

**Nota Técnica N°108 do Grupo Técnico de Acompanhamento do Programa de
Monitoramento Quali-Quantitativo Sistemático de Água e Sedimentos do rio
Doce, Zona Costeira e Estuários, instituído pelo Comitê Interfederativo – Termo
de Transação e Ajustamento de Conduta**

Brasília, 14 de março de 2023

Assunto: Ajuste de Validador para *Chironomidae*.

1. INTRODUÇÃO E HISTÓRICO

Em conformidade com a Nota Técnica N° 95 do Grupo Técnico de Acompanhamento do Programa de Monitoramento Quali-Quantitativo Sistemático de Água e Sedimentos do rio Doce (GTA - PMQQS), no qual o PMQQS foi implementado para cumprir as cláusulas 177 e 179 do Termo de Transação e de Ajustamento de Conduta (TTAC), destaca-se o “II Seminário de Revisão do PMQQS”, ocorrido em duas partes: a Parte I, entre os dias 24 e 26 de agosto de 2022, em Belo Horizonte/MG; e a Parte II, entre os dias 12 e 15 de setembro de 2022, em Vitória/ES.

No documento de revisão, a tabela 2 aborda as alterações nos parâmetros amostrados no PMQQS e indica a inclusão dos parâmetros Metilmercúrio e Arsênio III e V, que são espécies de mercúrio e arsênio encontradas em pescado da região do rio Doce, estuário e ambiente marinho. Esses parâmetros foram incorporados devido à possibilidade de suas concentrações apresentarem potencial de toxicidade ao meio ambiente quando detectadas. Vale ressaltar que essas espécies foram incluídas como parâmetros de monitoramento devido à probabilidade de maiores concentrações no sedimento, associada a capacidade de adsorção desta matriz. Adicionalmente, foi introduzido o teste de toxicidade em organismos mais representativos para sedimentos, conforme a norma OECD Test N° 235: *Chironomus sp.* Nesse contexto, prosseguimos com a análise técnica referente à validação dos dados monitorados no Programa.

Ressalta-se que este trâmite esteve em apresentação na 72ª Reunião Ordinária da Câmara Técnica de Segurança Hídrica e Qualidade da Água, cuja validação foi

suspensa por necessidade de apresentação de proposta por parte da Fundação Renova, e que esta análise está atualizada neste documento.

2. ANÁLISE TÉCNICA

Durante a revisão do PMQQS, foi decidido incluir testes de toxicidade de sedimentos com Chironomidae, referenciados nos Test nº 235 da OECD para agudo e Test. nº 233 OECD para crônico. Diante da dificuldade em encontrar um laboratório certificado capaz de lidar com o volume de amostras coletadas, a Fundação Renova, após justificação, propôs a realização dessa análise em um laboratório sem acreditação. A busca por um laboratório adequado para atender às exigências do PMQQS foi conduzida pela Fundação Renova, com um retorno programado até o final de novembro/2022, para eventuais encaminhamentos necessários.

No teste de validação, conforme estabelecido pela norma de referência Test. nº 235 da OECD para avaliação aguda de *Chironomus sp*, mediante a aplicação dos critérios de desempenho, nas amostras controle, incluindo o subgrupo tratado como solventes, é determinado que não mais do que 15% das larvas devem apresentar imobilização ou quaisquer outros sinais de doença ou estresse ao término do teste. O documento citado informa o seguinte:

“For a test to be valid, the following performance criteria apply: In the control, including the solvent control if appropriate, not more than 15 percent of the larvae should show immobilisation or other signs of disease or other stress (e.g. abnormal appearance or unusual behaviour, such as trapping at the water surface) at the end of the test.

The dissolved oxygen concentration at the end of the test should be ≥ 3 mg/L in control and test vessels.”

TRADUZINDO:

“Para que um teste seja válido, aplicam-se os seguintes critérios de desempenho: No controle, incluindo o controle do solvente, se apropriado, não mais de 15 por cento das larvas devem apresentar imobilização ou outros sinais de doença ou outro estresse (por exemplo, aparência anormal ou aparência incomum, comportamento, como o aprisionamento na superfície da água) no final do ensaio.

A concentração de oxigênio dissolvido no final do teste deve ser ≥ 3 mg/L nos recipientes de controle e teste.”

Este teste em seu escopo considera em uma análise com sedimento um “*endpoint*” de uma análise exclusiva em água, onde certamente 15% faz sentido devido às restrições impostas pelo meio.

A Fundação Renova apresentou o seguinte: “O laboratório *Aplysia* recomenda utilizar um validador que já é adotado pela CETESB em seu protocolo de ensaio CETESB - SQ PR/LB 153: Ensaio ecotoxicológico com *Chironomus sancti-caroli* – sedimento. Para outras espécies, tanto a USEPA (EPA 600/R-99/064: *Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates*) para *Chironomus tentans* quanto a ASTM para *Chironomus dilutus* (formely *tentans*) (E 1706 - 05: *Standard Test Method for Measuring the Toxicity of Sediment-Associated Contaminants with Freshwater Invertebrates*) também utilizam esse validador para os ensaios serem válidos. Esse validador é considerado adequado pois os insetos passam por transformações sensíveis no sedimento. O validador é em razão da percentagem de organismos mortos no sedimento controle, isto é, **“percentagem de organismos mortos no sedimento controle” deve ser inferior a 30%.**”

Observando a norma citada na sugestão, diz-se o seguinte na tabela 12.3 “*Test Acceptability Requirements for a 10-d Sediment Toxicity Test with Chironomus tentans*” (Requisitos de aceitabilidade do teste para um teste de toxicidade de sedimentos de 10 dias com *Chironomus tentans* - tradução nossa):

A. It is recommended for conducting a 10-d test with C. tentans that the following performance criteria be met:

- 1. Tests must be started with second- to third-instar larvae (about 10-d-old larvae; see Section 10.4.1).*
- 2. Average survival of C. tentans in the control sediment must be greater than or equal to 70% at the end of the test.*
- 3. Average size of C. tentans in the control sediment must be at least 0.48 mg AFDW (ash-free dry weight) at the end of the test.*
- 4. Hardness, alkalinity, and ammonia in the overlying water typically should not vary by more than 50% during the test, and dissolved oxygen should be maintained above 2.5 mg/L in the overlying water.*

TRADUZINDO:

A. É recomendado para a realização de um teste de 10 dias com *C. tentans* que os seguintes critérios de desempenho sejam atendidos:

1. Os testes devem ser iniciados com larvas do segundo ao terceiro estágio (larvas com cerca de 10 dias de idade; ver Secção 10.4.1).
2. A sobrevivência média de *C. tentans* no sedimento controle deve ser maior ou igual a 70% ao final do teste.
3. O tamanho médio de *C. tentans* no sedimento de controle deve ser de pelo menos 0,48 mg AFDW (peso seco sem cinzas) no final do teste.
4. A dureza, a alcalinidade e a amônia na água sobrejacente normalmente não devem variar em mais de 50% durante o teste e devem ser dissolvidas o oxigênio deve ser mantido acima de 2,5 mg/L na água sobrejacente.

Adicionalmente, foi realizado um levantamento com as normativas existentes referentes à esta espécie, quanto dos testes ecotoxicológicos.

A espécie *Chironomus riparius* (Meigen, 1804) e *Chironomus tentans* (Fabricius, 1805) são amplamente utilizados internacionalmente em testes com sedimentos (USEPA, 2000; OECD, 2004). No Brasil, a CETESB utiliza *Chironomus xanthus* (Rempel, 1939) em uma análise ambiental denominada como tríade de qualidade dos sedimentos, que integra análises químicas, biológicas e ecotoxicológicas (Chapman, 1986, 1989, 1990; Chapman et al., 11 1997). Embora exista a diretriz de utilizar *Chironomus xanthus* para testes com sedimentos, ainda não foi estabelecida uma norma técnica nacional específica, sendo sugerida a adoção da metodologia da EPA (2000) para *Chironomus tentans* (Dornfeld, 2006).

Entretanto, é relevante observar que, de acordo com a norma adotada pelo laboratório Aplysia, a porcentagem mencionada anteriormente é superada, levando em consideração exclusivamente a sobrevivência dos organismos não incorporando os sinais de doenças ou estresse mencionados na norma OECD, conforme descrito na Nota Técnica nº 95 que revisou o PMQQS em 2022. Nessa perspectiva, o GTA-PMQQS sugere que o laboratório Aplysia leve em consideração, além da sobrevivência dos organismos, a avaliação de imobilização ou sinais de doença, conforme norma padrão

referida na mencionada Nota Técnica. Neste primeiro momento a porcentagem poderá estar abrangente (além dos 15% sugeridos pela norma), com intuito de avaliarmos o desempenho dos resultados. Podendo ser ajustados conforme o acompanhamento.

2. CONCLUSÕES

Considerando o parâmetro Chironomidae é recentemente utilizado como indicador de qualidade no Brasil, é imperativo, além da utilização do validador proposto pela Fundação Renova, considerar não apenas a sobrevivência dos organismos, mas também a avaliação de imobilização ou sinais de doença, conforme a norma padrão mencionada na Nota Técnica.

Baseada na experiência da CETESB e no histórico de 30 controles realizados no laboratório Aplysia, ressalta-se que os dois validadores viáveis, atualmente, para ensaios de amostras ambientais em sedimento são o percentual de letalidade e o percentual de deformidade do mento. Sendo estes:

- 1) A porcentagem de organismos mortos no sedimento controle deve ser inferior a 30%;**
- 2) A porcentagem de deformidade do mento no sedimento controle deve ser inferior a 20%.**

Visando contribuir com a disseminação desse organismo-teste em nosso país, sugere-se iniciar um trabalho de padronização e intercalibração laboratorial, buscando validar os ensaios propostos junto aos pesquisadores acadêmicos e apresentá-los junto à ABNT como uma proposta metodológica para o Brasil. Assim que esta metodologia estiver normalizada, deverá este assunto surgir para possíveis ajustes neste monitoramento.

REFERÊNCIAS

CETESB. Qualidade das águas interiores do estado de São Paulo. 2021. 287p. Disponível em <<https://acesse.one/K9nuK>>

CETESB. SQ PR/LB 153: ensaio ecotoxicológico com *Chironomus sancticaroli* – sedimento. Versão 14. São Paulo, 2021b. 8 p.

OECD. *Chironomus* sp., acute immobilization test. Adopted 28 July 2011. 17 p. (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 235).

UNITED STATES. Environmental Protection Agency. Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. 2. ed. Washington, D.C.: USEPA, 2000. 213 p. (EPA 600/R-99/064 March 2000).

Equipe Técnica responsável pela elaboração da Nota Técnica:

- Juliano de Oliveira Barbirato (IEMA/ES);
- Ana Kelly Simões Rocha (IEMA/ES);
- Vanessa Saraiva (IGAM/MG).

Nota Técnica aprovada em 21/03/2024

Maurrem Ramon Vieira
Coordenação do GTA PMQQS