, ciência dos alimentos e saúde. 1ed.Belo Horizonte: Atena, 2017, v. 1, p. 19-38.2

NYGREN, U. et al. **Rapid breakthrough of 131I in an in vitro human epidermis model**. Toxicology in Vitro, v. 42, p. 287-291, 2017. ISSN 0887-2333.

OLIVEIRA, M. C. **Respostas ecotoxicológicas e genotóxicológicas do anelídeo Eisenia andrei exposto a solos de cultivo de tabaco com manejo orgânico e convencional**. 2015. 50f. Dissertação (Curso de Ciências Biológicas / Bacharelado – Graduação). Universidade de Santa Cruz do Sul. Santa Cruz do Sul, 2015.

PEZERICO, E. U. **Avaliação da descarga de isotopos radioativos no efluente de um hospital geral referência também em oncologia na cidade de Porto Alegre** – Projeto de conclusão do Curso de Especialização em Engenharia Clínica ISCMPA – Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre e UFCSPA – Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, RS, 2014.

PINHEIRO, L. G. **Metagenômica de microrganismos aquáticos como ferramenta para a análise da saúde coletiva no semiárido**. 2017. Universidade Federal do Rio Grande do Norte

ROSE, PS., Swanson, RL., Cochran, JK., **Medically-derived 131I in municipal sewage effluent,** Marine Sciences Research Center, School of Marine and Atmospheric Sciences, Stony Brook University, Stony Brook, NY, USA, 2012.

RISSATO, ML. **Avaliação crítica de procedimentos de precaução e manuseio dos rejeitos radioativos gerados em unidade de internação hospitalar**, Centro Universitário de Araraquara - UNIARA, Araraquara-SP, 2007.

SHAW, G. **Radioactivity in the terrestrial environment**. Elsevier, 2007. ISBN 0080474896.

SOUSA, N. S. et al. **Effects of sewage on natural environments of the Amazon region (Pará-Brazil)**. Journal of Coastal Research, v. 75, n. sp1, p. 158-162, 2016. ISSN 1551-5036.

SU, C. et al. **Culture-independent methods for studying environmental microrganisms: methods, application, and perspective**. Applied microbiology and biotechnology, v. 93, n. 3, p. 993-1003, 2012. ISSN 0175-7598.

SAPIENZA, MT. Willegaignon, J. Ono RC, Watanabe, T. Guimarães, MICC, Gutterres FR, et al. **Radioiodoterapia do carcinoma diferenciado da tireoide: impacto radiológico da liberação hospitalar de pacientes com atividades entre 100 e 150 mCi de ^{131}I**. Arq Bras Endocrinol Metab. 2009;53(3).

TAUHATA, L., Salati, IPA., Prinzio, RD., Prinzio, MARRD., **Radioproteção e Dosimetria: Fundamentos**.IRD/CNEM. 5º revisão. Rio de Janeiro, 2013.

TAP, R. M. et al. **Subcutaneous infection associated with Trichosporon ovoides: a case report and review of literature.** Mycopathologia, v. 181, n. 3-4, p. 285-290, 2016. ISSN 0301-486X.

TOMIDA, R. M. **Determination of 131 I and thorium in urine**. 1978.

TUBIANA, M., Bertim, M., **Radiobiologia e Radioproteção**. Rio de Janeiro, Uiverso da Ciência edições 70 – 1989.

VERKOOIJEN, R. B. et al. **The incidence of second primary tumors in thyroid cancer patients is increased, but not related to treatment of thyroid cancer**. European Journal of Endocrinology, v. 155, n. 6, p. 801-806, 2006. ISSN 0804-4643.

VON SPERLING, M. **Princípios básicos do tratamento de esgotos**. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de …, 1996. ISBN 8585266058.

WANG, Q.; WANG, P.; YANG, Q. **Occurrence and diversity of antibiotic resistance in untreated hospital wastewater**. Science of The Total Environment, v. 621, p. 990-999, 2018. ISSN 0048-9697.