

CENTRO UNIVERSITARIO DE ARARAQUARA

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO REGIONAL
E MEIO AMBIENTE**

**IDENTIFICAÇÃO DO FÁRMACO CITOTÓXICO
FLUORURACILA (5-FU) NO RIBEIRÃO DAS PITANGUEIRAS -
BARRETOS/SP**

CARLOS CESAR FRUTUOSO

**ARARAQUARA
2014**

CENTRO UNIVERSITARIO DE ARARAQUARA**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO REGIONAL
E MEIO AMBIENTE****IDENTIFICAÇÃO DO FÁRMACO CITOTÓXICO
FLUORURACILA (5-FU) NO RIBEIRÃO DAS PITANGUEIRAS -
BARRETOS/SP**

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente, curso de Mestrado, do Centro Universitário de Araraquara – UNIARA – como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento Regional e meio Ambiente.

Área de Concentração: Dinâmica Regional e Alternativas de Sustentabilidade.

Orientado: Carlos Cesar Frutuoso

Orientadora: Prof.^a Dra. Vanessa Colombo Corbi

**ARARAQUARA
2014**

FICHA CATALOGRÁFICA

F964i FRUTUOSO, Carlos Cesar

Identificação do fármaco citotóxico fluoruracila (5-FU) no Ribeirão das Pitangueiras - Barretos/SP/Carlos Cesar Frutuoso. - Araraquara: Centro Universitário de Araraquara, 2014, 78f.

Dissertação (Mestrado) – Centro Universitário de Araraquara.
Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente.

Orientadora: Profa. Dra. Vanessa Colombo Corbi

1. Câncer. 2. Quimioterapia. 3. Fluoruracila. 4. Sedimentos.

I. Título.

CDU 504.03



Centro Universitário de Araraquara

Rua Voluntários da Pátria, 1309 - Centro - Araraquara - SP
CEP 14801-320 - Caixa Postal 68 - Fone/Fax: (16) 3301-7100

www.uniara.com.br

FOLHA DE APROVAÇÃO

NOME DO ALUNO: *Carlos Cesar Frutuoso*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente, curso de Mestrado, do Centro Universitário de Araraquara – UNIARA – como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente.

Área de Concentração: Dinâmica Regional e Alternativas de Sustentabilidade.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Maria Lúcia Ribeiro
UNIARA - Araraquara

Prof. Dr. Juliano José Corbi
USP – São Carlos

Prof. Dra. Vanessa Colombo
UNIARA - Araraquara

Araraquara – SP, 28 de novembro de 2014

AGRADECIMENTOS

Escrever os meus agradecimentos torna-se algo grandioso, pois nestes últimos meses não imaginava que conheceria pessoas tão maravilhosas que passaram a ser um divisor de águas. Os amigos que fiz no mestrado da UNIARA com certeza vou levar para vida toda.

Todos do mestrado, alunos, funcionários e professores são os responsáveis pelo meu crescimento acadêmico e acima de tudo pelo meu crescimento pessoal.

Para os professores Dra. Vera L. Bota Ferrante, Dr. Leonardo Rios, Dr. Zildo Gallo, Dra. Janaina F. F. Centrão, Dr. Oriowaldo Queda, Dra. Flavia C. Sossae, Dra. Dulce C. A. Whitaker, Dra. Maria Lucia Ribeiro e demais não tenho palavras pra descrever tamanho amor pela que faz e nos inspira.

Aos meus grandes amigos André Pipino, Fabio Pipino e Tônico que tornaram irmãos nesta caminhada, e de todos os demais que se fossem ser citados não iriam caber na página.

Ao Dr. Ricardo Pereira, técnico da UNICAMP, pelo apoio e incentivo a pesquisa.

Aos amigos que fiz ao longo do tempo, meu sobrinho Fernando, minha amiga Fabiana Lopes e outros que me incentivam sempre com pequenos gestos, como as curtidas no Facebook.

A Deus, este ser maravilhoso, que é a razão da existência humana que permite meu êxito e minha evolução nesta caminhada.

E a uma família que Deus colocou no meu caminho, como anjos para me direcionar nesta etapa da vida. Com carinho e admiração presto meus agradecimentos à família Corbi, minha orientadora Prof. Dra. Vanessa Colombo Corbi, Prof. Dr. Juliano Corbi e ao professor do Instituto de Química da UNICAMP, que muito acrescentou na minha vida acadêmica com suas sábias palavras, Prof. Dr. Pedro Corbi.

A todos minha admiração, gratidão, carinho e respeito e meu muito obrigado.

Dedico este trabalho a minha mãe Maria Dolores Prates Frutuoso, ao meu pai Jose Luiz Frutuoso (*in memoriam*) e meu filho Caio Felipe Frutuoso pelo carinho e amor para comigo nesta caminhada.

“Ser ecologista não é apenas ser contra aquilo que chama progresso, não é apenas ser anti qualquer coisa ou anti tudo ou porque está na moda, não é apenas ser por certas manifestações com seu quê de folclore (que também é, aliás, importante); ser ecologista é sobre tudo acreditar que a vida pode ser melhor se as mentalidades mudarem e tiverem em consideração os ensinamentos que a velha terra e ainda o velho Universo não cessam de nos transmitir”.

Fernando Pessoa

RESUMO

O câncer se configura como um grande problema de saúde pública mundial e no Brasil é a segunda causa de morte da população. No cuidado do paciente inúmeros fármacos são utilizados, entre eles a Fluoruracila (5-FU) um medicamento citotóxico. Em Barretos/SP situa-se um dos maiores hospitais oncológicos da América Latina. Dentro da região administrativa do município nasce o Ribeirão das Pitangueiras, com extensão de 35.900 km de onde são captadas águas para o abastecimento da população e descarte de efluentes do esgoto tratado desaguando no Rio Pardo. O presente estudo tem como objetivo identificar a presença do fármaco citotóxico Fluoruracila (5-FU) em amostras de águas no Ribeirão das Pitangueiras após o processo de tratamento do esgoto por lodos ativados. As amostras foram coletadas em 4 pontos do córrego. Na estação de tratamento de água (ETA), no ponto de lançamento da estação de tratamento de esgoto IV (ETE IV), no remanso do córrego a cerca de 800 metros da última coleta, e no ponto de lançamento da estação de tratamento III (ETE III). O preparo das amostras foi realizado conforme procedimento descrito na literatura com modificações na composição da fase móvel e a determinação do 5-FU por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e espectrometria de massas. Foi encontrada a presença do fármaco citotóxico Fluoruracila (5-FU) nas águas do Ribeirão das Pitangueiras na cidade de Barretos/SP; no ponto de lançamento da estação de tratamento IV. Nos testes de toxicidade dos sedimentos coletados nos mesmos pontos das amostras de água, houve morte larval em uma porcentagem de 13,3% o que sugere um indicio de baixa toxicidade. Com o crescimento do câncer, a aumento do fármaco fluoruracila utilizado no tratamento, chegando aos rios cada vez mais quantidade deste medicamento, devendo haver por parte da sociedade e poder publico um monitoramento mais apurado para conhecer melhor os efeitos deste medicamento no meio ambiente.

Palavra-chave: Câncer, quimioterapia, fluoruracila, sedimentos.

ABSTRACT

The cancer is configured as a major problem worldwide and in Brazil public health is the second leading cause of death of the population. Patient care, numerous drugs are used, among them Fluorouracil (5-FU) a cytotoxic drug. In Barretos/SP lies one of the largest cancer hospitals in Latin America. Within the administrative area of the city rises the Ribeirão Pitangueiras, extending 35,900 km from where the water supply to the population and wastewater discharge treated sewage flowing into the Rio Pardo are captured. This study aims to identify the presence of the cytotoxic drug Fluorouracil (5-FU) in water samples in Ribeirão Pitangueiras after the process of sewage treatment by activated sludge. Samples were collected at four points of the stream. In water treatment (ETA) station, the launching point of the sewage treatment station IV (ETE IV), the backwater of the stream about 800 meters from the last collection and the launch point of the treatment station III (ETE III). The sample preparation was performed according to literature procedure with modifications in the composition of the mobile phase and the determination of 5-FU by high performance liquid chromatography (HPLC) and mass spectrometry. Found the presence of the cytotoxic drug Fluorouracil (5-FU) in the Ribeirão Pitangueiras waters in the city of Barretos/SP; at the launch point of the IV treatment plant. In tests of toxicity of sediments collected at the same points of water samples, there were larval death in a percentage of 13.3% suggesting an indication of low toxicity. With the growth of cancer, the increased drug fluorouracil used in the treatment, reaching rivers increasingly much of this medicine and should be by society and public power a closer monitoring to better understand the effects of this medicine on the environment.

Keywords: Cancer, chemotherapy, fluorouracil, sediments.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quimioterápicos mais utilizados em algumas patologias e suas principais toxicidades.....	16
Tabela 2 - Coleta das amostras na primeira etapa experimental.....	37
Tabela 3 - Coleta das amostras na segunda etapa experimental.....	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura Química do fármaco Fluoruracila (5-FU).....	22
Figura 2 - Modelo esquemático do sistema de lodos ativados.....	26
Figura 3 - Localização administrativa de Barretos/SP.....	31
Figura 4 - Estação de Tratamento de Água	34
Figura 5 - Ponto de lançamento da Estação de Tratamento de Esgoto IV.....	34
Figura 6 - Ribeirão das Pitangueiras a cerca de 800 metros da ETE IV.....	35
Figura 7 - Ponto de lançamento da Estação de Tratamento de Esgoto III.....	35
Figura 8 - Localização dos pontos de coleta no Ribeirão das Pitangueiras (Barretos/SP).....	36
Figura 9 - Curva analítica do 5-FU linear obtida através de 5 pontos (2,0 a 10,0 µg/mL).....	43
Figura 10 - Cromatograma do 5-FU obtido a partir da diluição do medicamento utilizado na concentração de 10,0 µg/mL.....	44
Figura 11 - Cromatograma da amostra 1 coletada na ETA.....	45
Figura 12 - Cromatograma da amostra 2 coletada no ponto de lançamento da ETE IV.....	46
Figura 13 - Cromatograma da amostra 3 coletada a cerca de 800 metros da ETE IV.....	47
Figura 14 - Cromatograma da amostra 4 coletada na ETE III.....	48
Figura 15 – Espectrômetro de massas da solução-padrão do 5-FU obtido a partir da diluição do medicamento utilizado.....	49
Figura 16 - Amostra 4 coletada na ETE III analisada por espectrômetro de massas.....	50
Figura 17 - Cromatograma da solução padrão de 5-FU 10,0 µg/mL.....	51
Figura 18 - Cromatograma da amostra 2 coletada no ponto de lançamento da ETE IV.....	52
Figura 19 - Confirmação da presença do fármaco fluoruracila na mostra 2 coletada no ponto de lançamento da ETE IV por espectrômetro de massas.....	53
Figura 20 - Cromatograma da amostra 3 coletada a cerca de 800 metros do ponto de lançamento da ETE IV.....	54
Figura 21 - Cromatograma da amostra 4 coletada no ponto de lançamento da ETE III.....	55

Figura 22 – Número das larvas vivas de *Chironomus xanthus* expostas ao sedimento do Ribeirão das Pitangueiras (Barretos/SP) durante o período de estudos.....56

SIGLAS E ABREVIATURAS

5-FU - Fluoruracila

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

EESC-USP – Escola de Engenharia de São Carlos Universidade de São Paulo

EMEA – Agência Médica Européia

ESI-MS – Electrospray Ionization Mass Spectrometry (Espectrometria de Massas com Ionização por Eletrospray)

ETA – Estação de Tratamento de Água

ETE – Estação de Tratamento de Esgoto

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

INCA – Instituto Nacional do Câncer

IGC – Instituto Geográfico e Cartográfico

INCA – Instituto Nacional do Câncer

MS – Ministério da Saúde

NR 32 – norma Regulamentadora 32

OMS – Organização Mundial da Saúde

PGRQ - Programa de Gerenciamento de Resíduos Químicos

Pnao – Programa Nacional de Atenção Oncológica

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

SUS – Sistema Único de Saúde

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Câncer.....	18
1.1.1 Tratamentos	20
1.1.2 Quimioterápico Fluoruracila.....	21
1.2 Contaminantes de efluentes	23
1.2.1 Tratamento de efluentes contendo fluoruracila por lodos ativados	25
1.3 Legislação no Brasil sobre medicamentos e seu descarte.	27
2 OBJETIVOS	30
2.1 Objetivo geral.....	30
2.2 Objetivo específicos	30
3 MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 Local de estudo	31
3.2 Procedimentos metodológicos.....	32
3.2.1 Estratégia de amostragem de água no córrego	32
3.2.2 Preparação das amostras	38
3.2.3 Preparação das soluções padrão	38
3.2.4 Análise cromatográfica	39
3.2.5 Análise por espectrômetro de massas	39
3.3 Equipamentos	39
3.4 Estratégia de amostragem de sedimentos do córrego	39
3.4.1 Manutenção dos organismos teste.....	40
3.4.2 Método para teste de toxicidade utilizado-se larvas do inseto <i>C. xanthus</i>	40
4 RESULTADOS	42
4.1 Curva analítica do 5-FU.....	42
4.2 Análises cromatográficas das amostras de água.....	44
4.2 Análises de toxicidade dos sedimentos.....	55
5 DISCUSSÃO	57
6 CONCLUSÕES.....	60
REFERÊNCIAS	62
ANEXOS	66

1 INTRODUÇÃO

A especialidade médica que estuda os tumores benignos ou malignos é denominada oncologia, ramo da patologia que estuda a neoplasia, tumores que podem estar localizados ou invadir outros tecidos disseminando por todo o corpo. Devido à enorme complexidade, envolve todas as especialidades clínicas para seu tratamento específico, sendo necessária a combinação de vários fármacos (MATTHES, 2010).

O câncer configura-se como um grande problema de saúde pública mundial e no Brasil constitui-se como a segunda causa de morte da população segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). Entre as mulheres o câncer de mama é o mais comum, no entanto, com a introdução da quimioterapia para tumores considerados inoperáveis, alcançaram-se bons resultados na melhora do paciente (MATTHES, 2010).

As terapias antineoplásicas são medicações específicas que atuam nas células cancerígenas, sempre acompanhadas por um protocolo médico individualizado para cada paciente tendo como objetivo a cura ou prolongamento da vida deste. Os fármacos utilizados são medicamentos sintomáticos, empregados com o intuito paliativo, suplementos alimentares, vitaminas, ervas e drogas antineoplásicas inespecíficas (quimioterapia) e específicas (molecular) estando o paciente em tratamento sujeito a diversas toxicidades. Os efeitos quimioterápicos nos pacientes afetam a rotina física e emocional, e, por mais que evoluam os paliativos, para amenizar os efeitos colaterais nos paciente, maior é a demanda deste grupo de compostos fármacos (GAUI, 2010).

No paciente o crescimento incontrolável de células cancerígenas, dividindo-se rapidamente, tornando-se agressivas e incontroláveis, determina a formação de tumores. O tratamento quimioterápico impede o crescimento, alivia os sintomas causados pelo tumor e tem como objetivo tratar ou controlar a doença. E estes medicamentos podem ser isolados ou combinados com outras drogas com o intuito de tratar o organismo como um todo. O câncer pode se expandir para outro órgão, podendo levar o paciente à morte, pois estas metástases são mais difíceis de serem tratadas e exige medicamentos toxicológicos mais agressivos ao paciente em tratamento (GIODA, 2010).

No tratamento, dependendo do estágio da doença, são definidos tipos de drogas e concentrações a serem utilizadas. De acordo com a superfície corporal do paciente, estes fármacos podem causar infecções, sangramentos, febre, entre outros efeitos desagradáveis; de acordo com organismo, as drogas antineoplásicas agem afetando a função do DNA, limitando o crescimento do tumor (GIODA, 2010).

Na busca da cura do câncer, inúmeras pesquisas são realizadas e para cada caso, existe um tratamento específico com fármacos quimioterápicos que responda especificamente à melhora do paciente. Para Matthes (2010) caso a toxicidade da medicação aplicada responda de uma forma negativa ao tratamento, a terapia deve ser suspensa e o tratamento quimioterápico deve ser modificado.

O tratamento dos tumores cancerígenos varia de acordo com o organismo do paciente e o estágio da doença, o câncer surge por causa de uma falha do DNA; por ser uma doença onde as células mudam todo instante, tornou-se um grande desafio para os cientistas a busca da cura da doença. Em determinados casos, é indicada a combinação de vários fármacos, que dependendo do organismo são eliminados em sua maior parte através da via biliar e intestinal (MATTHES, 2010).

O trato gastrointestinal é formado por células de rápida divisão, sendo vulnerável a ação dos quimioterápicos; em razão disso, inflamação e alterações funcionais que ocasionam a diarreia. Pacientes que fazem tratamento com drogas antineoplásicas podem apresentar esses efeitos colaterais e quando não tratados ou caso apresentem diarreia de difícil controle, há o risco de desidratação, desequilíbrio eletrolítico, fraqueza, escoriação de pele e mucosa, diminuição da absorção calórica e perda de peso; portanto, devemos monitorar a quantidade, a frequência e o aspecto das eliminações intestinais. (OLIVEIRA, GRUZ e MATSUI, 2011, p. 142).

Grandes variedades de substâncias farmacêuticas estão à disposição para usos médicos, como mostra a Tabela 1; os fármacos citotóxicos compreendem uma ampla gama de medicamentos e combinação de quimioterápicos disponíveis para os profissionais da saúde. Na sua maioria, todos os medicamentos são empregados no tratamento do paciente com tumor maligno ou benigno nos hospitais oncológicos, sendo o câncer o que mais consome drogas antineoplásicas, entre eles o 5-FU (KUMMERER, 2001).

Tabela 1 - Quimioterápicos mais utilizados em algumas patologias e suas principais toxicidades

Classe	Substância ativa	Doenças	Toxicidade
Alquilantes Alquilação do DNA	Ciclosfosfamida	Mama Linfomas etc.	Hematológica Cistite hemorrágica
	Ifosfamida	Sarcoma, Linfomas	Hematológica Cistite hemorrágica Conjuntivite
	Cisplatina Carboplatina Oxaliplatina	Ovário Pulmão Testículo	Náusea e vômitos Neurotoxicidade Nefrotoxicidade
Antimetabólitos Incorporação como nucleotídeo fraudulento	Methotrexate	Mama Leucemia linfoblástica aguda (LLA)	Hepatotoxicidade Mielotoxicidade
	Premetrexede	Pulmão Mesotelioma	Mielotoxicidade
	5 Fluorouracil Fluoropirimidina orais	Estômago Cólon Mama	Diarréia Síndrome mão-pé Mielotoxicidade
	Gencitabina	Pâncreas Pulmão Ovário	Neurotoxicidade Mielotoxicidade
Inibidores de microtúbulos	Vimblastina Vincristina	Linfoma Pulmão	Neurotoxicidade Mielotoxicidade
	Paclitaxel Docetaxel	Mama Pulmão Cabeça Pescoço etc.	Neurotoxicidade Pneumonite
Análogo da camptocina	Topotecano Irenotecano	Cólon Ovário Pulmão	Diarréia Mielotoxicidade
Antibiótico	Doxorrubicina Farmorrubicina	Mama Sarcoma Linfoma etc.	Cardíaca Mielotoxicidade Mucosite
	Mitomicina	Mama Canal anal	Mielotoxicidade Sínd. hemolítica
	Bleomicina	Linfoma Testículo	Pneumonite Mielotoxicidade

Fonte: Interações medicamentosas no paciente oncológico (GAUI, 2010, p. 20).

Para o câncer de mama, estômago e cólon é indicado o fármaco fluoruracila 5-FU, agente antineoplásico da classe dos antimetabólitos, que é utilizado isoladamente

ou em combinação com outros fármacos. Trata-se de um medicamento que requer maior precaução na sua manipulação e descarte (GIODA, 2010).

Sua metabolização é feita principalmente no fígado, resultando em produtos inativos como CO₂, uréia e alfa-flúor-beta-alanina; aproximadamente 7 a 20% do fármaco é excretado pela urina na forma inalterada em seis horas e o restante metabolizado pelo fígado. Parte deste fármaco é excretada, não metabolizado pelo paciente e entra em contato com a água, na rede de esgoto comum, que com outras substâncias podem sofrer novas transformações químicas, chegando ao ambiente aquático (GAUI, 2010).

Os efluentes de esgoto que contém resíduos deste fármaco podem causar danos ao meio aquático, não havendo normas específicas na legislação quanto à concentração tolerável deste fármaco ao meio ambiente (SEIFFERT, 2007).

Para tentar diminuir a contaminação dos efluentes de esgoto e dos profissionais da área, devem ser tomadas certas precauções quanto às secreções corporais dos pacientes que receberam ou estão recebendo quimioterapia em efusão contínua, estes resíduos devem ser isolados, marcados com logotipos de material de risco, bem como os restos de soluções quimioterápicas (ANDRADE, 2009).

Os fármacos citotóxicos lançados no meio ambiente podem ser nocivos ao longo dos anos, podendo haver o surgimento de novas doenças, causado por um processo de tratamento de efluentes de esgoto inadequado no presente ou a mudança de uma cadeia ambiental. Quanto maior a quantidade de efluentes contaminantes lançados nos ecossistema aquático, maior serão as mudanças nocivas que podem ocorrer, o que nos mostra a necessidade de um sistema de fiscalização mais eficaz, para amenizar este impacto ao longo dos anos (LINHARES, 2005).

No Brasil foi criada a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) criada pela lei nº 9.782 de janeiro de 1996 é uma agência reguladora do Ministério da Saúde (MS) relacionada à regulamentação de produtos e serviços que afetam a saúde da população brasileira (ANVISA, 1996).

Mesmo com as leis vigentes, os municípios não estão preparados para tratar os esgotos contaminados por materiais quimioterápicos. Com todo o processo no tratamento dos efluentes de esgoto, estes ainda podem conter substâncias tóxicas pelos dejetos eliminados por pacientes em tratamento, configurando-se então, um grande desafio dos setores hospitalares e municipais (LINHARES, 2005).

Quanto ao monitoramento do desempenho ambiental organizacional, foi estabelecido padrão de lançamento de efluentes, pela Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) n° 357 (17/03/2005), a qual estabelece a classificação dos corpos de água (doce, salobra e salgada), provendo diretrizes ambientais para seu ajuste, bem como instituindo as condições e padrões de lançamento de efluentes (CONAMA, 2005).

A importância do processo de gestão ambiental na esfera privada reside no fato de que a organização vem se adaptando as condições cada vez mais exigentes quanto ao seu desempenho ambiental em virtude de pressões exercidas por vários agentes envolvidos no processo de gestão ambiental, entre eles: órgãos de controle ambiental (municipal, estadual e federal), comunidades circundante, ONGs ambientalistas, clientes, acionistas etc (SEIFFERT, 2007, p.56).

1.1 Câncer

Múltiplas alterações no material genético normal provocam mutações nas células, surgindo células cancerígenas, formando os tumores e adquirindo habilidade para invadir os tecidos (LOPES et al., 2008).

Para entender melhor como ocorre esse processo é preciso recordar como se dá a transmissão da informação genética presente em uma célula. A expressão gênica envolve a cópia de regiões específicas do DNA (os genes) em uma molécula de RNA mensageiro (Transcrição) e a passagem da informação contida na sequência de nucleotídeos desse mRNA (RNA mensageiro) para uma sequência de aminoácidos [...] (LOPES et al., 2008, p.15).

Durante a transformação maligna das células cancerígenas, a célula é capaz de transmitir suas características fenotípicas para as células filhas; este processo complexo envolve múltiplos estágios sendo que em alguns casos apresentam alta incidência familiar, entende-se então, que é uma doença de padrão mediano de herança genética (LOPES et al., 2008).

Tumor ou neoplasia é uma massa que não tem função útil. O tumor benigno não tem a capacidade de se desenvolver em outras partes do corpo, podendo ser removido por cirurgia, e não volta a crescer enquanto o tumor maligno, considerado câncer,

caracteriza-se por invadir outros órgãos ou tecidos, desenvolvendo-se por todo corpo (OLIVEIRA et al., 2011).

Aproximadamente 10,5 milhões de novos casos de câncer são previstos por ano, sendo a segunda causa de morte nos países em desenvolvimento, sabendo-se hoje que 10% das neoplasias malignas são hereditárias enquanto as esporádicas são adquiridas ao longo da vida havendo envolvimento de agentes físicos, químicos e biológicos (LOPES et al., 2008).

A idade representa um fator de risco para o câncer em função do envelhecimento da população. O avanço da terapêutica prolonga a vida, o surgimento de novos fármacos possibilitou o tratamento e cura do câncer. Estes medicamentos antineoplásicas podem ser combinados com outras drogas (quimioterapia), com grande potencial de eventos adversos pela sua toxicidade, tornando fundamental a troca de informações entre os profissionais no cuidado dos pacientes oncológicos (GAUI, 2010).

As complicações do tratamento, tanto na fase inicial da doença como na avançada, provoca efeitos secundários decorrentes do tratamento com depressão, ansiedade entre outros (OLIVEIRA et al., 2011).

O tratamento do paciente com câncer representa um grande desafio para os médicos, demandando um cuidado multidisciplinar e interdisciplinar e uma compreensão da biologia da doença, do seu tratamento e suas interações com as comorbidades a que esse paciente, por suas características, está sujeito (GAUI, 2010, p.23).

O diagnóstico e o tratamento precoce para alguns tipos de câncer pode resultar na diminuição da mortalidade, para isso a população juntamente com os profissionais da área da saúde devem estar orientados quanto aos sintomas que diagnosticam o câncer; a descoberta no início da doença resultará numa maior taxa de cura ou redução dos altos custos econômicos e sociais da doença, afirma Oliveira et al., (2011).

Para Lopes et al. (2008) noventa por cento dos tumores poderiam ser curados se diagnosticados no início da doença e tratados corretamente o que não ocorre pela falta de agentes capacitados e estruturas públicas no sistema de saúde no Brasil, tornando o câncer um grande desafio ao sistema público de saúde.

A mortalidade por câncer no Brasil, desde 2003, é a segunda causa de morte da população. E esta mortalidade está relacionada à maior exposição dos indivíduos a

fatores de risco cancerígenos. As grandes transformações globais modificaram o estilo de vida pela adoção de novas formas de produções de bens de serviços, padrões de consumo alterando o estilo de vida e a saúde dos povos, fatores que contribuíram no aumento do câncer, este impacto global dobrou a incidência de câncer nos últimos 30 anos (OLIVEIRA et al., 2011).

Segundo Oliveira et al., (2011), o câncer é uma doença descrita através de desenhos por civilizações primitivas. E, em toda parte do mundo, as civilizações têm fornecido descrições de câncer, na Grécia 500 a. C. Hipócrates descreveu a palavra carcinos, que em grego significa caranguejo.

1.1.1 Tratamentos

Os fármacos citotóxicos mostraram grande eficácia no tratamento do câncer; em sua maioria interagem com o DNA inibindo a síntese de novos materiais genéticos ou causando lesão irreparável do DNA; quando utilizados em combinações no estágio inicial da doença os agentes citotóxicos apresentam maior efetividade (GOODMAN et al., 2010).

Para Lopes et al., (2008) ao utilizar os fármacos citotóxicos no tratamento do câncer o profissional da área deve evitar combinações cujas toxicidades se sobreponham, para que o tratamento seja eficaz e seguro ao paciente.

Múltiplas modalidades medicamentosas são utilizadas em paciente com câncer, cada forma de tratamento tem seus riscos e benefícios, sendo necessário considerar múltiplos fatores, sendo o maior desafio da terapia ajustar a dose que obtenha o resultado terapêutico desejado. Estes agentes alquilantes são altamente tóxicos podendo resultar em problemas diversos de saúde ao paciente em tratamento, seus efeitos são inesperadas pela toxicidade a outros órgãos no uso prolongado e em altas doses durante o tratamento; estes efeitos podem aparecer ao longo de vários meses e anos, podendo ser irreversíveis e fatais (GOODMAN et al., 2010).

Ações citotóxicas. As ações farmacológicas mais importantes dos agentes alquilantes consistem naquelas que afetam a síntese de DNA e a divisão celular. A capacidade desses fármacos de interferir na integridade e na função do DNA e de induzir morte celular em tecidos de proliferação rápida fornece a base para as suas aplicações terapêuticas e propriedades tóxicas. Embora determinados agentes alquilantes possam ter efeitos lesivos sobre tecidos com índices

mitóticos normalmente baixos – por exemplo, fígado, rins e linfócitos maduros -, esses tecidos são habitualmente afetados de modo tardio. Os efeitos agudos manifestam-se primariamente nos tecidos de proliferação rápida. A letalidade da alquilação do DNA depende do reconhecimento do complexo, da criação de rupturas nos filamentos de DNA por enzimas de reparo e em uma resposta apoptótica intacta. O(s) verdadeiro(s) mecanismo(s) de morte celular relacionado(s) com alquilação do DNA ainda não estão bem caracterizados (GOODMAN et al., 2010, p. 1193).

No tratamento quimioterápico as drogas antineoplásicas têm ação de interferir no processo de crescimento e divisão celular, atacando na corrente sanguínea todas as células cancerosas que estão crescendo ativamente no organismo. Estas drogas não conseguem diferenciar as células saudáveis das doentes, como resultado há efeitos secundários do tratamento com a destruição das células saudáveis, exigindo uma equipe multiprofissional devido à complexidade da doença que utiliza drogas, isolados ou em combinação, essas toxicidades são frequentes e intensas, dependendo do tipo de tumor e extensão da doença (OLIVEIRA et al., 2011).

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), compreende-se por quimioterapia o método que utiliza compostos químicos, chamados quimioterápicos, no tratamento de doenças causadas por agentes biológicos. Quando aplicada ao câncer, ela é chamada de quimioterapia antineoplásica ou quimioterapia antitumoral (LOPES et al., 2008, p. 178).

1.1.2 Quimioterápico Fluoruracila

A Fluoruracila (5-FU) é um agente antineoplásico da classe dos antimetabólitos utilizado isoladamente ou em combinações com outros fármacos no tratamento de vários tipos de câncer (GIODA, 2010).

O medicamento é captada pelas células, sendo incorporada no DNA, bloqueando o alongamento do filamento e sua função de modelo (GOODMAN et al., 2010).

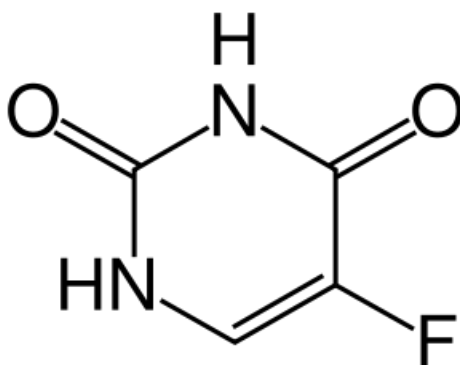
O FAULDFLUOR® é um medicamento cujo princípio ativo é a 5-FU e pode ser administrado por infusão ou injeção intravenosa. A posologia deve ser baseada no peso atual do paciente e a dose total não deve exceder a 1g, devendo ser reduzida em um terço ou pela metade dependendo das condições do paciente.

As drogas de toxicidade local, as dermatológicas são classificadas como visicantes, medicamento que causa lesão tecicular quando a infiltrada fora do vaso sanguíneo, provocando problemas graves como irritação severa e necrose local e as irritantes, causam reações cutâneas menos intensas (OLIVEIRA et al., 2011).

Para os análogos das pirimidinas, o fluoruracila e a fluoturidina causam manifestações clínicas de toxicidade semelhante que podem ser difíceis de prever devido ao seu aparecimento tardio. Os sintomas adversos iniciais durante a terapia são anorexia e náuseas; seguidas por estomatite e diarreia, sinais de advertência de que a dose suficiente foi administrada. Ocorrem alterações das mucosas ao longo de todo o tracto gastrointestinal podendo conduzir a diarreia fulminante, choque e morte. Os principais efeitos tóxicos dos esquemas com doses em bólus resultam na ação mielossupressora destas drogas. Podem ocorrer, também, trombocitopenia e anemia; perda de cabelo, ocasionalmente progredindo para alopecia total, alterações ungueais, dermatite e pigmentação aumentada e atrofia da pele podem ser encontradas (TEIXEIRA, SIMÕES E TABAQUINHO, 2001, p. 8).

O 5-FU, no Brasil está disponível em cápsulas de 250 mg, creme dermatológico, solução injetável: 10 mg/mL, 50 mg/mL e 25 mg/mL, medicamento antineoplásico antimetabólico, cujo principio ativo é o fluoruracila, sua massa molar é $130,08 \text{ g mol}^{-1}$ e sua fórmula empírica é $\text{C}_4\text{H}_3\text{FN}_2\text{O}_2$ como mostra a Figura 1, sua toxicidade depende da dose e via utilizada.

Figura 1 - Estrutura Química do fármaco Fluoruracila



Fonte: (SINGH et al., 2009, p. 241).

Nas terapias em combinações com outros agentes, o 5-FU mostrou ser um potente sensibilizador de irradiação. Foram constatados efeitos benignos com a combinação do 5-FU com a radioterapia, no tratamento de câncer de esôfago, estômago, pâncreas, colo do útero, ânus, cabeça e pescoço, com resultados muito favoráveis (GOODMAN et al., 2010).

A resposta parcial em 10 a 20% dos pacientes com a administração do 5-FU mostrou-se eficaz no tratamento de carcinomas metastáticos de colón, do trato gastrintestinal superior e de mama. Associado a outras drogas dentro do contexto da terapia, mostrou vantagens em termo de sobrevida do pacientes (GOODMAN et al., 2010).

[...] o quimioterápico 5-FU é um agente antimetabólito e age em uma fase específica do ciclo celular (fase S). É considerado um medicamento visicante, sendo administrado por via endovenosa. Tem como principal efeito colateral a hiperpigmentação cutânea, principalmente na palma das mãos, face e no trajeto venoso (OLIVEIRA et al., 2011, p. 76).

Os medicamentos antineoplásicos têm grandes potenciais de efeitos adversos ao interagir com outras drogas (GAUI, 2010).

Ao associar várias drogas no tratamento, os protocolos quimioterápicos, auxiliam na prevenção de efeitos colaterais, na metabolização das drogas e no efeito de ação (OLIVEIRA et al., 2011).

Segundo Gioda (2010) o 5-FU é um medicamento que requer dos profissionais da saúde precauções na manipulação e descarte, sua toxicidade depende da dose e via utilizada no paciente.

De acordo com as Normas Regulamentadora 32 (NR 32) que tem por diretriz garantir segurança dos trabalhadores dos serviços de saúde, o profissional da saúde deve estar devidamente orientado, quanto às precauções padrões dos procedimentos técnicos na manipulação e descarte dos materiais quimioterápicos (OLIVEIRA et al., 2011).

Em Barretos/SP; o centro hospitalar especializado em oncológico tem um departamento específico que cuida destes procedimentos técnicos.

1.2 Contaminantes de efluentes

Muitos fármacos citotóxicos são encontrados em efluentes de esgotos das Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs), pelo fato de após a ingestão do medicamento por pacientes em tratamento, partes destes, são excretados ou descartados de forma irregular no esgoto, sendo detectados em matriz de água como mostra vários estudos da literatura (BILA e DEZOTTI, 2003).

O 5-FU é um fármaco antineoplásico persistente a sua própria química, para servir aos propósitos terapêuticos; partes desta medicação são excretadas inalteradamente nos efluentes de esgoto, e mesmo após tratamento nas ETEs, chega ao meio ambiente, podendo ocasionar mudança nos organismos aquáticos e efeitos adversos à saúde humana (BILA e DEZOTTI, 2003).

No Brasil, estudos realizados em hospital universitário, considerado um dos maiores do Estado do Rio de Janeiro, que atende a uma população de mais de dois milhões de habitantes, na área oncológica, com toda estrutura na manipulação e descarte de material, resultante de lixo hospitalar, entre eles os materiais quimioterápicos, demonstrou que o medicamento mais utilizado no tratamento do câncer é o Fluoruracila (5-FU) e sua embalagem contém resquícios de quimioterápicos, o que requer um maior cuidado no descarte e destino final do resíduo (MAURA, 2012).

No norte do Reino Unido, pesquisa realizada para avaliar as concentrações de efluente de esgoto dos hospitais oncológicos, buscando identificar os fármacos citotóxicos, constatou que estes, incluído o 5-FU é mal biodegradável, quando incubado com lodo ativado, uma vez que as muitas drogas citotóxicas são hidrofílicas. Algumas das moléculas não contém átomo de halogênio, são conhecidas por serem problemáticas por biodegradação, podendo ser tóxicas para as bactérias, mostrando que os fármacos citotóxicos podem ser extremamente persistentes nas águas dos rios (JOHNSON et al., 2008).

Este mesmo estudo detectou em 2008, em uma lagoa no norte do Reino Unido, a presença do fármaco 5-FU em concentração de 5,50 µg/L em longos trechos de captação de água, podendo ocasionar ao meio aquático danos aos organismos eucarióticos e dependendo da concentração, danos à saúde humana, principalmente às gestantes (JOHNSON et al., 2008).

Geralmente, os fármacos são absorvidos pelo organismo e estão sujeitos a reações metabólicas. Entretanto, uma quantidade significativa dessas substâncias originais e seus metabólitos são

excretados na urina, fezes ou esterco animal, sendo frequentemente encontrados no esgoto doméstico. De acordo com Richardson et al., nas ETEs há três destinos possíveis para qualquer fármaco individual: 1. Pode ser biodegradável, ou seja, mineralizado a gás carbônico e água, como por exemplo, o ácido acetilsalicílico; 2. Pode passar por algum processo metabólico ou ser degradado parcialmente, como às penicilinas; 3. Pode ser persistente como o clofibrato, que é um antilipênico. Pouco se conhece sobre as rotas dos fármacos no meio ambiente (BILA e DEZOTTI, 2003, p. 524).

A preocupação por contaminação de efluentes de esgoto ao meio ambiente tornou-se interesse de ordem econômica, sanitária e social, determinando que os efluentes sejam submetidos a tratamentos eficazes, que amenizem o impacto ambiental, tornando um grande desafio aos órgãos governamentais, para isto foram criadas agências de fiscalização, como a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB) que realizam monitoramento, tentando prever e amenizar o comprometimento dos recursos hídricos no Estado de São Paulo (CORDI et al., 2008).

A grande preocupação destas organizações governamentais é que os resíduos gerados por qualquer atividade tenham o procedimento de descarte adequado que leve à sustentabilidade em nível estratégico dentro das organizações. Neste contexto as empresas integrantes do complexo de saúde também buscam novas tecnologias que amenizem os resíduos produzidos, como os frascos e as embalagens de medicamentos. Nestes, existe grande demanda de agentes quimioterápicos devido ao crescimento da doença do câncer (MAURA, 2012).

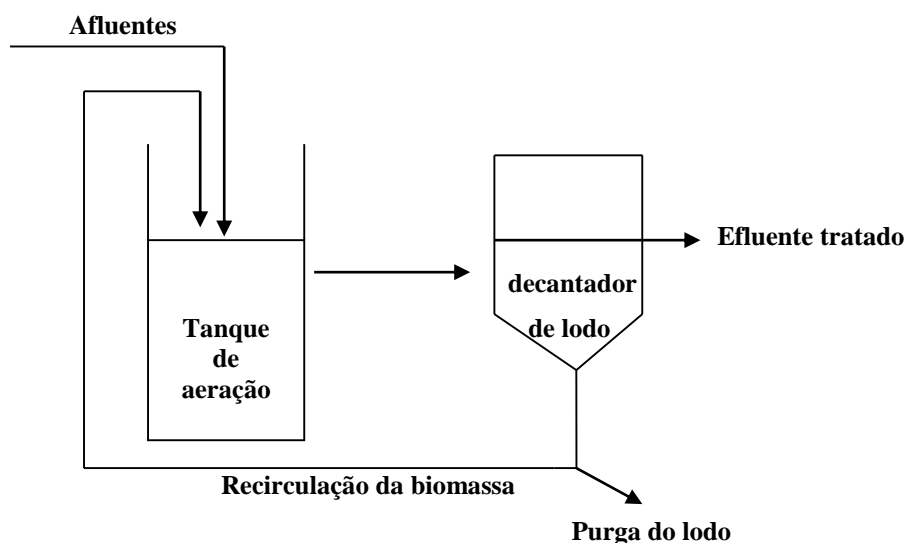
Segundo Parron et al., (2011) os centros hospitalares devam ter Programa de Gerenciamento de Resíduos Químicos (PGRQ) que contemplem resíduos ativos, gerados continuamente dentro da unidade em atividades rotineiras, e o passivo de todos os resíduos estocados, aguardando destinação final (restos reacionais, resíduos sólidos, frascos de reagentes etc...) podendo ser enviadas para incineração ou estação de tratamento que foram criadas para tratar carga orgânicas altas e normalmente tóxicas.

1.2.1 Tratamento de efluentes contendo fluoruracila por lodos ativados

Para Bila e Dezotti (2003) o efluente de esgoto contaminado com fármacos citotóxicos tratado pelo processo de lodos ativados, alcançaram um melhor resultado de remoção, do que efluentes tratados com filtros biológicos, sendo uma remoção incompleta dos fármacos durante sua passagem pelas ETEs.

O tratamento de efluentes de esgoto por lodos ativados pode ser definido, segundo Cordi et al., (2008), como processo de tratamento fermentativo, aeróbico, contínuo com reciclo de biomassa que constitui em um inóculo permanente e aclimatado. A Figura 2 mostra um dos modelos de reatores utilizados no tratamento de efluentes por sistema biológicos, operando em fluxo contínuo de lodos ativados, com grandes vantagens no processo aeróbico e baixo custo na implantação.

Figura 2 - Modelo esquemático do sistema de lodos ativados



Fonte: (Cordi et al., 2008, p. 101).

O modelo de estação de tratamento por lodos ativados (Figura 2) consiste em um tanque de aeração, no qual ocorre a oxidação da matéria orgânica onde o efluente é introduzido e misturado com lodo ativado, e o decantador utilizado para sedimentação dos flocos microbiais produzidos durante a fase de oxidação no tanque de aeração (FREIRE et al., 2000).

O processo de tratamento por lodos ativados alcança resultados mais eficazes pela combinação de reações aeróbicas, processo que se fundamenta na utilização de bactérias e fungos que requer oxigênio molecular; sua forma mais comum está representada por lagoas aeradas e pelo sistema lodos ativada, muito utilizada pelas indústrias. As reações anaeróbicas têm sido objeto de muito interesse em função da capacidade de certas bactérias, transformarem grandes números de compostos clorados

em espécies menos tóxicas e mais susceptíveis à degradação posterior por organismos aeróbicos.

O sistema de tratamento de efluentes por lodos ativados iniciou-se na Inglaterra no século XX e mostrou-se eficiente (FREIRE et al., 2000).

Em 1997, antilipêmicos, antiinflamatórios e alguns metabólitos foram detectados em esgoto, em efluentes de ETE e em águas de rios no estado do Rio de Janeiro por Stumpf et al. A concentração média, nos efluentes da ETE, da maioria dos fármacos investigados esteve na faixa de 0,1 a 1,0 $\mu\text{g/L}$, como consequência da remoção incompleta dos fármacos durante sua passagem pela ETE e pelo descarte de esgoto in natura. A taxa de remoção de fármacos individuais durante a passagem pela ETE variou de 12 a 90%. Em outro estudo também relacionado ao Brasil, realizado por Ternes et al. Em 1997, foram encontrados estrogênios naturais e contraceptivos sintéticos na ETE da Penha/RJ. Em esgoto bruto, os estrogênios 17 β -estradiol e estrona foram detectados nas concentrações de 0,021 $\mu\text{g/L}$ e 0,04 $\mu\text{g/L}$, respectivamente. As taxas de remoção de estrona observadas foram de 67% para o efluente tratado em filtros biológicos e 83% para o efluente tratado pelo processo de lodos ativados. Para 17 β -estradiol, estas taxas foram de 92 e 99% para o efluente tratado em filtro biológico e para o efluente tratado pelo processo de lodos ativados, respectivamente. Para o estrogênio contraceptivo 17 α -etinilestradiol, as taxas de remoção na ETE foram de 64 a 78% para o efluente do filtro biológico e para o efluente do tanque de lodo ativado (BILA e DEZOTTI, 2003, p. 524).

Para os demais efluentes de esgoto de origem doméstica ou industrial o tratamento é baseado em processos biológicos, utilizando o mesmo mecanismo aeróbio de biodegradação, que ocorre naturalmente nos rios. São represadas grandes quantidades de efluentes e adicionados processos biológicos para remoção de matéria orgânica, o oxigênio é o principal acceptor de elétrons gerados a partir da degradação destes compostos (CORDI et al., 2008).

Estes efluentes de esgoto doméstico ou industrial podem ser orgânicos biodegradáveis, com tempo relativo e curto de decomposição, enquanto os não biodegradáveis são mais evidentes, formam espuma sob a água, em uma gama de toxicidade maior, inibindo o transporte de oxigênio e carbono na interface da água, contribuindo para as alterações dos níveis de oxigênio dissolvidos (PARRON et al., 2011).

1.3 Legislação no Brasil sobre medicamentos e seu descarte.

O mercado de medicamentos no Brasil movimenta bilhões de reais. Esta produção em massa pode acarretar sérios riscos socioeconômicos e ambientais se forem descartados incorretamente; para isto existem leis governamentais que estabeleceram condições adequadas para o descarte destes medicamentos.

A população deve atuar junto com o governo na prevenção dos problemas que estes resíduos possam gerar a saúde humana e ao meio ambiente. A lei dos resíduos sólidos mostra a preocupação do descarte inadequado destes resíduos (BALBINO e BALBINO, 2014).

A Lei 12.305/2010 de Política Nacional de Resíduos Sólidos estabelece que, conceito de medicamentos é todo produto sólido ou líquido com composto de um princípio ativo.

No art. 2º da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 33 de 25 de fevereiro de 2003 diz que compete Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e às Secretarias de Saúde Estaduais, Municipais e Distritais, responsabilidade de fiscalizar em conjunto com os órgãos do meio ambiente o cumprimento desta resolução, orientando no que lhe for pertinente.

A RDC nº 33/2003 dispõe sobre o regulamento técnico dos resíduos nos serviços de saúde, dentro desta categoria está o grupo B (químico) e enquadra neste grupo os medicamentos antineoplásicos controlados por uma portaria Ministério da Saúde (MS) 344/98 e suas atualizações, neste grupo são determinadas que as excreções de pacientes tratados com quimioterápicos antineoplásicos devem ser eliminadas no esgoto com abundante quantidade de água, desde que haja Sistema de Tratamento de Esgoto na região onde se encontra a unidade. Caso não exista tratamento de esgoto, devem ser submetidas a tratamento prévio no próprio estabelecimento.

A RDC nº 50/2002 e ANVISA nº 33/2003 determinam que o gerenciamento dos resíduos sólidos de saúde constitui-se em um conjunto de procedimentos de gestão, planejados e implementados a partir de bases científicas, normativas e legais, com o objetivo de minimizar a produção de resíduos e proporcionar aos resíduos gerados um encaminhamento seguro, de forma eficiente, visando a proteção dos trabalhadores, preservação da saúde pública, dos recursos naturais e do meio ambiente.

O CONAMA 358/2005 dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e das outras providências, em atendimento aos princípios da prevenção, da precaução, do poluidor pagador, da correção na fonte e de integração

entre vários órgãos envolvidos para fins do licenciamento e da fiscalização. Impõe aos geradores de resíduos sólidos de saúde a responsabilidade pela segregação, acondicionamento, transporte, tratamento e disposição final, ou seja, o gerenciamento desses resíduos.

De acordo com a classificação dos efluentes de esgoto é aplicado um sistema de tratamento; para fármacos citotóxicos o recomendado é o tratamento por lodo ativado. Em cidades com grandes centros hospitalares e que utiliza medicamentos altamente tóxicos no tratamento do câncer é necessário um sistema de tratamento de efluentes por lodo ativado para evitar a contaminação ambiental das fontes de água (MAZZER e CAVALCANTI, 2004).

Mesmo com as leis existentes de controle e fiscalização aos resíduos gerados pelo sistema de saúde, ha uma deficiência no sistema no caso do tratamento de efluentes de esgoto gerados pelos hospitais e indústrias farmacêuticas. Estudos mostram que varias substâncias existentes nos fármacos são resistentes ao processo de tratamento dos efluentes de esgoto permanecendo no meio ambiente por longo período (BALBINO e BALBINO, 2014).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho é verificar a presença do fármaco citotóxico fluoruracila (5-FU) no Ribeirão das Pitangueiras. Considerando que este córrego recebe os efluentes de esgoto hospitalar oncológico após tratamento por sistema de lodos ativados, pretende-se através deste estudo demonstrar que o sistema de tratamento de efluentes de esgoto por lodos ativados não elimina totalmente o fármaco citotóxico fluoruracila (5-FU) como mostra a literatura.

2.2 Objetivo específicos

- Avaliar possível toxicidade dos efluentes na biota aquática.
- Analisar os efluentes de água após o tratamento que chega ao Ribeirão das Pitangueiras.
- Utilizar desta ferramenta para sinalizar ao poder público a necessidade de novas pesquisas de efluentes contendo resíduos do medicamento fluoruracila e seus possíveis efeitos ao meio ambiente.

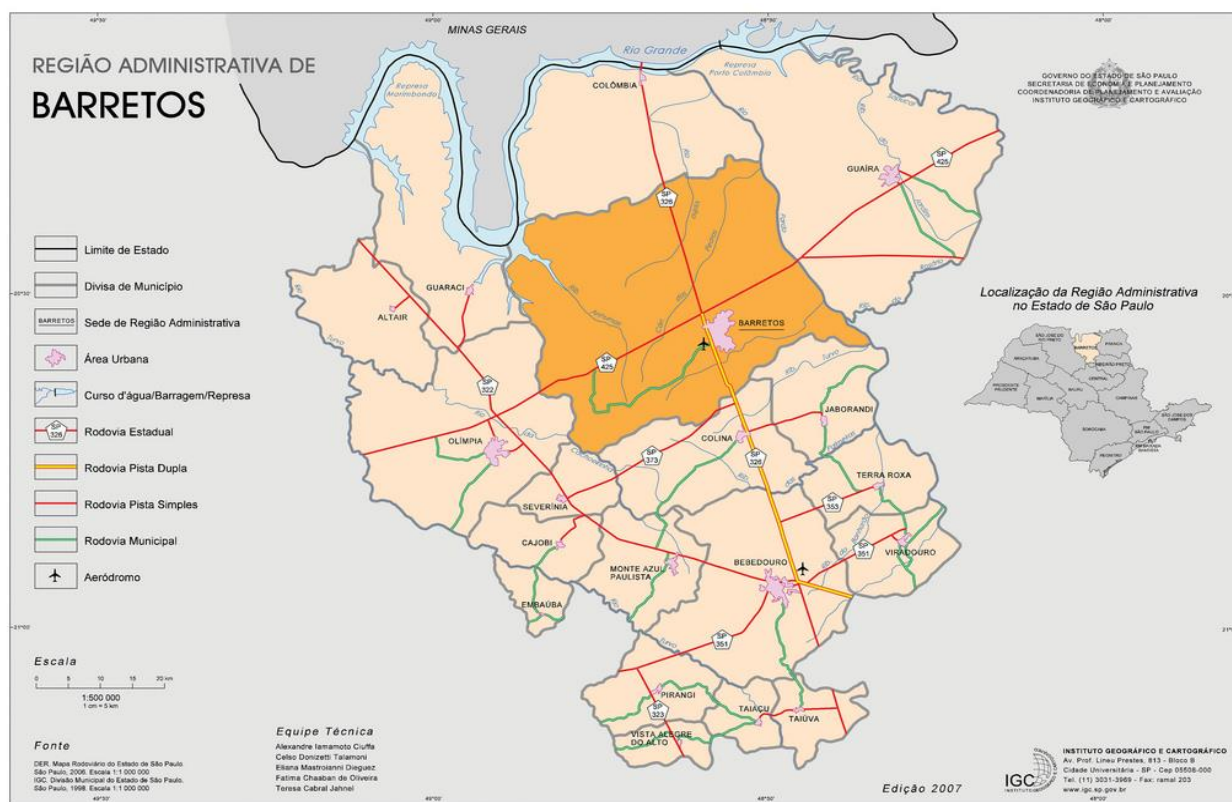
3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local de estudo

Barretos encontra-se situada na região norte do Estado de São Paulo, limita-se ao norte com o Município de Colômbia, ao sul com os Municípios de Colina, Jaborandi e Severínia, a leste com Guairá e Morro Agudo e a oeste com os Municípios de Guaraci e Olímpia (Figura 3). Segundo fonte do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2010 foi estimada uma população de 112.101 habitantes.

Como podemos observar na Figura 3, a cidade é cortada por córregos: córrego do Barro Preto, córrego Campo Redondo, córrego Barretos, córrego do Aleixo e o Ribeirão das Pitangueiras. O Ribeirão das Pitangueiras tem sua nascente no topo da fazenda Pitangueiras, próximo ao morro dos Angicos, localizado na região onde está instalado o aeroporto da cidade, com a Latitude 7.716° Norte, Longitude 743° Leste, tem 35.900 km de extensão e deságua no rio Pardo (SABIÁ, 2007, p.3).

Figura 3 - Localização administrativa de Barretos/SP



Fonte: IGC - Instituto Geográfico e Cartográfico, 2007.

Parte da água consumida pelo município é captada no Ribeirão das Pitangueiras e bombeada pela Estação de Tratamento de Água (ETA) no bairro Pereira, para ser tratada e distribuída a população; sendo o principal manancial da cidade, um dos maiores problemas deste córrego é o assoreamento e a falta de matas ciliares. Na seqüência do curso do córrego temos as estações de tratamento de esgoto que recebem os dejetos dos bairros da região do hospital oncológico, que são: Estação de Tratamento de Esgoto III (ETE III) e a Estação de Tratamento de Esgoto IV (ETE IV).

Instalado na cidade desde 1967, o Hospital do Câncer de Barretos é um dos maiores centros de estudos em oncologia da América Latina, destacando-se por possuir o maior banco de tumores entre as instituições brasileiras e de atuar no atendimento de doentes vindos de todas as partes do Brasil e de países vizinhos. Em virtude do uso de medicamentos altamente tóxicos no tratamento destas doenças, a cidade de Barretos tem um sistema de tratamento de efluentes por lodos ativados para evitar a contaminação ambiental das fontes de água, córregos e rios da região. Dada as características geográficas do entorno do hospital, o despejo do esgoto tratado nos córregos e rios requer um monitoramento dos órgãos ambientais do estado de São Paulo.

3.2 Procedimentos metodológicos

Inicialmente foi realizado um levantamento bibliográfico dos aspectos científicos e legais envolvidos nesta pesquisa e, numa segunda etapa, foram realizadas análises quantitativas do fármaco 5-FU no Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. A primeira etapa das análises foi feita em abril de 2014 e repetidas em maio de 2014 para identificar a presença do fármaco 5-FU em amostras de água captadas no Ribeirão das Pitangueiras.

3.2.1 Estratégia de amostragem de água no córrego

Quando a coleta de amostras é feita diretamente de um corpo hídrico, são recomendados os seguintes procedimentos: evitar a coleta de amostras em áreas estagnadas ou em locais próximos as margens; remover a tampa do frasco, segurá-lo pela base, mergulhar rapidamente com a boca para baixo, de 15 cm a 30 cm abaixo da superfície da água, para evitar a introdução de contaminantes superficiais; direcionar o frasco de modo que a boca fique em sentido contrário à correnteza; se o corpo de água for estático, deverá ser criada uma corrente superficial,

através da movimentação do frasco na direção horizontal (sempre para frente); inclinar o frasco lentamente para cima, a fim de permitir a saída de ar e seu subsequente enchimento; fechar o frasco e acondicioná-lo sob refrigeração (PARRON et al., 2011, p. 34).

Para eficácia nas coletas das amostras de água no córrego, afirma o SISAGUA (2009), que as coletas devam ser programadas, definindo-se os pontos de coleta com antecedência, bem como, os volumes a serem coletados, tendo conhecimento dos objetivos do trabalho. Ao levar em consideração esses fatores, se obtém um melhor resultado evitando distorção nas análises.

A coleta de água deve ser feita de acordo com o objetivo principal do monitoramento, priorizando a segurança dos executores da tarefa. Em caso de morte de peixes por motivos desconhecidos, equipamentos especiais de segurança devem ser utilizados. O laboratório de medição ambiental deve ser cadastrado junto ao Sistema Estadual do Meio Ambiente – SISEMA – e adotar os procedimentos de controle de qualidade analítica, necessários ao atendimento das condições exigíveis, conforme Deliberação Normativa – COPAM no 89/2005, requisitos imprescindíveis para a aceitação dos relatórios ou laudos pelos órgãos ambientais e outras autoridades (SISAGUA, p. 7, 2009).

Foram coletadas amostras de água do córrego em diferentes pontos e levadas para análises no Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Os pontos de coletas foram definidos de acordo com a facilidade de acesso ao córrego. A primeira amostra foi coletada no ponto onde não há efluente de esgoto, sendo esta água captada para o abastecimento de aproximadamente 60% da população local, os demais pontos de coletas foram definidos por serem pontos de efluentes de esgoto tratados lançados ao córrego.

Ponto de coleta da amostra 1 na Estação de Tratamento de Água (ETA) no bairro Pereira, fonte de captação de água para a cidade como mostra a Figura 4.

Figura 4 – Estação de Tratamento de Água



Ponto de coleta da amostra 2 no ponto de lançamento da Estação de Tratamento de Esgoto IV (ETE IV), esta utiliza o sistema de tratamento de efluentes de esgoto por lodos ativados como mostra a Figura 5.

Figura 5 – Ponto de lançamento da Estação de Tratamento de Esgoto IV



Ponto de coleta da amostra 3, cerca de 800 metros da ETE IV, tem uma bomba que retira água do córrego para a criação de animais, cultivo de lavoura e para tanques de peixes do pesqueiro local (Figura 6).

Figura 6 – Ribeirão das Pitangueiras a cerca de 800 metros da ETE IV



A Figura 7 mostra o ponto de coleta da amostra 4 no ponto de lançamento da Estação de Tratamento de Esgoto III (ETE III) este recebe os afluentes de esgoto dos bairros próximo ao hospital oncológico.

Figura 7 – Ponto de lançamento da Estação de Tratamento de Esgoto III



A Figura 8 mostra os pontos específicos de coletas de amostra de água.

Figura 8 – Localização dos pontos de coletas no Ribeirão das Pitangueiras (Barretos/SP).



Fonte: Autor.

A coleta das amostras na primeira etapa deste experimento foi realizado em abril de 2014, com clima nublado e chuviscos ao longo do dia, nos últimos 7 dias. A coleta foi realizada no período da manhã, sendo coletadas 500 mL de cada ponto com auxílio de garrafas plásticas descartáveis de água potável ambientada com água do córrego. As amostras 1 e 3 foram coletadas no remanso do córrego em uma profundidade de 50 a 60 centímetros e 3 metros de largura e as amostra 2 e 4 foram coletadas nos pontos de lançamento dos efluentes de esgoto. Estas amostras foram lacradas, etiquetadas com horário e data como mostra a Tabela 2, e armazenado sob refrigeração em caixa térmica com gelo.

Tabela 2 – Coleta das amostras na primeira etapa experimental

AMOSTRAS	PONTOS
1	ETA
2	ETE - IV
3	a cerca de 800 mts da ETE - IV
4	ETE - III

A segunda etapa foi realizada em maio de 2014 (Tabela 3), as amostras foram levadas para o Instituto de Química da UNICAMP e repetidas as análises, no entanto, após a primeira coleta (realizada em abril de 2014) foram feitas algumas modificações: repetiu-se o experimento desta vez partindo de um volume superior das amostras coletadas no córrego de 500 mL para 1000 mL, com objetivo de conseguimos uma concentração maior do analito nas amostras após a concentração no rotaevaporador da marca BUCHI modelo RII, com bomba de vácuo da marca BUCHI V-700. As coletas das amostras foram realizadas no período da tarde com o clima ensolarado ao longo dos últimos 7 dias, foram nos mesmos pontos anteriores, lacradas, etiquetadas com horário e data. Não foi feito a coleta e análise da amostra 1 como mostra a Tabela 3, pelo fato de não ter possibilidade de constatar o fármaco 5-FU, pois neste ponto esta livre de efluente de esgoto.

Tabela 3 – Coleta das amostras na segunda etapa experimental

AMOSTRAS	PONTOS
2	ETE - IV
3	a cerca de 800 mts da ETE - IV
4	ETE - III

3.2.2 Preparação das amostras

As amostras foram devidamente acondicionadas e transportadas sob refrigeração para serem analisadas segundo SISAGUA (2009). Esta etapa foi feita no Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Inicialmente, as amostras coletadas foram pré-concentradas em rotaevaporador, à pressão reduzida e sob aquecimento entre 55°C e 60 °C. O volume inicial da primeira etapa de cada amostra coletada foi de 500 mL, o tempo de concentração foi de aproximadamente 4 horas. Na segunda etapa (1.000 mL coletado de amostra) o tempo de concentração foi de aproximadamente 7 horas e as amostras foram concentradas a cerca de 50 mL do volume inicial. Após a pré-concentração cada amostra foi submetida a uma filtração em filtros de seringa descartáveis com tamanho de poro de 0,20 µm e diâmetro de 13 mm, e acondicionada em vial de 2,0 mL para ser analisada utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) segundo procedimento descrito por Mattos et al., (2013), utilizando água na fase móvel e a coluna Microsorb MV-C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm).

3.2.3 Preparação das soluções padrão

Foram preparadas soluções padrões nas seguintes concentrações: 2,0, 4,0, 6,0, 8,0, 10,0 µg/mL todas diluídas em água deionizada. Inicialmente foi injetada a solução padrão de 5-FU para determinar o tempo de retenção deste composto, que foi determinante para verificar sua presença nas amostras.

A medicação adquirida para análise, 5-fluorouracil (5FU) é de procedência dos laboratórios MEIZLER, (FAULDFLUOR®) contendo 10 mL do fármaco em cada ampola.

3.2.4 Análise cromatográfica

A determinação da presença de 5-FU foi feita utilizando-se um coluna Microsorb-MV-C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m), fase móvel: 100% água (H₂O), temperatura ambiente, volume injeção 100 microlitros, tempo máximo da análise 7 minutos.

3.2.5 Análise por espectrômetro de massas

Análises por espectrômetro de massas, infusão direta, empregando vazão da amostra de 50 mL/min e fluxo auxiliar de metanol: água 0,1% ácido fórmico 50:50 (v/v), vazão de 0,1 mL/min.

3.3 Equipamentos

- Rotaevaporador da marca BUCHI modelo RII, com bomba de vácuo da marca BUCHI V-700.
- Filtro de seringa com tamanhos de poro de 0,20 μ m e 0,45 μ m.
- Cromatográfico Líquido SHIMADZU modelo PROMINENSE dotado de detector por arranjos de diodo, modelo SPD-M20A.
- Espectrômetria de massas Micromas Quattro Micro™ API, com fonte de ionização por eletrospray e analisador triplo quadrupolo. Fabricante Waters.

3.4 Estratégia de amostragem de sedimentos do córrego

As coletas dos sedimentos foram realizadas nos mesmos pontos das amostras de água, no remanso do córrego e nos pontos de lançamentos das ETEs. Foram coletados 500 gr de cada amostra, etiquetada com data e horário, lacrados, refrigerados em caixa de isopor com gelo e posteriormente conduzidas ao laboratório da Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC-USP) para análises. As amostras dos sedimentos foram coletadas manualmente na data de 03 de julho de 2014 no período da manhã com o tempo ensolarado e seco nos últimos 30 dias. As amostras dos sedimentos foram coletadas utilizando uma pá média de jardinagem.

3.4.1 Manutenção dos organismos teste

Os organismos testes utilizados foram da espécie *Chironomus xanthus* cujos exemplares foram obtidos em cultura mantida no laboratório da Universidade de São Paulo, campus São Carlos. A espécie de *C. xanthus* tem sido alvo de estudos ecotoxicológicos sendo fácil a manutenção desta espécie, as criações das larvas foram realizadas seguindo os métodos de manutenção modificados por Fonseca (1997). O equipamento utilizado para o cultivo de *Chironomus xanthus* com sedimentos foram bandejas e tela de nylon e bancada utilizada nos bioensaios de toxicidade. As condições do teste foram iguais as de cultivo das larvas, com foto-período de 12 horas e temperatura de 22-26 °C. O procedimento adotado nos testes com a espécie foi a recomendada por Fonseca (1997) e Strixino&Strixino (1995).

3.4.2 Método para teste de toxicidade utilizado-se larvas do inseto *C. xanthus*

Testes de toxicidade são ensaios laboratoriais, realizadas sob condições experimentais específicas e controladas, utilizadas para estimar a toxicidade de substâncias, efluentes industriais e amostras ambientais (águas ou sedimentos). Nesses ensaios, organismos-testes são expostos a diferentes concentrações de amostra e os efeitos tóxicos produzidos sobre eles são observados e quantificados. Enquanto as análises químicas identificam e quantificam as concentrações das substâncias tóxicas, os testes de toxicidade avaliam o efeito dessas substâncias sobre sistemas biológicos (Costa, et al., 2008).

Foram testados sedimentos de 4 pontos do córrego e foi realizado o teste controle utilizando-se um sedimento esterilizado. O sedimento controle foi obtido a partir de areia fina comum, lavada em água corrente e levada à estufa por 4 horas a 60 °C. Os testes controle foram realizados pela utilização de água deionizada e sedimento esterilizado.

Nos testes de toxicidade agudo utilizou-se 10 larvas de IV instar (4ª fase da larva) com 3 réplicas e as larvas foram alimentadas no início do teste e mantidas sem aeração por 96 horas. As larvas foram alimentadas com 20 mL de solução contendo 1 litro de água destilada e 5,0 g de ração para peixe triturada (tipo Tetramim®) de acordo com métodos padronizados por Dornfeld (2006).

Na amostra 1 de sedimento coletada na ETA, livre de efluentes de esgoto, e na amostra 3, cerca de 800 metros da ETE IV, foram colocados na bandeja de cultivo 10 larvas de *C. xanthus* para bioensaio de toxicidade, nesta as 10 larvas permanecerão vivas dentro do tempo estimado. Foram feitas 3 réplicas que alcançou os mesmos resultados, ficando evidente que nestas condições não foi observado a presença de resíduo contaminantes que possa interferir na sobrevivência dos organismos.

4 RESULTADOS

4.1 Curva analítica do 5-FU

Para identificar o fármaco 5-FU presente na amostra 2, preparou-se uma curva analítica do composto a partir do fármaco utilizado a partir de 5 concentrações: 2,0, 4,0, 6,0, 8,0, 10,0 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 9).

O resultado não foi obtido com mais precisão devido à presença de uma substância desconhecida que interferia na resolução do tempo de retenção cromatográfico.

A curva analítica área x concentração ajustado para uma reta é representado pela equação onde:

$$y = a + bx$$

$$y = \text{área}$$

e

$$x = \text{concentração } \mu\text{g/mL}$$

Do gráfico obtido temos: $a = 26908,2$

$b = 61678,9$

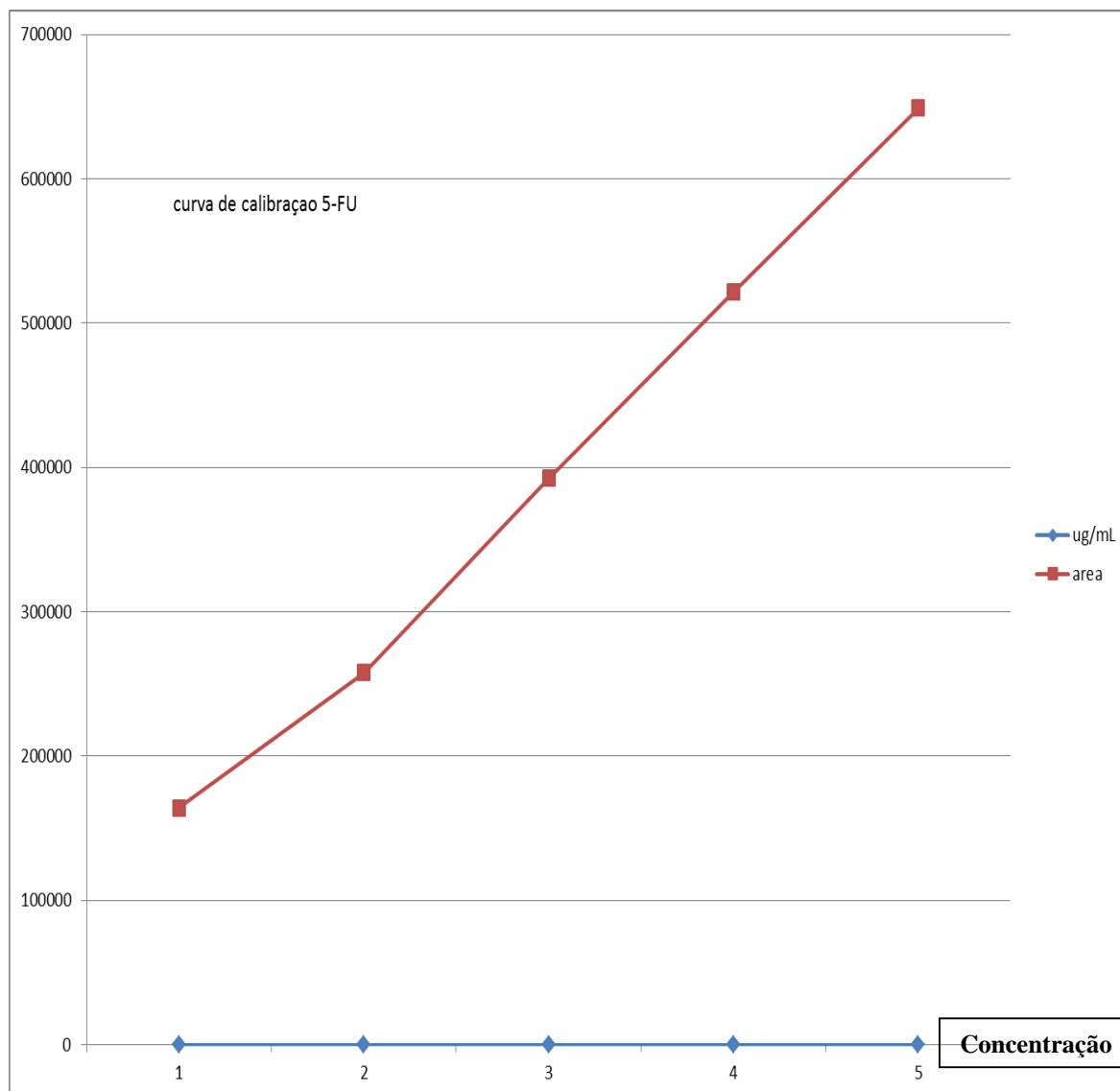
Reagrupando a equação temos: $x = \frac{y - a}{b}$

$$R^2 = 99\%$$

Não foi possível determinar a concentração do fármaco existente na amostra 2 devido a interferência de uma substância desconhecida que saiu no tempo de retenção cromatográfico da análise.

Figura 9 – Curva analítica do 5-FU linear obtida através de 5 pontos de concentração (2,0 a 10,0 µg/mL)

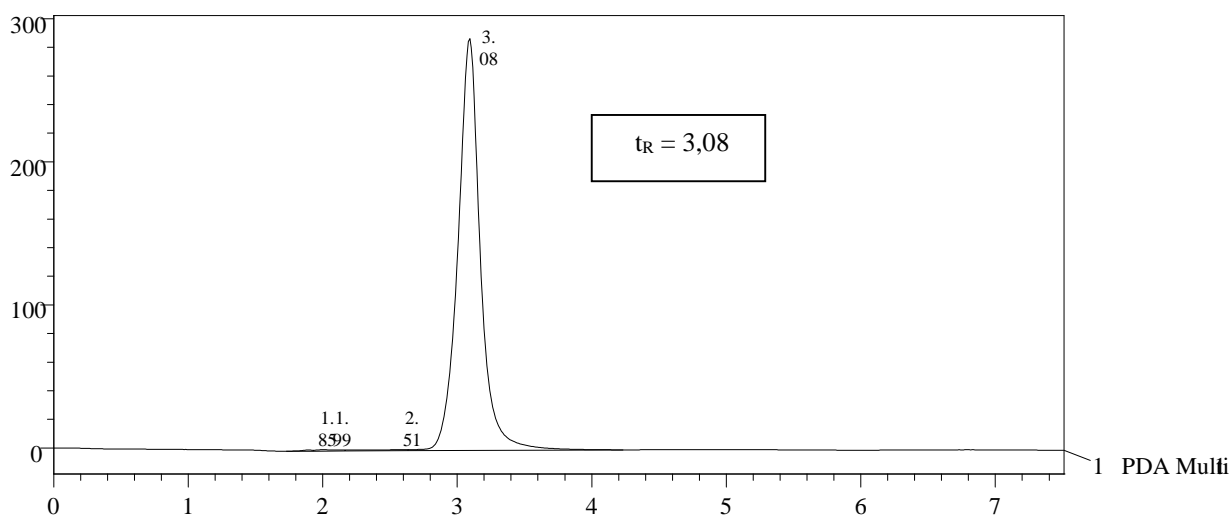
µg/mL	Área
2	164070
4	257899
6	392329
8	521603
10	649007



4.2 Análises cromatográficas das amostras de água

Na primeira etapa do trabalho inicialmente foi injetado o padrão de 5-FU para determinar o tempo de retenção deste composto (Anexo 1), que foi determinante para verificar sua presença nas amostras. A Figura 10 mostra o cromatograma da solução padrão do 5-FU, obtido a partir da diluição do medicamento utilizado comercialmente na seguinte concentração de 10,0 $\mu\text{g/mL}$ diluídas em água deionizada, o tempo de retenção foi de 3,08 minutos.

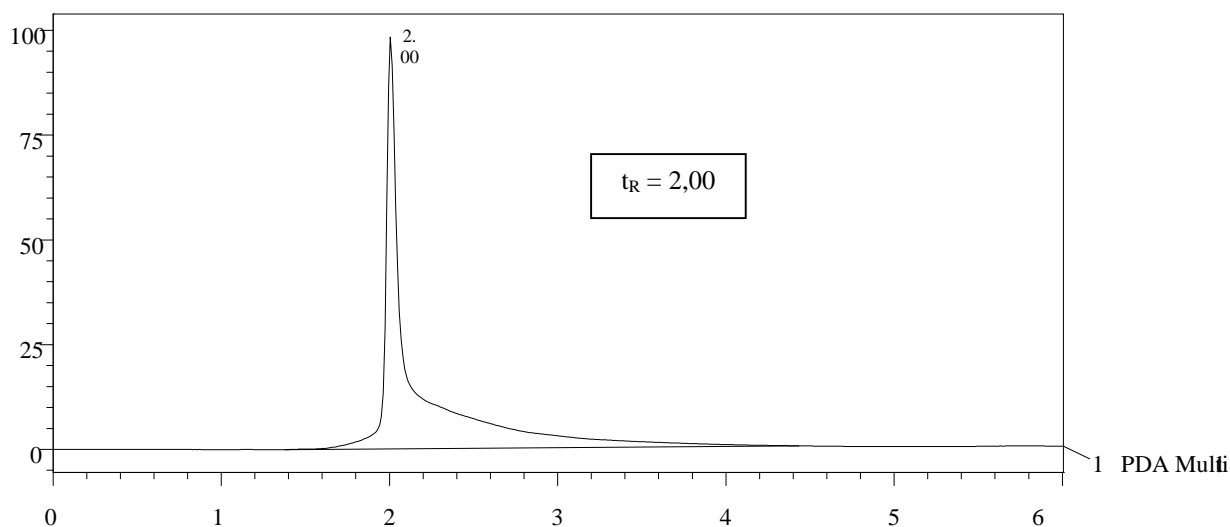
Figura 10 - Cromatograma do 5-FU, obtido a partir da diluição do medicamento utilizado na concentração de 10,0 $\mu\text{g/mL}$



Condições cromatográficas: coluna Microsorb-MV-C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 μm), fase móvel: 100% água (H_2O), temperatura ambiente, volume injeção 100 microlitros, tempo máximo da análise 7 minutos em 254 nm.

A amostra 1 de água coletada na ETA (Figura 11) teve seu volume inicial de 500 mL reduzidos para 63 mL, esta amostra foi coletada no ponto livre de efluente de esgoto, ao ser analisada no CLAE teve seu tempo de retenção em 2,00 minutos. Comparada a solução padrão com tempo de retenção de 3,08 minutos (Anexo 2), mostrou que nestas condições a amostra não contém presença de resíduo do fármaco 5-FU.

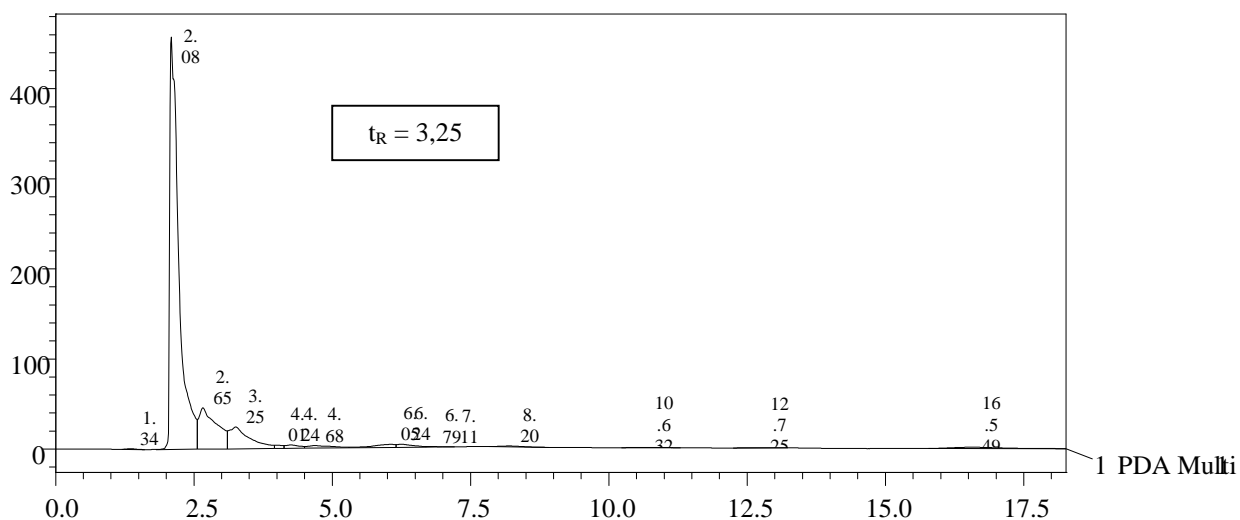
Figura 11 - Cromatograma da amostra 1 coletada na ETA.



Condições cromatográficas: coluna Microsorb-MV-C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m), fase móvel: 100% água (H₂O), temperatura ambiente, volume injeção 100 microlitros, tempo máximo da análise 6 minutos em 254 nm.

A amostra 2 de água coletada no ponto de lançamento da ETE IV, estação de tratamento por lodos ativados (Figura 12), teve seu volume inicial de 500 mL reduzidos a 45 mL. A análise por CLAE mostrou o tempo de retenção de 3,25 minutos (Anexo 3), comparada com a amostra padrão com tempo de retenção de 3,08 minutos, determinou que nestas condições não existem resíduos do fármaco 5-FU.

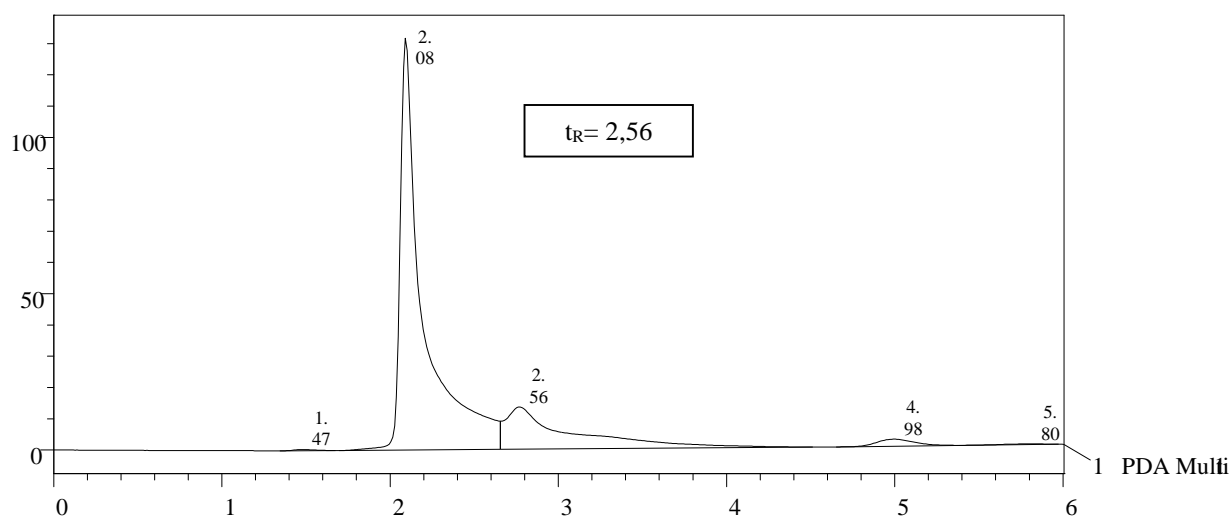
Figura 12 - Cromatograma da amostra 2 coletada no ponto de lançamento da ETE IV



Condições cromatográficas: coluna Microsorb-MV-C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m), fase móvel: 100% água (H₂O), temperatura ambiente, volume injeção 100 microlitros, tempo máximo da análise 17,50 minutos em 254 nm.

No córrego a cerca de 800 metros da ETE IV (Figura 13), a amostra 3 foi coletada no remanso do córrego, aproximadamente neste ponto o córrego tem 3 metros de largura e 50 cm de profundidade. Esta amostra tem efluente de esgoto tratado da ETE IV. Seu volume inicial de 500 mL foi reduzido a 62 mL. Analisada por CLAE teve o tempo de retenção em 2,56 minutos (Anexo 4). Comparada com o tempo da solução padrão de 3,08 minutos não mostrou nestas condições cromatográfica a presença do fármaco 5-FU.

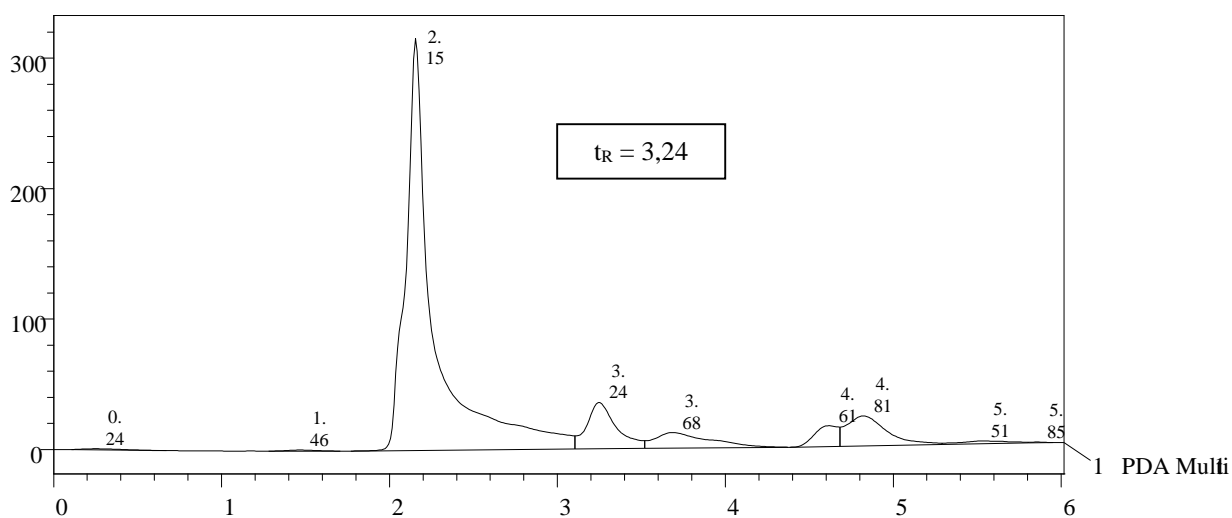
Figura 13 - Cromatograma da amostra 3 coletada a cerca de 800 metros da ETE IV



Condições cromatográficas: coluna Microsorb-MV-C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm), fase móvel: 100% água (H₂O), temperatura ambiente, volume injeção 100 microlitros, tempo máximo da análise 6 minutos em 254 nm.

A amostra 4 foi coletado diretamente no ponto de lançamento da ETE III (Figura 14), seu volume de 500 mL foi reduzido a 38 mL, analisada por CLAE teve o tempo de retenção em 3,24 minutos (Anexo 5), muito próximo ao tempo da amostra padrão de 3,08 minutos. Devido à proximidade do tempo de retenção do analito 5-FU, esta amostra foi analisada por espectrometria de massas, não sendo confirmada a presença do fármaco citotóxico fluoruracila.

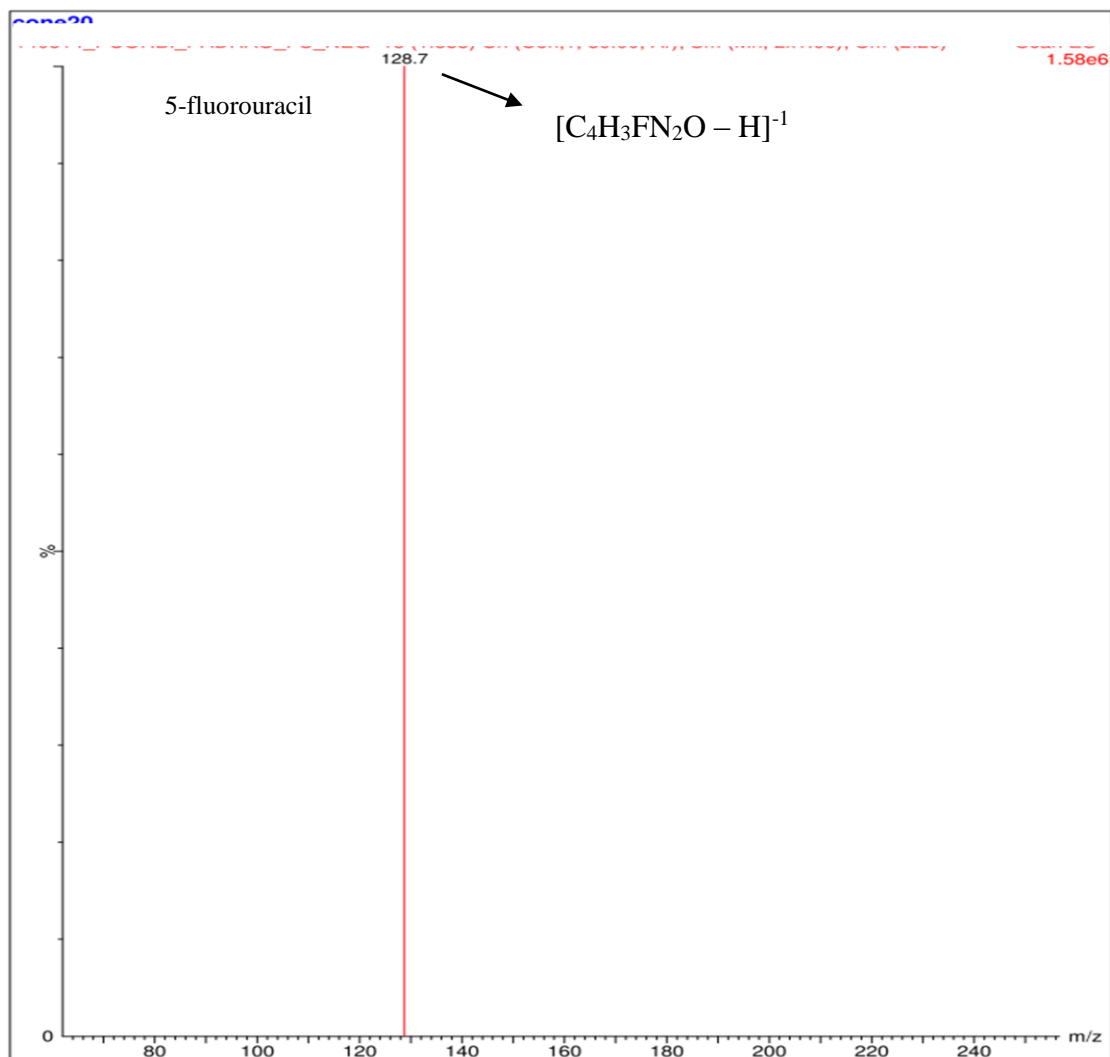
Figura 14 - Cromatograma da amostra 4 coletada na ETE III



Condições cromatográficas: coluna Microsorb-MV-C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m), fase móvel: 100% água (H₂O), temperatura ambiente, volume injeção 100 microlitros, tempo máximo da análise 6 minutos em 254 nm.

A Figura 15 mostra o Espectrômetro de massas enriquecido em laboratório com o fármaco puro fluoruracila 5-FU para detectar seu peso molecular $[C_4H_3FN_2O - H]^{-1}$ que foi de 128,77 (Anexo 6).

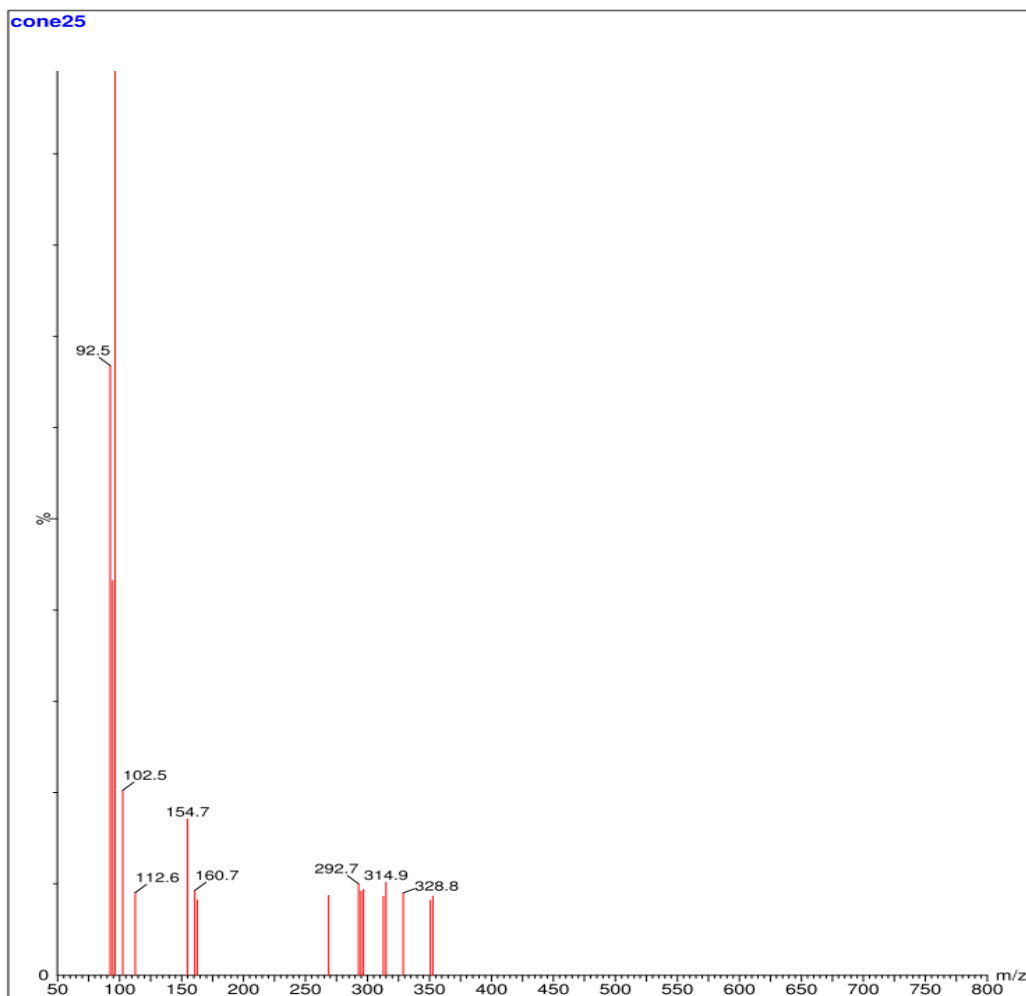
Figura 15 – Espectrômetro de massas da solução-padrão do 5-FU obtido a partir da diluição do medicamento utilizado



Condições do espectro de massa: infusão direta no espectrômetro de massas, empregando vazão da amostra de 50 mL/min e fluxo auxiliar de metanol: água 0,1% ácido fórmico 50:50 (v/v), vazão de 0,1 mL/min.

Amostra 4 analisado por espectrômetro de massas (Figura 16), mostrou não existir a massa molecular de 128,7; confirmado que nesta amostra sobre estas circunstâncias não a presença de resíduo do fármaco 5-FU (Anexo 7).

Figura 16 – Amostra 4 coletada na ETE III analisada por espectrômetro de massas



Condições do espectro de massa: infusão direta no espectrômetro de massas, empregando vazão da amostra de 50 mL/min e fluxo auxiliar de metanol: água 0,1% ácido fórmico 50:50 (v/v), vazão de 0,1 mL/min.

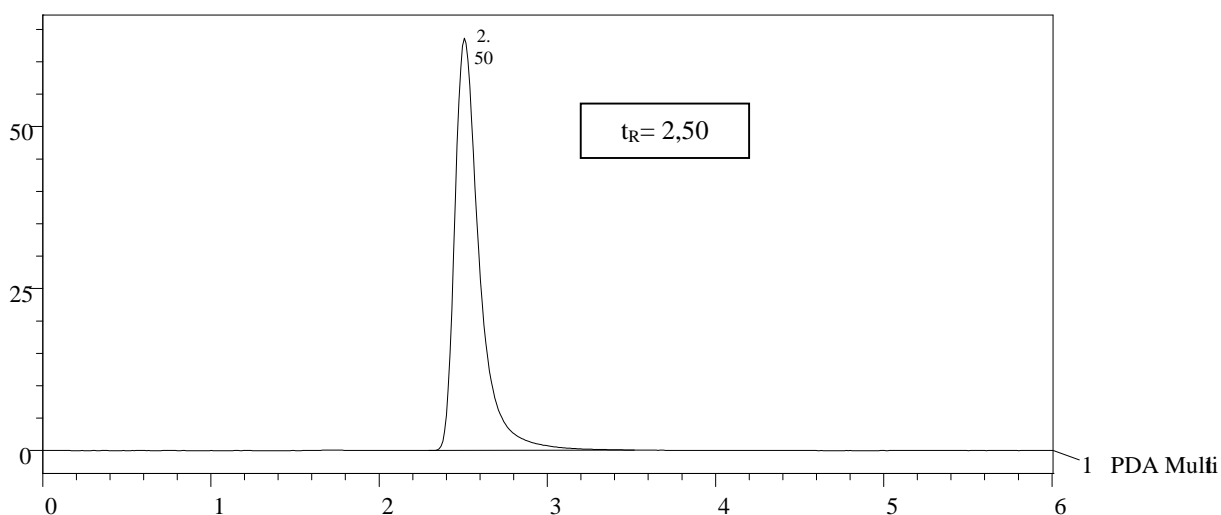
Na primeira etapa experimental deste trabalho, sob estas condições de análises, não foi possível a confirmação do fármaco citotóxico 5-FU por CLAE, nas amostras 1, 2, 3 e 4, entretanto para uma análise mais específica da amostra 4 foi utilizando detecção por espectrômetro de massas onde não foi confirmado a presença por massa molecular do fármaco 5-FU.

Repetiu-se o experimento desta vez partindo de um volume superior das amostras coletadas no córrego de 500 mL para 1000 mL, com objetivo de conseguir uma concentração maior do analito nas amostras após a redução no rotaevaporador, com bomba de vácuo e foram concentradas cerca de 50 mL.

Na primeira etapa experimental o tempo de retenção da solução padrão foi de 3,08 minutos, e na segunda de 2,50 minutos. Observou-se uma diferença no tempo de retenção entre a primeira etapa do trabalho e a segunda etapa com o tempo de retenção sem que houvesse uma explicação clara para o fato. Entretanto, o preparo das soluções padrão foi feito da mesma forma em ambas as etapas. Durante a construção da curva analítica, o mesmo padrão foi triplicado mantendo o tempo de retenção e, portanto, o resultado foi aceito do ponto de vista qualitativo.

A Figura 17 mostra o cromatograma da solução padrão do 5-FU, na concentração de 10,0 µg/mL, obtendo o tempo de retenção de 2,50 minutos (Anexo 8).

Figura 17 - Cromatograma do 5-FU obtido a partir da concentração de 10,0 µg/mL

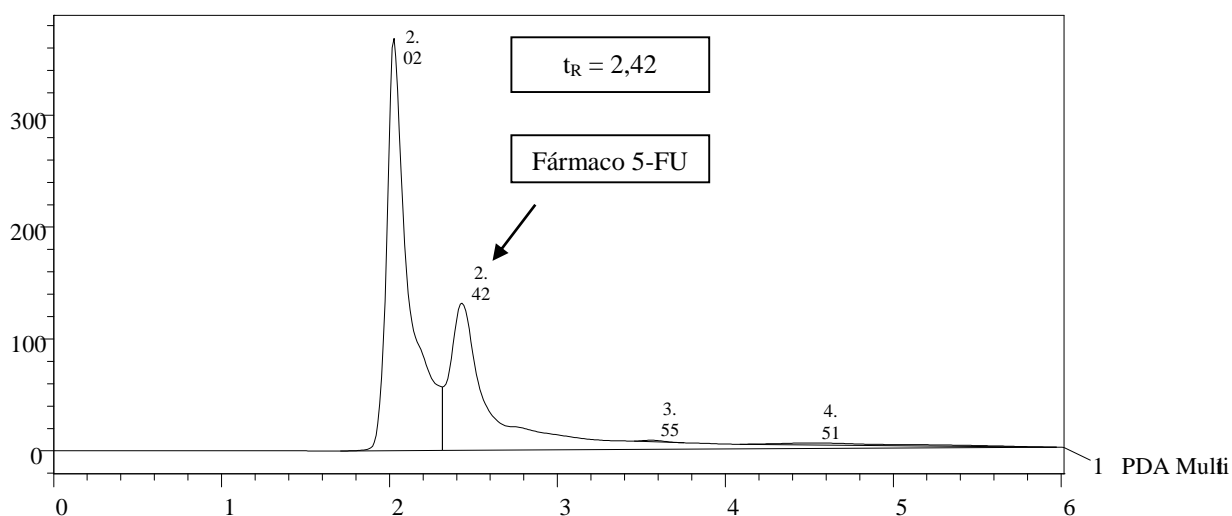


Condições cromatográficas: coluna Microsorb-MV-C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm), fase móvel: 100% água (H₂O), temperatura ambiente, volume injeção 100 microlitros, tempo máximo da análise 6 minutos em 254 nm.

Não foi feita análise da amostra 1, ETA bairro Pereira, pois neste ponto não há efluente de esgoto.

Figura 18 mostra o cromatograma da amostra 2 de água de efluente do esgoto tratado coletada no ponto de lançamento da ETE IV, estação de tratamento por lodos ativados. O volume inicial de 1000 mL foi reduzido a 40 mL. Ao ser analisada no CLAE, observa-se um tempo de retenção em 2,42 minutos (Anexo 9), bastante próximo ao tempo de retenção da amostra padrão de 2,50 minutos. Comparou-se o espectro correspondente a espécie em questão com o espectro do padrão, confirmando a presença do fármaco 5-FU nesta amostra. Observamos que foi refeita a análise por espectrometria de massas permitiu uma confirmação clara da presença do fármaco por massa molecular.

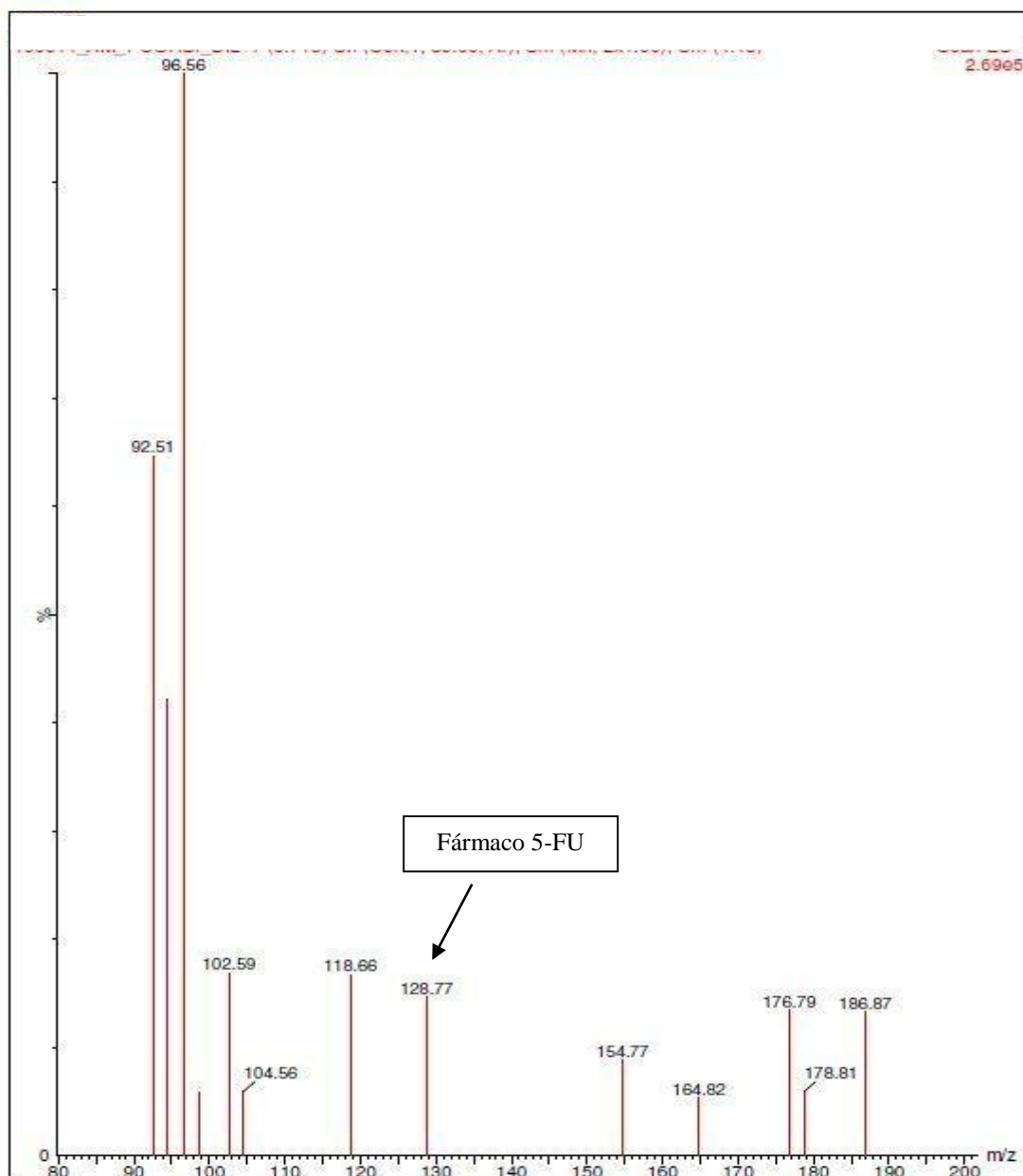
Figura 18 - Cromatograma da amostra 2 coletada no ponto de lançamento da ETE IV



Condições cromatográficas: coluna Microsorb-MV-C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m), fase móvel: 100% água (H₂O), temperatura ambiente, volume injeção 100 microlitros, tempo máximo da análise 6 minutos em 254 nm.

Amostra 2 (Figura 19) analisada por Espectrômetro de massas. Confirmando a presença do fármaco 5-FU por massa moléculas de 128,7 nesta amostra (Anexo 12).

Figura 19 – Confirmação da presença do fármaco fluoruracila na mostra 2 coletada no ponto de lançamento da ETE IV

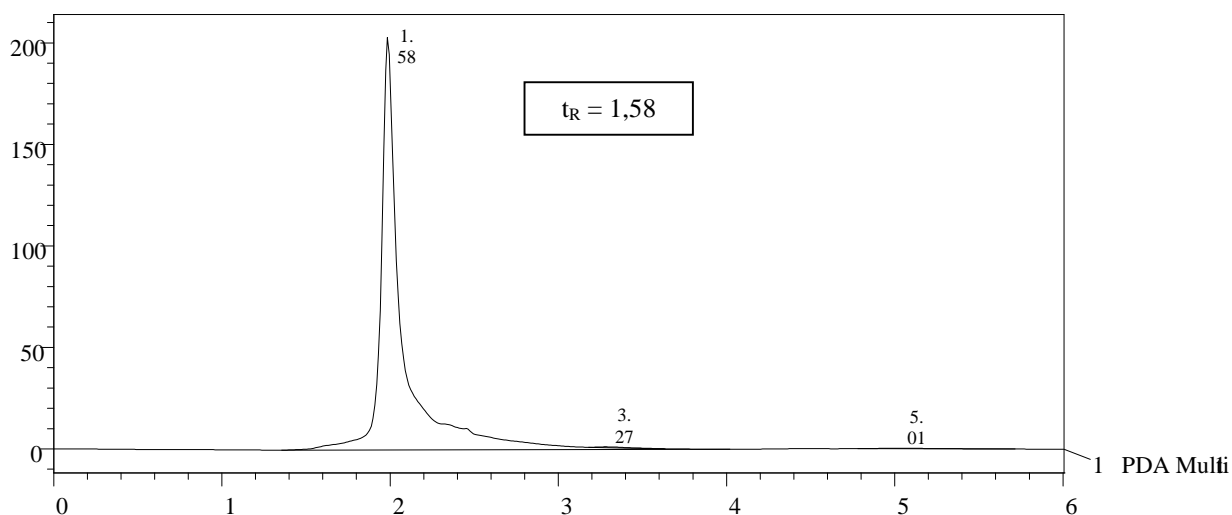


Condições do espectro de massa: infusão direta no espectrômetro de massas, empregando vazão da amostra de 50 mL/min e fluxo auxiliar de metanol: água 0,1% ácido fórmico 50:50 (v/v), vazão de 0,1 mL/min.

No córrego a cerca de 800 metros da ETE IV (Figura 20). A amostra 3 coletada teve seu volume inicial de 1000 mL reduzidas a 30 mL, ao ser analisada no CLAE teve o tempo de retenção em 1,58 minutos, quando comparada a amostra padrão de 2,50

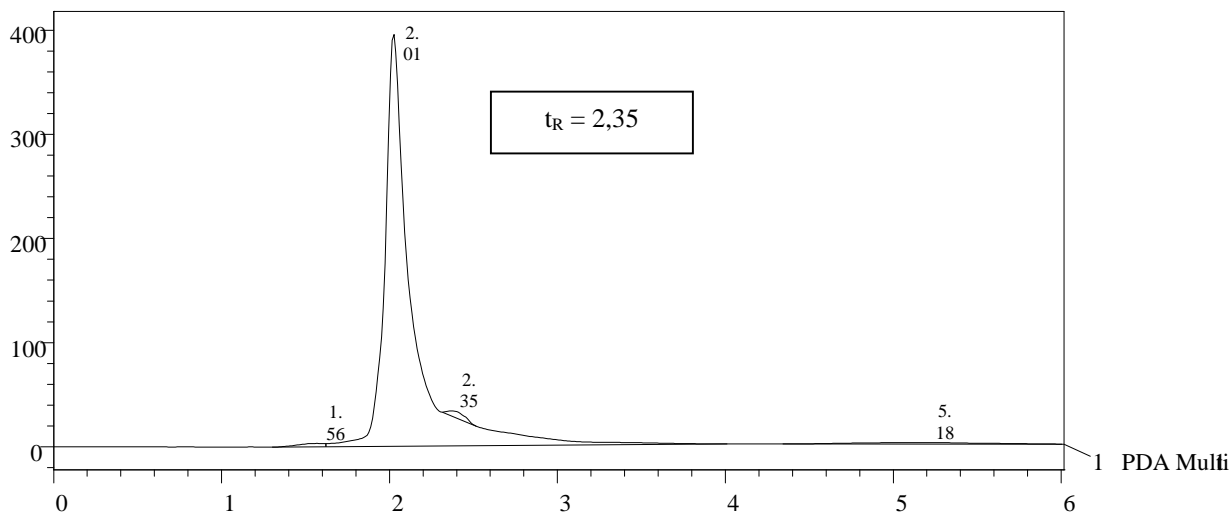
minutos (Anexo 10) fica comprovado a ausência de resíduos do medicamento 5-FU nesta amostra sob circunstâncias de análise.

Figura 20 - Cromatograma da amostra 3 coletada a cerca de 800 metros do ponto de lançamento da ETE IV



Condições cromatográficas: coluna Microsorb-MV-C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m), fase móvel: 100% água (H₂O), temperatura ambiente, volume injeção 100 microlitros, tempo máximo da análise 6 minutos em 254 nm.

Coletado no ponto de lançamento de efluente de esgoto da ETE III (Figura 21) a amostra 4 de 1000 mL foi reduzida 51 mL, colocada no CLAE teve o tempo de retenção em 2,35 minutos, quando comparada com a amostra padrão de 2,50 minutos (Anexo 11), mostra que neste ponto sob estas circunstâncias de análises não há presença do fármaco citotóxico fluoruracila 5-FU.

Figura 21 - Cromatograma da amostra 4 coletada no ponto de lançamento da ETE**III**

Condições cromatográficas: coluna Microsorb-MV-C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m), fase móvel: 100% água (H₂O), temperatura ambiente, volume injeção 100 microlitros, tempo máximo da análise 6 minutos em 254 nm.

4.2 Análises de toxicidade dos sedimentos

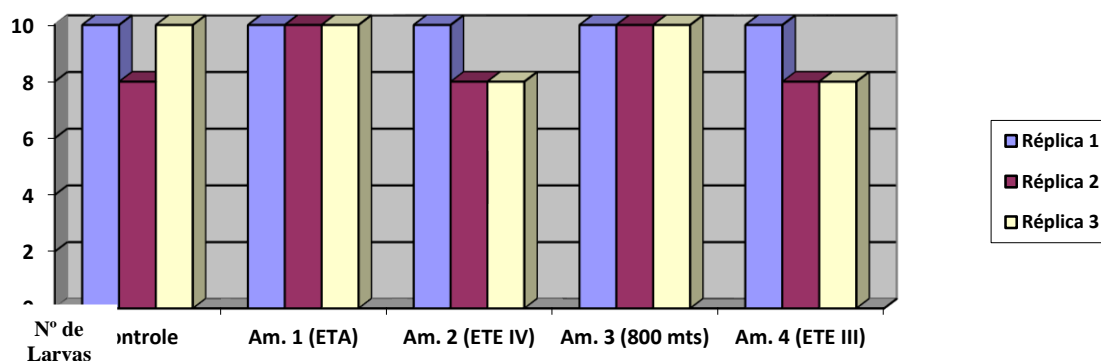
Os testes realizados foram para avaliar a qualidade dos sedimentos do Ribeirão das Pitangueiras por meio de bioensaios de toxicidade aguda utilizando larvas *C. xanthus*.

No teste controle, das 3 réplicas realizada utilizando 10 larvas em cada, houve a morte de 2 larvas na segunda réplica, uma estimativa de 6,6% de mortalidade o que demonstrando estar dentro do padrão de não toxicidade.

A amostra 2 de sedimento coletada no ponto de lançamento da ETE IV, sendo a única estação de tratamento por lodos ativados, e a amostra 4 de sedimento coletada diretamente no ponto de lançamento da ETE III, foram colocados na bandeja de cultivo com 10 larvas de *C. xanthus* para bioensaio de toxicidade, nesta primeira réplica as 10 larvas permanecerão vivas dentro do tempo estimado, porém a segunda e terceira réplica somente 8 larvas permaneceram vivas no tempo estimado da metodologia utilizada, tendo uma mortalidade de 4 larvas, uma estimativa de 13,3% de mortalidade, sob estas circunstâncias dos sedimentos coletados verificou-se a presença de toxicidade muito baixa, pois o controle também apresentou a morte de 2 larvas, uma estimativa de 6,6% de mortalidade.

A Figura 22 apresenta o gráfico com o teste de toxicidade utilizando a espécie de larvas *Chironomus xanthus*, verificando que na Estação de Tratamento de Água (ETA) e no remanso do córrego a cerca de 800 metros da ETE IV não houve morte das larvas dentro do tempo estimado da análise e que somente nos pontos de lançamento das Estações de Tratamento de Esgoto, ETE IV e III, houve mortandade de larvas mostrando uma possível toxicidade da biota aquática.

Figura 22 – Número das larvas vivas de *Chironomus xanthus* expostas ao sedimento do Ribeirão das Pitangueiras (Barretos/SP) durante o período de estudos.



Os bioensaios de toxicidade com amostras de sedimentos do Ribeirão das Pitangueiras mostra que houve uma mortalidade de apenas 13,3% das larvas o que é considerado nestas circunstâncias de análise muito fraco o indícios de toxicidade.

Os testes de sedimentos não analisam o fármaco 5-FU em estudo, e sim a ação conjunta de compostos diversos não especificados, sobre estas circunstâncias de análise, temos uma dimensão da qualidade dos sedimentos no córrego, que podem ser alterados de acordo com o volume de efluentes de esgoto tratado lançados no Ribeirão das Pitangueiras durante o ano.

5 DISCUSSÃO

No Brasil o Ministério da Saúde (MS) instituiu no Sistema Único de Saúde (SUS) através da portaria nº 2.048 de 3 setembro de 2009 a Política Nacional de Atenção Oncológica (Pnao) definindo uma série de ações preventivas e assistenciais ao doente de câncer. O Pnao tem por objetivo abranger em todo o país um conjunto de medidas, possibilitando uma maior integração entre os Estados, municípios e as regiões de saúde, esta medida foi implementada pela crescente mortalidade por câncer no Brasil (Oliveira, 2011).

Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA) no Brasil existem 276 centros hospitalares credenciados no tratamento de pacientes com câncer, distribuídos em todo o território nacional, em cada Estado existe pelo menos um centro habilitado no tratamento oncológico.

Com o crescimento da doença no país, automaticamente houve o aumento de drogas utilizadas no tratamento, gerando uma maior quantidade de resíduos hospitalares, ou seja, no tratamento do câncer inúmeros fármacos são utilizados sendo o medicamento citotóxico fluoruracila (5-FU) um dos mais usados, devido à sua função de inibir o crescimento celular (MATTHES, 2010).

Por ser um medicamento citotóxico, depois de eliminados nos dejetos dos pacientes em tratamento quimioterápicos, estes efluentes de esgoto deve ser monitorados, pois sua decomposição requer um maior tempo para degradação do que os de mais medicamentos utilizados, também pelo fato de ser resistente à decomposição por bactérias, persistindo por maior tempo no meio ambiente (JOHNSON et al., 2008).

A contaminação por fluoruracila e outros medicamentos utilizados no tratamento do câncer, tem sido tema de estudos, justamente por despertar preocupação nos efeitos que podem causar a saúde humana e ao meio ambiente. Dessa forma por se tratar de algo recente não se sabe os efeitos que pode causar ao eco-sistema, o que leva a uma maior atenção no monitoramento dos efluentes de esgoto (BILA e DEZOTTI, 2003).

Johnson (2008) encontrou no norte do Reino Unido a concentração de 5,50 µg/L de fluoruracila nas águas dos lagos Aire e Calder em trechos onde a água é captada para o abastecimento da população. Os resultados apontam que mesmo com o tratamento prévio antes do consumo, o medicamento pode persistir e assim representar risco a saúde, por exemplo, das mulheres gestantes. Ainda não está claro até que ponto as

baixas concentrações podem afetar fauna e flora, e que, mesmo com a utilização da tecnologia para tratar a água não existe estudo adequado que comprove sua eficácia.

No presente estudo fica claro a presença na amostra 2, coletada no ponto de lançamento da ETE IV resíduos do fármaco 5-FU, porém o resultado não quantificado devido à presença de uma substância desconhecida que interferiu na resolução do tempo de retenção cromatográfico.

Nestas condições de análises não há como prever os efeitos ao meio ambiente e à saúde humana. Para uma análise mais acurada seria necessário varias coletas de amostras em dias e horários diferentes, quantificando o volume do principio ativo do fármaco em estudo que chega ao córrego, levando em consideração a variação do período de atendimento do hospital oncológico.

As leis existentes que tratam sobre descarte de efluentes de esgoto em cidades com grandes centros hospitalares não define o tipo de medicamento que pode ser eliminado em esgoto comum; não existe no Brasil legislação específica que classifica cada fármaco e seus efeitos nocivos ao meio ambiente, deixando sempre uma lacuna, o que nos leva a estudar os efeitos dos medicamentos citotóxicos entre eles o fluoruracila 5-FU, pois sua principal função biológica é inibir o crescimento das células cancerígenas.

O estudo mostra a necessidade de mais pesquisas para conhecer os efeitos desse fármaco na biota aquática, porém pode-se sugerir um monitoramento mais apurado das ETEs e adaptações de outros processos de tratamento que complementem a remoção dos princípios ativos dos fluoruracila.

Uma adaptação da Biomassa pode trazer resultados mais eficazes, este processo de adaptação mostrou-se capaz de degradar um maior numero de compostos orgânicos, alcançando uma melhora nos resultados de tratamento de efluentes por lodos ativados (CORDI, 2008).

Em virtude do uso de medicamento altamente tóxico no tratamento do câncer, a cidade de Barretos deve ter um tratamento de efluentes com eficácia garantida para evitar a contaminação ambiental do Ribeirão das Pitangueiras, embora vários fatores estejam envolvidos neste sistema de tratamento de esgoto, fica evidente a presença do resíduo do fármaco fluoruracila no ponto de lançamento da ETE IV no córrego.

Foram coletadas amostras de sedimentos nos mesmos pontos de coleta das amostras de efluentes de água para testes de toxicidades, a fim de avaliar a qualidades dos sedimentos do córrego.

O sedimento é o habitat de muitos organismos, sendo um indicativo da qualidade do local. Nestes sedimentos ficam grandes quantidades de compostos orgânicos depositados no fundo do córrego ou em seus remansos, estes sedimentos são ferramenta utilizada no monitoramento da qualidade local (COSTA et al., 2008).

Segundo Dornfeld (2006) nos análise de sedimentos é considerando que acima de 50% de mortandade das larvas representa toxicidade, entre 10% e 50% de mortandade demonstra indício de toxicidade e abaixo de 10% não é tóxico.

O teste de toxicidade de sedimentos mostra que houve 13,3% de mortandade das larvas cultivadas com sedimentos das ETE IV e III, podendo concluir que nestas circunstâncias sugere um indicio de toxicidade nestes sedimentos.

Os testes de toxicidade são ferramentas importantes exigidos por leis no Brasil como a resolução nº 357 do CONAMA que refere as condições e padrões no lançamento de efluentes ao meio ambiente. As informações obtidas por estes testes sinalizam o caminho a percorrer para amenizar o impacto no meio aquático.

Mediante a situação atual da degradação do meio ambiente, fica evidenciado que a natureza por si só não tem condições de degradar todos os resíduos que são despejados nos córregos e rios, devendo haver uma interferência mais acurada do poder público e sociedade, na intenção de minimizar os impactos gerados a todo o eco-sistema.

6 CONCLUSÕES

No Brasil a literatura mostra que parte dos medicamentos consumidos pela população são descartados nos efluentes de esgoto comum, causando danos ao meio ambiente, este acúmulo de resíduos que chegam aos rios pode contaminar os recursos hídricos, provocando a mortandade de plantas e animais ou a proliferação de doenças.

Sob os medicamentos citotóxicos incluindo o fluoruracila 5-FU, no Brasil, existem poucos estudos sobre esta droga e os danos que pode causar no meio ambiente, o que demanda uma maior atenção por parte dos pesquisadores, do poder público e sociedade. A Constituição Federal e a Lei nº 8.080/90 mostra a necessidade de serem criadas políticas públicas, com a participação da sociedade, como prestação positiva do Estado, no sentido de resguardar o bem estar da população no que diz sob danos que pode vir ser prejudicial, porém somente com um plano eficiente apresentando alternativas que diminua o impacto ao meio ambiente, esta sociedade pode estar resguardada de problemas futuros com o surgimento de novas doenças.

A legislação brasileira é bem definida no que se diz respeito às cidades que tem grandes centros hospitalares e na forma de como deve ser tratado os dejetos de efluentes de esgoto gerado por estas, neste caso específico, a cidade de Barretos/ SP; cumpre a legislação, pois possui um centro de tratamento por lodos ativados.

Neste estudo foi feito apenas algumas coletas de amostras em dias e horários diferenciados, ainda assim, foi detectada a presença do fármaco fluoruracila (5-FU) em uma das amostras coletadas. A quantidade de amostra coletada na primeira etapa, bem como o clima da época não foi suficiente para evidenciar o composto químico nas águas do córrego, somente em uma segundo etapa com um volume maior do analito e em clima de estiagem foi encontrado o medicamento, não podendo afirmar com precisão a quantidade encontrada devido na amostra onde foi encontrado o resíduo do fármaco ter uma substância não identificada paralelo a substância procurada.

Foram coletados amostras de sedimentos do córrego nos mesmos pontos de coletas dos efluentes e para o teste de toxicidade os organismos utilizados foram da espécie *Chironomus xanthus* cujos exemplares foram obtidos em cultura mantida no laboratório de EESC-USP, pois esta espécie é muito utilizada em estudos de ecotoxicológicos. Os resultados obtidos mostrarão não haver nesta circunstância contaminação significativa nos sedimentos do Ribeirão das Pitangueiras, das amostras obtidas, a amostra 1 coletada na ETA e a amostra 3 coletada no remanso do córrego

cerca de 800 metros da ETE IV não teve mortalidade das larvas *C. xanthus*, as demais amostras de sedimentos coletado nos pontos de lançamento da ETE III e IV, tiveram morte das larvas em uma estimativa de 13,3%, sendo no mesmo ponto de coleta da amostra de água da ETE IV onde foi encontrado resíduos do fármaco citotóxico fluoruracila (5-FU) por CLA. Os testes nos sedimentos sugerem uma baixa toxicidade, o que não tem como prever nestas circunstâncias a interferência que pode ocorrer na sobrevivência dos organismos, não podendo esquecer que pode haver mudanças devido a fatores diversos decorrentes ao fluxo de atendimento do hospital oncológico.

Portanto, está plenamente evidenciado que ao longo do ano, volume de efluentes de esgoto gerados, a grande demanda na procura do tratamento do câncer, pode haver um aumento do princípio ativo do fluoruracila nas águas do córrego, o que requer monitoramento mais acurado para verificar possíveis efeitos nocivos à biota.

A partir desses resultados, esta pesquisa mostra a presença do fármaco citotóxico fluoruracila (5-FU) nas águas do Ribeirão das Pitangueiras, especificamente no ponto de lançamento da estação de tratamento de esgoto IV, que utiliza o sistema de tratamento por lodos ativados, demonstrando não haver a eliminação total do fármaco por este sistema. Nestas condições após a água retornar ao córrego é captado novamente pela população das margens que a utiliza para agricultura e criação de animais, bem como retira deste córrego peixes para sua alimentação.

Há crescente preocupação mundial sobre os resíduos de fármacos no ambiente aquáticos e os efeitos nocivos que estes podem causar. O fluoruracila tem sido muito pesquisado nos outros países, como no Reino Unido, mas não se desenvolveu um método eficaz capaz de reter os resíduos do fármaco nas ETEs e pouco é conhecido os efeitos desta substância no meio ambiente, uma vez conhecida e quantificada serão necessários a formulação de Políticas Públicas relacionado à droga e a quantidade de concentração permitida para um descarte seguro. No presente momento o monitoramento destes efluentes pode ser de grande importância para evitar problemas ambientais, pois é crescente o caso de câncer pelo mundo havendo uma demanda maior de medicamento citotóxico utilizados no tratamento da doença entre eles o fluoruracila.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, C. C.; **Interfaces administrativas e clínicas**. Revista farmácia hospitalar, Instituto do câncer do Ceará, Fortaleza, março/abril/2009, p. 01-24.

ANVISA, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/home>, acesso em 21 out 2013, as 11:54:05.

BALBINO, E.C.; BALBINO, M,L,C. Âmbito Jurídico, O descarte de medicamentos no Brasil: um olhas socioeconômico e ambiental do lixo no Brasil. http://www.ambito-juridico.com.br/site/index.php?artigo_id=9187&n_link=revista_artigos_leitura, acesso em 12 jun 2014, as 10:30:25.

BELLEN, H. M.; **Indicadores de sustentabilidade: uma análise comparativa**. Rio de janeiro: Editora FGV, 2006.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M.; **Fármacos no meio ambiente**. Revista Química Nova, vol. 26, num. 4, p. 523 – 530, Rio de Janeiro/RJ. 2003.

BRASIL, 2005. **Resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e da outras providencias.

CORDI, L.; ASSALIN, M. R.; DIEZ, M. C.; DURAN, N.; Engenharia Ambiental. **Montagem, partida e operação de um sistema de lodos ativados para o tratamento de efluentes: Parâmetros físicos-químicos e biológicos**. Espesirito Santo do Pinhal, v. 5, n. 1, p. 97-115, jan/abr 2008.

COSTA, C.R.; OLIVI, P.; BOTTA, C.M.R.; ESPÍNDOLA, E.L.G. **A toxicidade em ambientes Aquáticos: discussão e métodos de Avaliação**. Quim. Nova, Vol. 31, No. 7, 1820-1830, 2008.

DORNFELD, C.B. **Utilização de Chironomussp. (Diptera, Chironomidae) para a avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais**. 2006. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

FONSECA, A.L. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba/SP através de testes de toxicidade com invertebrados**. São Carlos. 217p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. 1997.

FREIRE, R. S.; PELEGRINI, R.; KUBOTA, L. T.; DURAN, N.; ZAMORA, P. P.; **Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas**. Revista Química Nova, vol. 23, Campinas/SP. Abr/2000.

GAUI, M. F. D.; **Interações medicamentosas no paciente oncológico**, 2010, disponível em: http://issuu.com/revista-onco/docs/onco_1, acesso em 24 junho 2013 as 20:12:13.

GIODA, R. S. **Monitorização ambiental de fármacos citotóxico**, Porto Alegre, 2010.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A.; BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L.; **Farmacologia: As bases farmacológicas a terapêutica**. Ed. 11, Porto Alegre: AMGH, 2010.

Hospital de Câncer de Barretos, disponível em:

<http://www.hcancerbarretos.com.br/institucional/historia>, acesso em 1 junho 2013, as 18:46:25.

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, disponível em:

<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=350550#>, acesso em 1 junho 2013 as 18:21:02.

INCA, **Instituto Nacional do Câncer**.

<HTTP://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/cancer/site/tratamento/ondetratarsus>, acesso em 06 out 2014 as 20:12:15.

JOHNSON C.A; JÜRGENS D.M; WILLIAMS J.R; KÜMMERER K; KORTENKAMP A; SUMPTER P.J. **Do cytotoxic chemotherapy drugs discharged into Rivers pose a risk to the environment and human health? An overview and UK case study**. ELSEVIER, 2008, Ed. 348, 167-175.

LOPES, A.; IYEYASU, H.; CASTRO, M. R. P. S. [et al.]. **Oncologia para a graduação**. 2 ed. São Paulo; SP: Tecmedd, 2008.

LIGHTFOOT, N. F; MAIER, E. A. **Análise microbiológica de alimentos e água**. Edição da Fundação Calouste Gulbenkian, 1998.

MATTHES, A. G. Z.; **Análise de fatores clínicos, radiológicos e patológicos que influenciam o tratamento cirúrgico do câncer de mama localmente avançado, submetido à quimioterapia neoadjuvante**. Botucatu, 2010.

MATTOS, A. C, KHALIL, N. M; MAINNARDES, R. M. **Development and validation of na HPLC method for the determination of fluorouracil in polymer nanoparticles**. Brazilian Journal of pharmaceutical sciences, vol. 49, n. 1, jan/mar., 2013.

MOURA, L. L.; SILVA, R. F.; IX SEGeT – Simpósio de excelência em gestão de tecnologia: **Avaliação do impacto ambiental gerado pelos resíduos de um hospital universitário de alta complexidade**. Rio de Janeiro/RJ. 2012.

MAZZER, C.;CAVALCANTI, O.A. **Introdução à gestão ambiental de resíduos**, Revista Informa, v.16, nº 11-12, 2004.

NOVELLI, A. **Efeito do Vertimec® 18CE e de seu princípio ativo, a abamectina, em ambiente aquático: uma análise laboratorial e in situ**. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental). USP, 2010.

OLIVEIRA, S. C.; CRUZ, S. C. G. R.; MATSUI, T.; **Curso de especialização profissional de nível técnico em enfermagem – livro aluno: oncologia.** São Paulo: FUNDAP, 2011.

PARRON, L. M., MUNIZ, D. H. F.; PEREIRA, C. M.; **Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de águas.** Colombo: Embrapa Floresta, 2011.

POLITICA NACIONAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS. **Lei 12.305/2010.**
<http://www.mma.gov.br/pol%C3%ADtica-de-res%C3%ADuos-s%C3%B3lidos>,
acesso em 12 jun 2014 as 10:58:12.

RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLERIADA - **RDC nº 33, de 25 de fevereiro de 2003.**<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/10d6dd00474597439fb6df3fbc4c6735/RDC+N%C2%BA+306,+DE+7+DE+DEZEMBRO+DE+2004.pdf?MOD=AJPERES>,
acesso em 12 jun 2014 as 11:14:16.

REVISTA ELETRONICA ONCO. **O que é oncologia.**
<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/o-que-e-oncologia/82/1/>, acesso em 29 maio 2013, as 15:17:02.

REVISTA QUIMICA NOVA. **Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas**, vol.33, ano 6, São Paulo, 2010. Acesso em <http://dx.doi.org/10.1590/SO100-4042100000600026>.

ROCHA, F.L.R; MARZIALE, M.H.P.; ROBAZZI, M.L.C.C.; **Perigos potenciais a que estão expostos os trabalhadores de enfermagem na manipulação de quimioterápicos antineoplásicos: conhece-os para prevenir.** Ver Latino-am Enfermagem maio/junho/ 2004.

SABIÁ, **Jornal.** Ed. 2; Ano 1, Barretos/SP. Maio 2007.

SAAEB - **Serviço Autônomo de Água e Esgoto de Barretos**, 1971. Disponível em: <http://www.saaeb.com.br/tratamento-esgoto.htm>, acesso em 07 julho 2013, as 23:50:25.

SEIFFERT, M. E. B.; **Gestão ambiental:** Instrumentos, Esferas de Ação e educação Ambiental. 1. Ed. São Paulo, Atlas, 2007.

SEMINÁRIO NACIONAL SOBRE DESASTRES AMBIENTAIS, Curitiba/PR; 2000.

SILVA, J. V.; **Bioética: meio ambiente, saúde e pesquisa**, 1 ed. São Paulo, Látria, 2009.

SINGH, P.; TYAGI, G.; MEHROTRA, R.; BAKHSHI, A. K. Thermal stability of 5-fluorouracil using diffuse reflectance infrared spectroscopy. *Drug Testing Analysis* 2009, vol. 1, p. 240 – 244.

SISAGUA . **Sistema Cemig de monitoramento e Controle de qualidade da água de reservatório.** Manual de procedimentos de Metodologia de análise de água. Belo Horizonte: Cemig, 2009.

STRIXINO, S. & G. STRIXINO. **Ciclo de vida de *Chironomussancticaroli* Strixino & Strixino (Diptera, Chironomidae)**. Revista Brasileira de Entomologia. 26: 183–189. 1982.

TEIXEIRA, A. M.; SIMÕES, A. R.; TABAQUINHO, S.; **Preparação de medicamentos citotóxicos: riscos profissionais e condições de trabalho**. Lisboa, 2001.

KUMMERER, K. **Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources a review**. Pergamon, 2001, Ed. 45, p. 957-969.

[HTTP://www.anvisa.gov.br/divulga/public/livro_eletronico/neoplasia](http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/livro_eletronico/neoplasia), acesso em 18 março 2014, as 21:02:00.

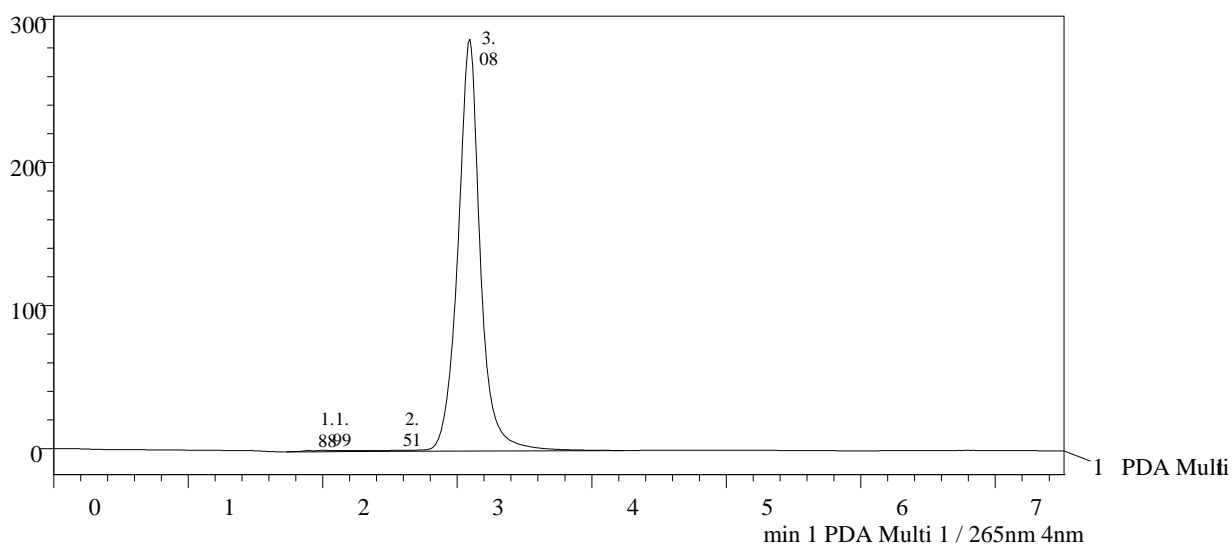
ANEXOS

Anexo 1 – Cromatograma das Soluções padrão do 5-FU obtido a partir da diluição do medicamento utilizado na concentração 10,0 µg/mL.

SampleInformation

Acquiredby : Admin
 SampleName : pd-10-3
 Sample ID : pd-10-3
 Tray# : 1
 Vail# : 8
 Injection Volume : 100 uL
 Data Filename : pd -10-7.lcd
 MethodFilename :
 isofluorouracil.lcm
 Batch Filename : 24abril14.lcb
 ReportFilename : relatoriopadrao.lcr
 Date Acquired : 25/4/2014
 11:04:32
 Data Processed : 25/4/2014
 11:12:04

Chromatogram
 pd-10-3 C:\LabSolutions\Data\Data\Prof Pedro Corbi\amostras 5-Fu\pd -10-7.lcd
 mAU



PeakTable

PDA Ch1 265nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.885	4485	754	0.133	0.260
2	1.995	11099	994	0.328	0.342
3	2.517	18599	685	0.550	0.236
4	3.085	3349084	287836	98.990	99.162
Total		3383268	290270	100.000	100.000

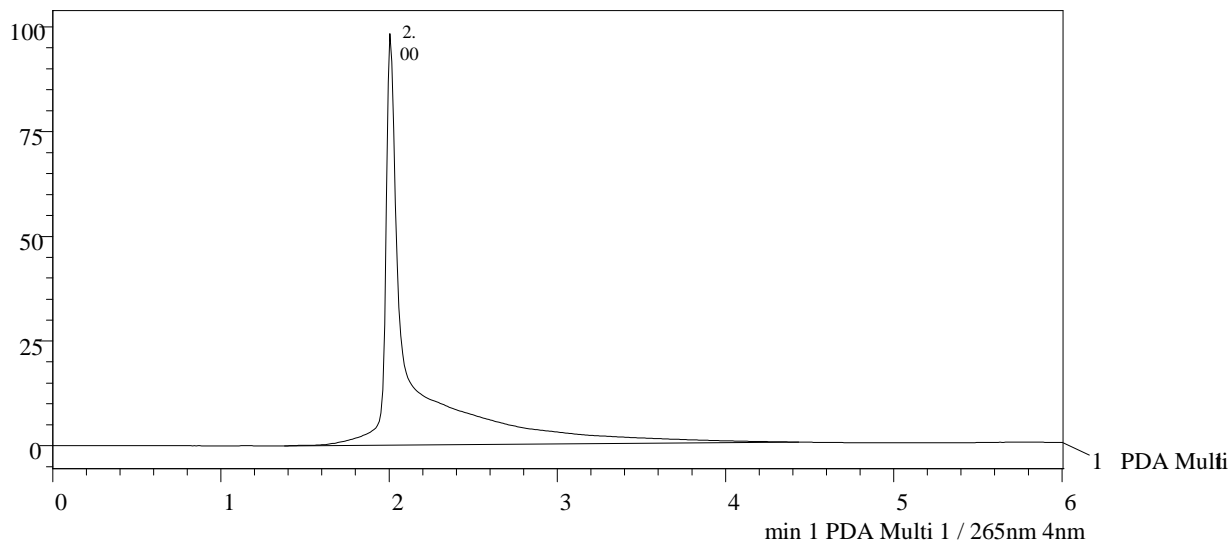
Anexo 2 – Cromatograma da amostra 1 coletado na ETA.

SampleInformation

Acquiredby : Admin
 SampleName : 25abril-am1
 Sample ID : 25abril-am1
 Tray# : 1
 Vail# : 9
 Injection Volume : 50 uL
 Data Filename : 25abril-am7.lcd
 MethodFilename :
 isofluorouracil.lcm
 Batch Filename : 25abril14.lcb
 ReportFilename : relatoriopadrao.lcr
 Date Acquired : 25/4/2014
 14:29:36
 Data Processed : 25/4/2014
 14:35:39

Chromatogram

25abril-am1 C:\LabSolutions\Data\Data\Prof Pedro Corbi\amostras 5-Fu\25abril-am7.lcd
mAU



PeakTable
PDA Ch1 265nm 4nm

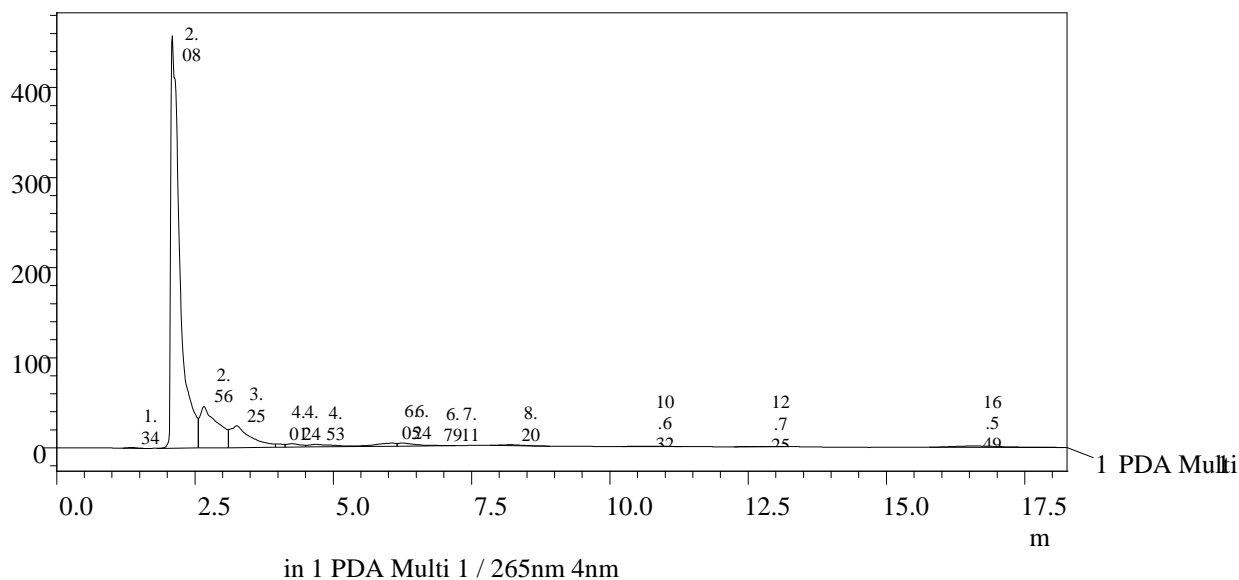
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.001	938015	98265	100.000	100.000
Total		938015	98265	100.000	100.000

Anexo 3 – Cromatograma da amostra 2 coletada no ponto de lançamento da ETE IV.

SampleInformation

Acquiredby : Admin
 SampleName : 25abril- amostra 2-test-agua pura-2
 Sample ID : 25abril- amostra 2-test-agua pu
 Tray# : 1
 Vail# : 10
 Injection Volume : 50 uL
 Data Filename : 25abril- amostra 2-test-agua pura-2.lcd
 MethodFilename : isofluorouracil.lcm
 Batch Filename :
 ReportFilename : relatoriopadrao.lcr
 Date Acquired : 25/4/2014 11:14:29
 Data Processed : 25/4/2014 11:32:47

Chromatogram - 25abril- amostra 2-test-agua pura-2 C:\LabSolutions\Data\Data\Prof Pedro Corbi\amostras 5-Fu\25abril- amostra 2-test-agua pura-2.lcd mAU



PeakTable
 PDA Ch1 265nm 4nm

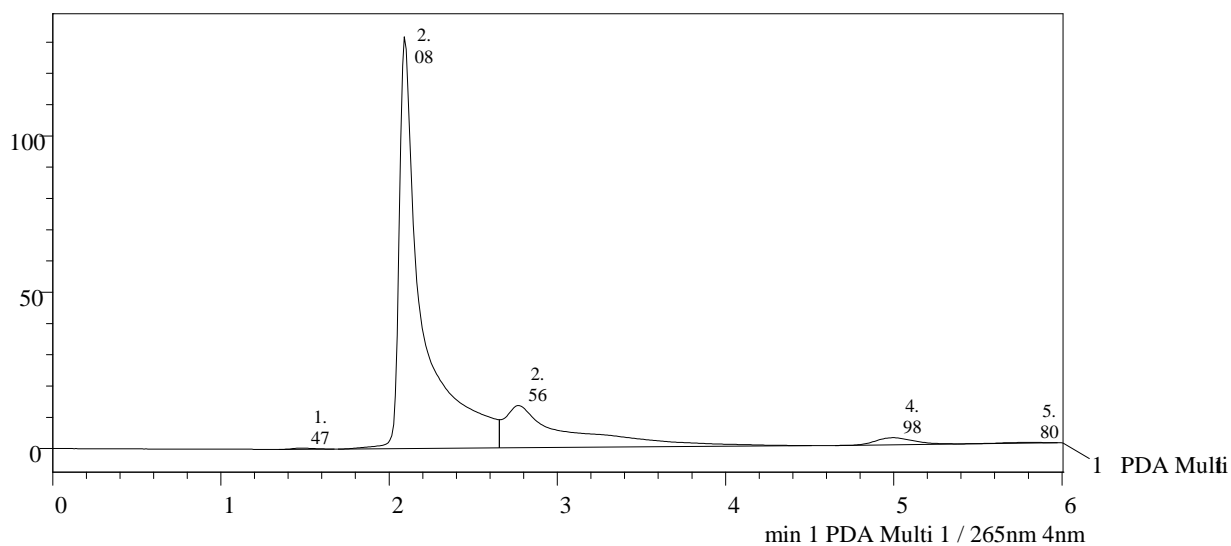
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.341	8529	696	0.115	0.126
2	2.083	5248506	457845	70.730	83.261
3	2.656	1032416	46041	13.913	8.373
4	3.251	631399	24376	8.509	4.433
5	4.011	34416	3569	0.464	0.649
6	4.249	65701	3764	0.885	0.685
7	4.683	84769	2838	1.142	0.516
8	6.050	96030	3417	1.294	0.621
9	6.247	67504	3378	0.910	0.614
10	6.799	8120	691	0.109	0.126
11	7.115	1435	142	0.019	0.026
12	8.207	26259	962	0.354	0.175
13	10.632	12447	392	0.168	0.071
14	12.725	10962	338	0.148	0.062
15	16.549	92022	1444	1.240	0.263
Total		7420516	549894	100.000	100.000

Anexo 4 – Cromatograma da amostra 3 coletado a cerca de 800 mts da ETE IV.

sampleInformation

Acquiredby : Admin
 SampleName : 25abril-am3
 Sample ID : 25abril-am3
 Tray# : 1
 Vail# : 11
 Injection Volume : 50 uL
 Data Filename : 25abril-am8.lcd
 MethodFilename :
 isofluorouracil.lcm
 Batch Filename : 25abril14.lcb
 ReportFilename : relatoriopadrao.lcr
 Date Acquired : 25/4/2014
 14:36:10
 Data Processed : 25/4/2014
 14:42:12

Chromatogram
 25abril-am3 C:\LabSolutions\Data\Data\Prof Pedro Corbi\amostras 5-Fu\25abril-am8.lcd
 mAU



PeakTable
 PDA Ch1 265nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.472	3353	367	0.202	0.247
2	2.087	1253199	131731	75.394	88.935
3	2.563	365166	13521	21.969	9.128
4	4.989	35684	2265	2.147	1.529
5	5.805	4796	237	0.289	0.160
Total		1662198	148121	100.000	100.000

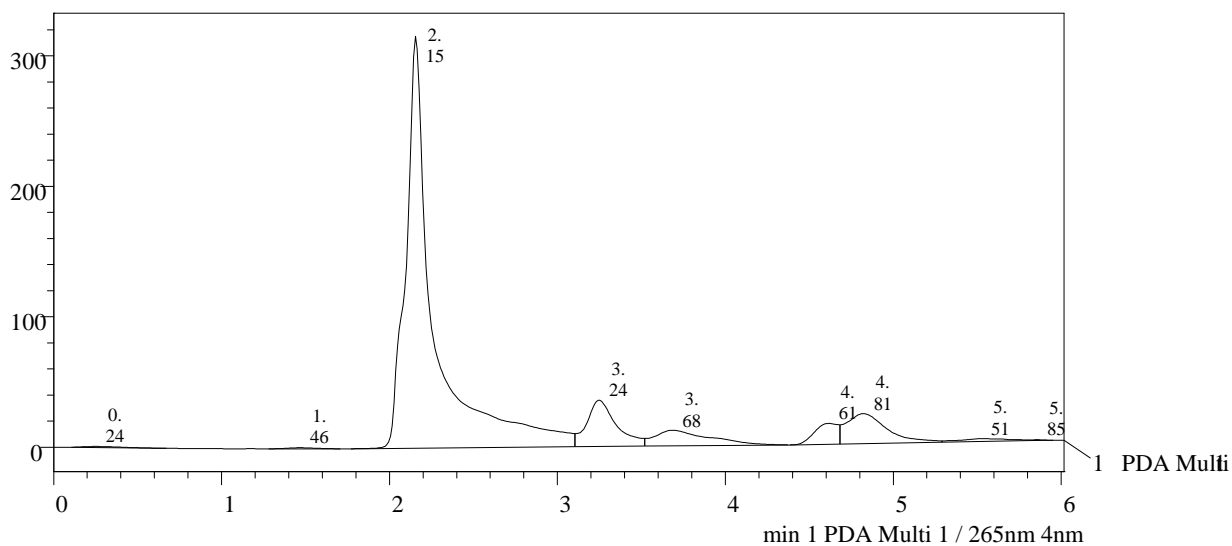
Anexo 5 – Cromatograma da amostra 4 coletado na ETE III.

SampleInformation

Acquiredby : Admin
 SampleName : 25abril-am4
 Sample ID : 25abril-am4
 Tray# : 1
 Vail# : 12
 Injection Volume : 50 uL
 Data Filename : 25abril-am9.lcd
 MethodFilename :
 isofluorouracil.lcm
 Batch Filename : 25abril14.lcb
 ReportFilename : relatoriopadrao.lcr
 Date Acquired : 25/4/2014
 14:42:43
 Data Processed : 25/4/2014
 14:48:46

Chromatogram

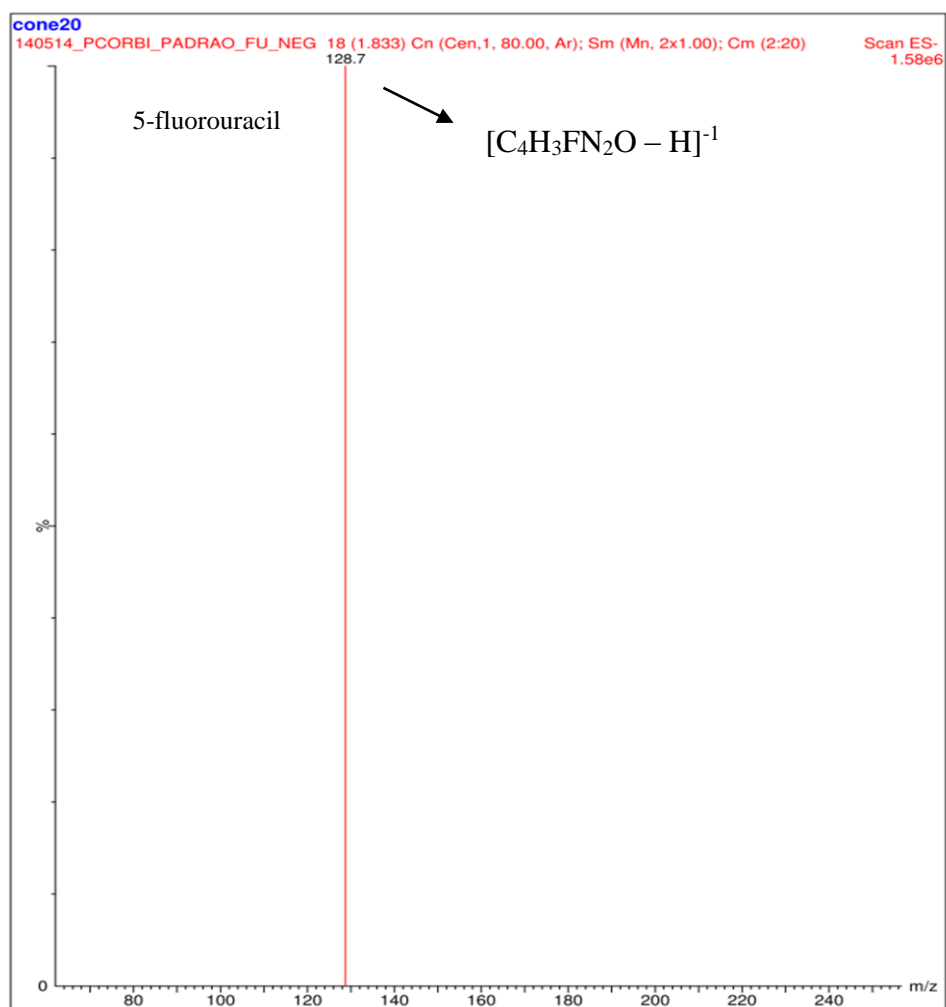
25abril-am4 C:\LabSolutions\Data\Data\Prof Pedro Corbi\amostras 5-Fu\25abril-am9.lcd
mAU



PeakTable
PDA Ch1 265nm 4nm

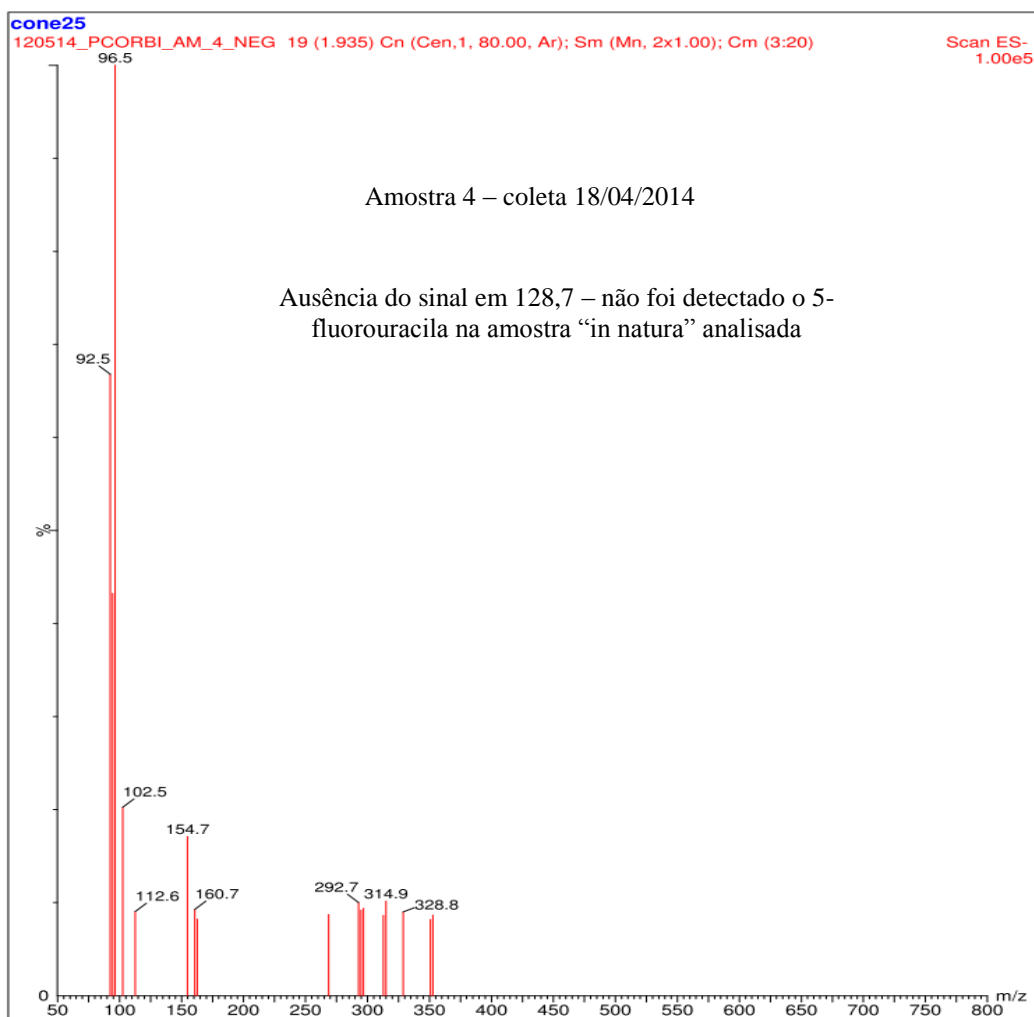
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	0.247	12665	788	0.253	0.194
2	1.463	10008	851	0.200	0.209
3	2.151	3693845	315801	73.686	77.614
4	3.243	435190	35499	8.681	8.725
5	3.682	271392	12076	5.414	2.968
6	4.611	161021	15971	3.212	3.925
7	4.817	380050	22996	7.581	5.652
8	5.518	45275	2280	0.903	0.560
9	5.851	3532	624	0.070	0.153
Total		5012978	406887	100.000	100.000

Anexo 6 - Espectrômetro de massas da solução padrão do 5-FU obtido a partir da diluição do medicamento utilizado comercialmente.



Condições do espectro de massa: infusão direta no espectrômetro de massas, empregando vazão da amostra de 50 mL/min e fluxo auxiliar de metanol: água 0,1% ácido fórmico 50:50 (v/v), vazão de 0,1 mL/min.

Anexo 7 - Amostra 4 coletada na ETE III analisada por espectrômetro de massas não evidenciado o composto do fluoruracila 5-FU.



Condições do espectro de massa: infusão direta no espectrômetro de massas, empregando vazão da amostra de 50 mL/min e fluxo auxiliar de metanol: água 0,1% ácido fórmico 50:50 (v/v), vazão de 0,1 mL/min.

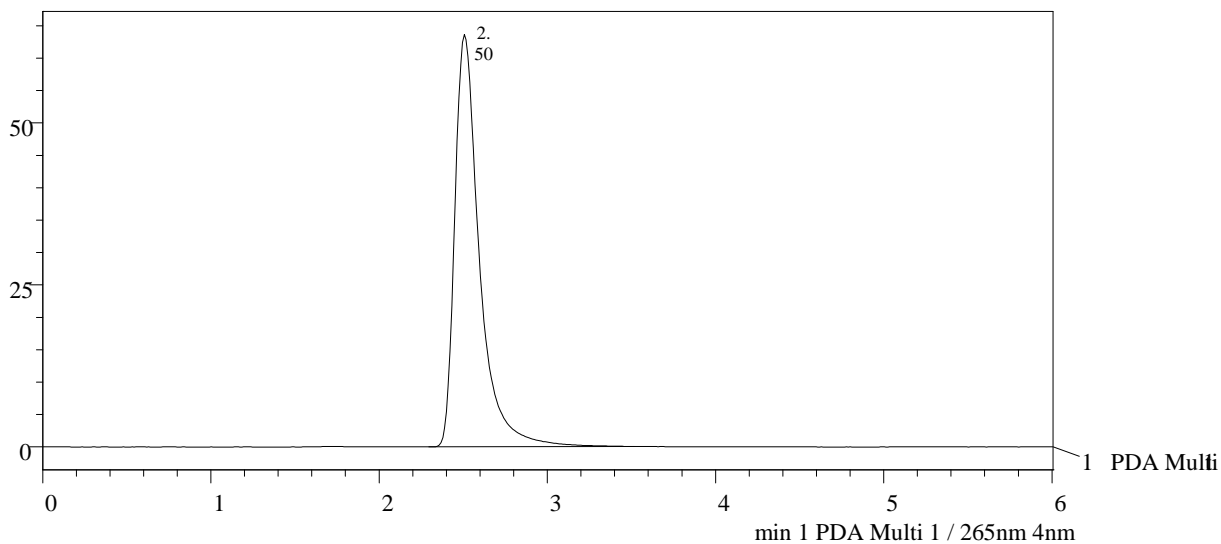
Anexo 8 – Cromatograma do 5-FU obtido a partir da concentração de 10,0 µg/mL

SampleInformation

Acquiredby : Admin
 SampleName : 14maio-5fu-10-2
 Sample ID : 14maio-5fu-10-2
 Tray# : 1
 Vail# : 7
 Injection Volume : 20 uL
 Data Filename : 14maio-5fu-10-2.lcd
 MethodFilename : isofluorouracil.lcm
 Batch Filename : 14mai14-2.lcb
 ReportFilename : relatoriopadrao.lcr
 Date Acquired : 14/5/2014 18:39:09
 Data Processed : 14/5/2014 18:45:10

Chromatogram

14maio-5fu-10-2 C:\LabSolutions\Data\Data\Prof Pedro Corbi\14maio14\14maio-5fu-10-2.lcd
mAU



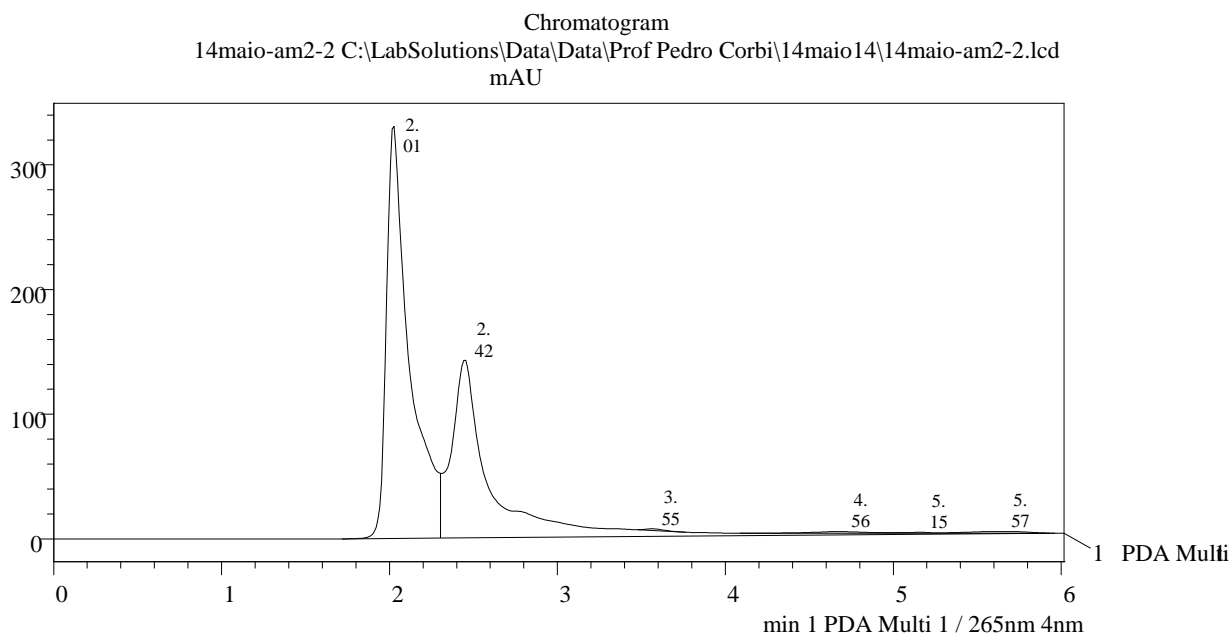
PeakTable

PDA Ch1 265nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.503	649917	63643	100.000	100.000
Total		649917	63643	100.000	100.000

Anexo 9 – Cromatograma da amostra 2 coletado no ponto de lançamento da ETE IV.

Acquiredby : Admin
 SampleName : 14maio-am2-2
 Sample ID : 14maio-am2-2
 Tray# : 1
 Vail# : 1
 Injection Volume : 20 uL
 Data Filename : 14maio-am2-2.lcd
 MethodFilename :
 isofluorouracil.lcm
 Batch Filename : 14maio14.lcb
 ReportFilename : relatoriopadrao.lcr
 Date Acquired : 14/5/2014
 16:21:19
 Data Processed : 14/5/2014
 16:27:21



PeakTable
 PDA Ch1 265nm 4nm

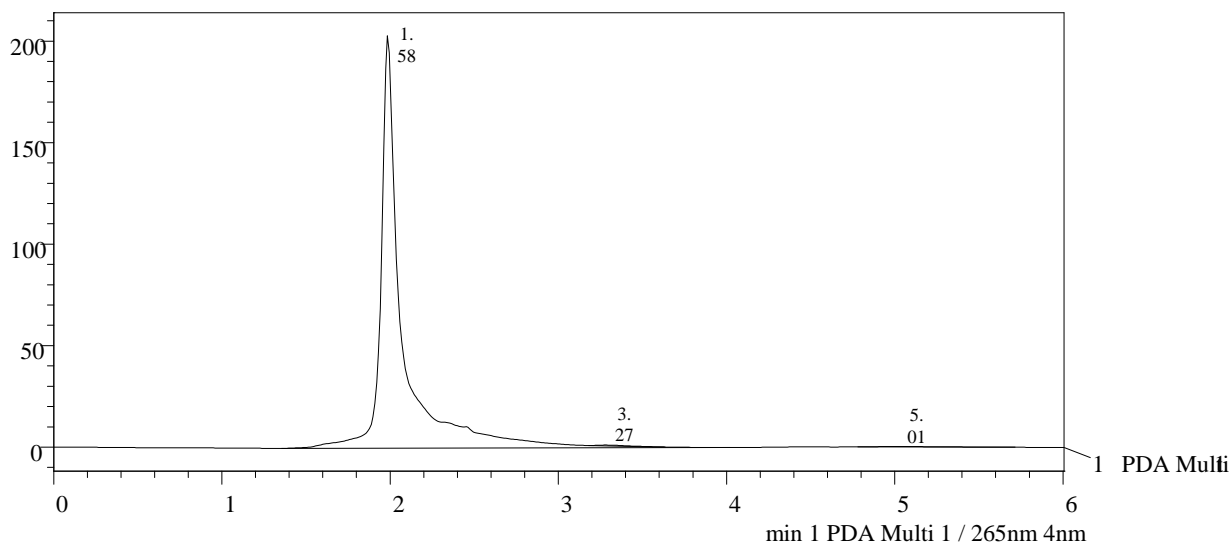
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.017	3187098	330615	55.921	69.143
2	2.423	2427838	142534	42.599	29.809
3	3.556	10459	1375	0.184	0.288
4	4.686	34103	1456	0.598	0.305
5	5.152	6813	819	0.120	0.171
6	5.637	32953	1364	0.578	0.285
Total		5699264	478163	100.000	100.000

Anexo 10 – Cromatograma da amostra 3 coletado a cerca de 800 mts da ETE IV.

SampleInformation

Acquiredby : Admin
 SampleName : 14maio-am3
 Sample ID : 14maio-am3
 Tray# : 1
 Vail# : 2
 Injection Volume : 20 uL
 Data Filename : 14maio-am3.lcd
 MethodFilename :
 isofluorouracil.lcm
 Batch Filename : 14maio14.lcb
 ReportFilename : relatoriopadrao.lcr
 Date Acquired : 14/5/2014
 14:38:12
 Data Processed : 14/5/2014
 14:44:13

Chromatogram
 14maio-am3 C:\LabSolutions\Data\Data\Prof Pedro Corbi\14maio14\14maio-am3.lcd
 mAU



PeakTable
 PDA Ch1 265nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.580	1813978	203111	99.438	99.712
2	3.276	4355	365	0.239	0.179
3	5.010	5902	222	0.324	0.109
Total		1824235	203698	100.000	100.000

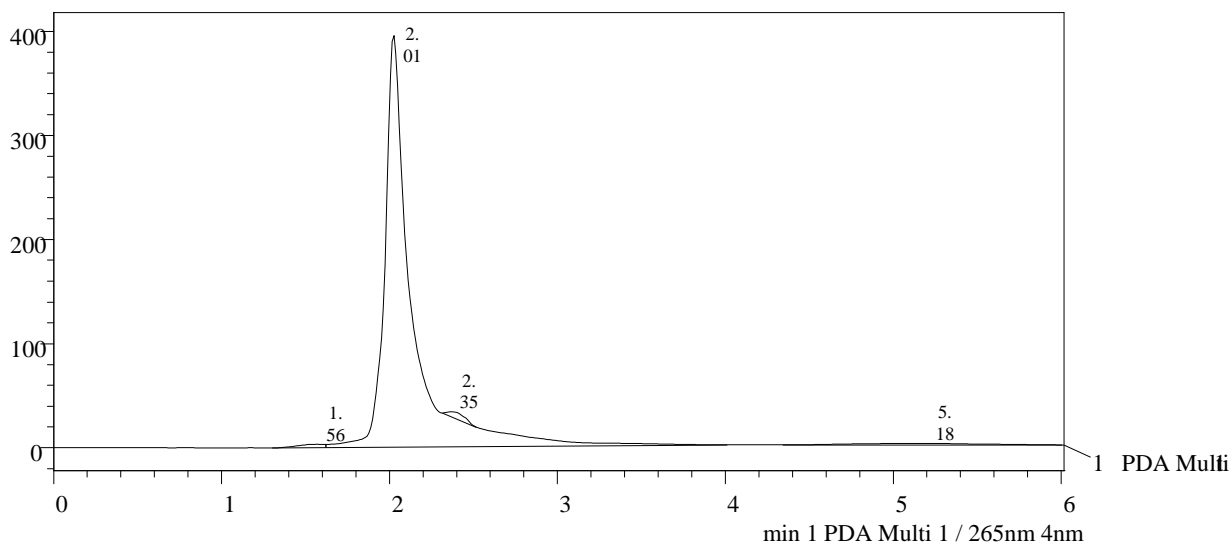
Anexo 11 – Cromatograma da amostra 4 coletado no ponto de lançamento da ETE III.

SampleInformation

Acquiredby : Admin
 SampleName : 14maio-am4
 Sample ID : 14maio-am4
 Tray# : 1
 Vail# : 3
 Injection Volume : 20 uL
 Data Filename : 14maio-am4.lcd
 MethodFilename :
 isofluorouracil.lcm
 Batch Filename : 14maio14.lcb
 ReportFilename : relatoriopadrao.lcr
 Date Acquired : 14/5/2014
 14:44:41
 Data Processed : 14/5/2014
 14:50:44

Chromatogram

14maio-am4 C:\LabSolutions\Data\Data\Prof Pedro Corbi\14maio14\14maio-am4.lcd
mAU

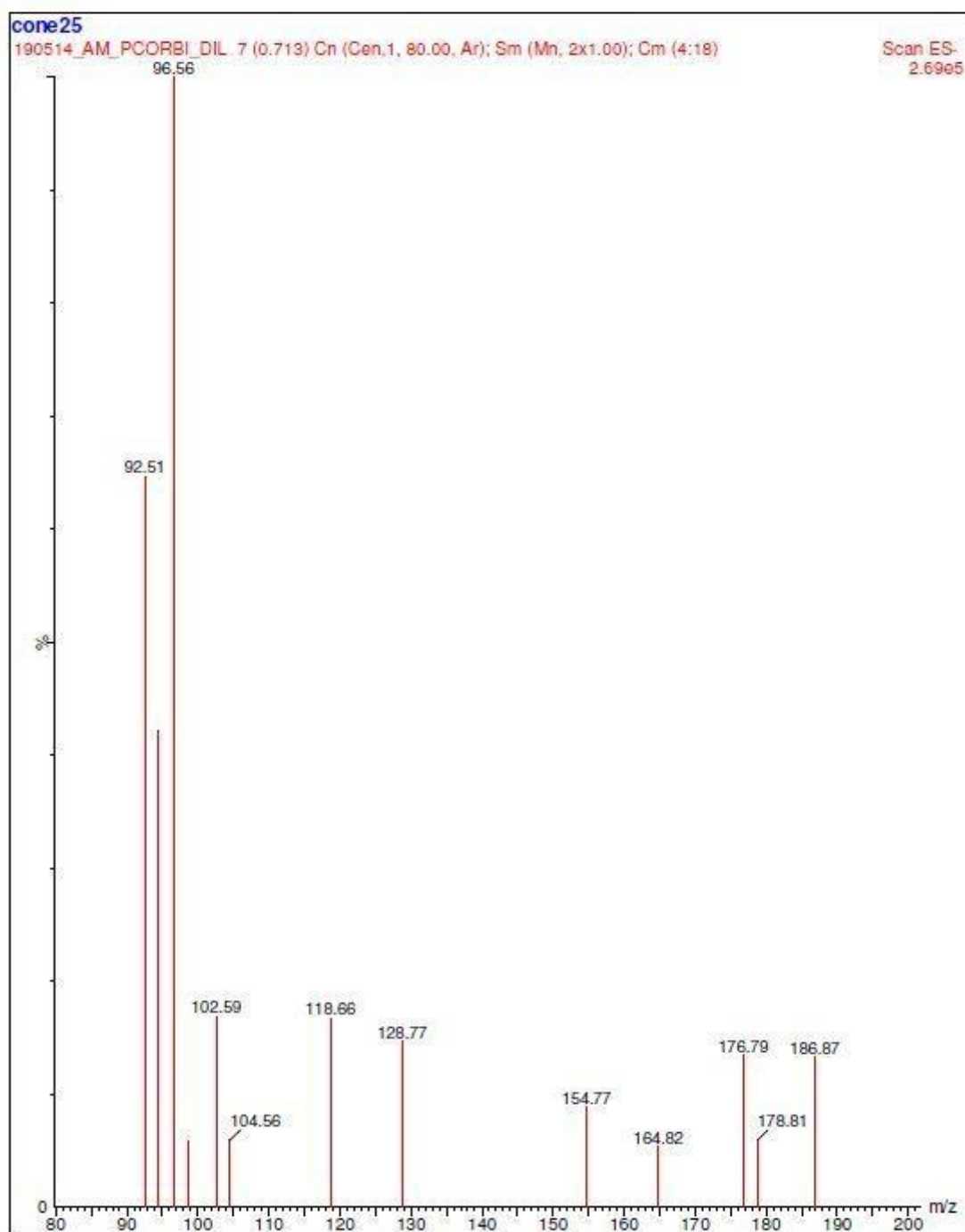


PeakTable

PDA Ch1 265nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.561	36325	3210	0.780	0.794
2	2.019	4501905	395597	96.723	97.861
3	2.355	38732	3915	0.832	0.968
4	5.188	77480	1521	1.665	0.376
Total		4654442	404243	100.000	100.000

Anexo 12 - Confirmação da presença do fármaco fluoruracila 5-FU na mostra 2 coletada no ponto de lançamento da ETE IV por espectrômetro de massas.



Condições do espectro de massa: infusão direta no espectrômetro de massas, empregando vazão da amostra de 50 mL/min e fluxo auxiliar de metanol: água 0,1% ácido fórmico 50:50 (v/v), vazão de 0,1 mL/min.