

Ocorrência de Atividade Estrogênica e Ecotoxicidade em Águas Superficiais do Rio Guandu / Rio de Janeiro

Giselle Gomes¹; Allan dos Santos Argolo¹; Louise da Cruz Felix¹; Daniele Maia Bila¹

✉ gisellegomes@ua.pt

1. Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

Histórico do Artigo: O autor detém os direitos autorais deste artigo.

Recebido em: Novembro de 2025

Aceito em: Dezembro de 2025

Publicado em: Dezembro de 2025

Resumo: Desreguladores endócrinos estrogênicos são compostos capazes de interferir no sistema hormonal, causando efeitos adversos à saúde de organismos e ao ambiente. Entre os métodos disponíveis para sua avaliação, destaca-se o ensaio *in vitro* *Yeast Estrogen Screen* (YES), amplamente utilizado para detectar atividade estrogênica em matrizes ambientais. Neste estudo, avaliou-se a atividade estrogênica das águas superficiais do rio Guandu (Rio de Janeiro, Brasil), principal manancial de abastecimento da região metropolitana. A atividade estrogênica foi determinada pelo ensaio YES, e complementada por ensaios ecotoxicológicos com *Allivibrio fischeri*, *Daphnia similis* e *Danio rerio*. Os resultados indicaram atividade estrogênica em 90% das amostras, com valores de EQ=E2 variando entre 0,47 e 82,87 ng L⁻¹, apresentando elevada variabilidade possivelmente associada às flutuações de vazão do rio. Não foi observada citotoxicidade no ensaio YES, assegurando a confiabilidade dos resultados. Apesar da ausência de toxicidade aguda nos ensaios ecotoxicológicos, as concentrações detectadas de atividade estrogênica são associadas a efeitos adversos e podendo haver potencial risco em exposições crônicas, ressaltando a necessidade de monitoramento contínuo e amostragens sazonais.

Palavras-chave: Estrogenicidade, Desreguladores endócrinos, Bioensaio, Micropoluentes, *Yeast Estrogen Screen*.

Occurrence of Estrogenic Activity and Ecotoxicity in Surface Waters of the Guandu River / Rio De Janeiro

Abstract: Estrogenic endocrine disruptors are compounds capable of interfering with the hormonal system, causing adverse health effects in organisms and ecosystems. Among the methods available for their evaluation, the *in vitro* *Yeast Estrogen Screen* (YES) assay stands out, widely used to detect estrogenic activity in environmental matrices. In this study, the estrogenic activity of surface waters from the Guandu River (Rio de Janeiro, Brazil), the main water supply source for the metropolitan region, was evaluated. Estrogenic activity was determined by the YES assay and complemented by ecotoxicological assays with *Allivibrio fischeri*, *Daphnia similis*, and *Danio rerio*. The results indicated estrogenic activity in 90% of the samples, with E2-EQ values ranging from 0.47 to 82.87 ng L⁻¹, showing high variability possibly associated with fluctuations in river flow. No cytotoxicity was observed in the YES assay, ensuring the reliability of the results. Despite the absence of acute toxicity in ecotoxicological assays, the detected concentrations of estrogenic activity are associated with adverse effects and may pose a potential risk in chronic exposures, highlighting the need for continuous monitoring and seasonal sampling.

Keywords: Estrogenicity, Endocrine disruptors, Bioassay, Micropollutants, *Yeast Estrogen Screen*.

Presencia de Actividad Estrogénica y Ecotoxicidad en Aguas Superficiales del Río Guandu / Rio De Janeiro

Resumen: Los disruptores endocrinos estrogénicos son compuestos capaces de interferir con el sistema hormonal, causando efectos adversos para la salud en organismos y ecosistemas. Entre los métodos disponibles para su evaluación, destaca el ensayo *in vitro* *Yeast Estrogen Screen* (YES), ampliamente utilizado para detectar actividad estrogénica en matrices ambientales. En este estudio, se evaluó la actividad estrogénica de aguas superficiales del río Guandu (Río de Janeiro, Brasil), principal fuente de abastecimiento de agua para la región metropolitana. La actividad estrogénica se determinó mediante el ensayo YES y se complementó con ensayos ecotoxicológicos con *Allivibrio fischeri*, *Daphnia similis* y *Danio rerio*. Los resultados indicaron actividad estrogénica en el 90% de las muestras, con valores de E2-EQ que oscilaron entre 0,47 y 82,87 ng L⁻¹, mostrando una alta variabilidad posiblemente asociada a fluctuaciones en el caudal del río. No se observó citotoxicidad en el ensayo YES, lo que garantiza la fiabilidad de los resultados. A pesar de la ausencia de toxicidad aguda en los ensayos ecotoxicológicos, las concentraciones detectadas de actividad estrogénica están asociadas con efectos adversos y pueden suponer un riesgo potencial en exposiciones crónicas, lo que destaca la necesidad de un monitoreo continuo y un muestreo estacional.

Palabras clave: Estrogenicidad, Disruptores endocrinos, Bioensayo, Microcontaminantes, *Yeast Estrogen Screen*.

INTRODUÇÃO

Os desreguladores endócrinos são compostos exógenos capazes de alterar uma ou mais funções do sistema endócrino e, conseqüentemente, provocar efeitos adversos à saúde em organismos íntegros, em sua progênie ou em (sub)populações (WHO, 2012). Esses compostos podem afetar seres humanos e outros animais por meio da mimetização, do bloqueio ou da modulação da ação hormonal e de seus sistemas de sinalização. Além disso, podem interferir nos processos de síntese hormonal nos organismos expostos.

Entre os desreguladores endócrinos, aqueles cujo mecanismo de ação envolve a interação com os receptores de estrogênio são denominados estrogênicos, e seus efeitos são descritos como atividade estrogênica, os quais podem ser avaliados por meio de ensaios *in vitro* e *in vivo*. Esses bioensaios foram desenvolvidos para detectar níveis baixos, na ordem de ng L⁻¹ e µg L⁻¹, de atividade estrogênica, apresentando vantagens e limitações distintas. Apesar de enfrentarem questões éticas, os ensaios *in vivo* consideram a farmacocinética dos compostos, permitindo a avaliação dos efeitos finais à saúde dos organismos. Por outro lado, os ensaios *in vitro* são, em geral, mais sensíveis, além de demandarem menos tempo e recursos, sendo mais adequados para fins de triagem (WANGMO et al., 2018).

Um bioensaio *in vitro* amplamente utilizado para a avaliação da atividade estrogênica em amostras ambientais é o *Yeast Estrogen Screen* (YES) (BRIX et al., 2010). Esse ensaio utiliza uma levedura recombinante (*Saccharomyces cerevisiae*) contendo o receptor de estrogênio humano (ROUTLEDGE e SUMPTER, 1996), o que possibilita a quantificação do potencial estrogênico total das amostras, considerando os efeitos aditivos, sinérgicos e antagonistas de múltiplos compostos presentes na amostra.

A aplicabilidade desse ensaio tem sido amplamente demonstrada na literatura, abrangendo a avaliação de compostos individuais, misturas complexas e diferentes matrizes ambientais (GOMES et al., 2023; do NASCIMENTO et al., 2022, ARGOLLO et al., 2021; CHAVES et al., 2020; GRIFFERO et al., 2018; RAMIREZ et al., 2014; KOLLE et al., 2010; RUTISHAUSER et al., 2004; BERESFORD et al., 2000).

Os compostos estrogênicos são introduzidos no ambiente aquático por meio de atividades domésticas, industriais e agroindustriais. Os efluentes domésticos constituem a principal fonte de contaminação das águas superficiais em áreas urbanas, configurando um problema particularmente grave em países em desenvolvimento, como o Brasil. Estima-se que 45% do esgoto doméstico gerado no país não receba qualquer tipo de tratamento (ANA, 2017), o que resulta em uma entrada contínua de contaminantes nos corpos hídricos.

Apesar desse cenário, o Brasil abriga uma das maiores estações de tratamento de água (ETA) do mundo, com capacidade para tratar continuamente $43 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ de água bruta, tendo como manancial o Rio Guandu. Esse rio apresenta vazão suficiente para abastecer mais de 9 milhões de pessoas e é responsável por aproximadamente 80% do suprimento de água potável da região metropolitana do Rio de Janeiro. Esses aspectos evidenciam a relevância de estudos voltados à avaliação da qualidade das águas superficiais do Rio Guandu.

Neste contexto, essa pesquisa avaliou a atividade estrogênica do Rio Guandu, um dos mais importantes mananciais do estado do Rio de Janeiro (Brasil). A atividade estrogênica foi avaliada pelo ensaio *in vitro* YES e complementada com uma avaliação ecotoxicológica utilizando três organismos-teste de diferentes níveis tróficos: *Allivibrio fischeri*, *Daphnia similis* e *Danio rerio*.

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais

Todos os produtos químicos foram adquiridos da Sigma-Aldrich (pureza $\geq 98\%$), bem como todos os componentes do meio utilizados no ensaio YES. A filtração das amostras ambientais foi realizada com membranas de fibra de vidro de 0,7 μm e membranas de nitrocelulose de 0,45 μm (Millipore). Para a extração em fase sólida (SPE), hexano, metanol e acetona (grau HPLC) foram fornecidos pela Tedia. A água ultrapurificada foi obtida a partir de um sistema Milli-Q (Millipore). Os cartuchos Strata-X – 500 mg/6 mL (sorvente polimérico à base de estireno-divinilbenzeno com superfície modificada), adquiridos da Phenomenex, foram utilizados na Extração em Fase Sólida (EFS).

Área de estudo

Este estudo foi realizado com amostras do Rio Guandu, a mais importante fonte de água do estado do Rio de Janeiro, na região Sudeste do Brasil. A bacia hidrográfica do Rio Guandu é formada pelos rios Guandu, da Guarda e Guandu-Mirim, está situada a oeste da bacia da Baía de Guanabara, contribuinte à Baía de Sepetiba, no Estado do Rio de Janeiro, e ocupa uma área de 3.600 km².

As coletas de amostra de água foram realizadas na lagoa de captação à montante da estação de tratamento de água (ETA) Guandu, próxima à tomada d'água (22°48'27"S; 43°37'36"O).

Coleta e preparo das amostras

Foram realizadas 10 campanhas de coleta de amostras, quinzenalmente entre setembro de 2014 e janeiro de 2015, totalizando 10 amostras. As amostras para o ensaio YES foram coletadas em frascos de vidro âmbar de 1 L previamente descontaminados, acidificadas a pH 2 com HCl e armazenadas a 4 °C até a preparação, realizada em até 48 h. As amostras foram filtradas com membranas de fibra de vidro de 0,70 μm e de nitrocelulose de 0,45 μm . As amostras filtradas foram concentradas por extração em fase sólida (SPE), realizada em sistema de vácuo com taxa de fluxo de 3 mL min⁻¹. Os cartuchos Strata-X foram condicionados com 3 × 2 mL de hexano, 2 mL de acetona, 3 × 2 mL de metanol e 2 × 5 mL de água ultrapurificada ajustada para pH 3 com HCl. A percolação das amostras foi realizada sob vácuo, seguida de uma percolação de limpeza (*cleanup*) com 10 mL de solução metanol + água ultrapurificada (1:9).

A eluição dos analitos dos cartuchos Strata-X foi realizada com 2×2 mL de acetona percolados por gravidade. Os eluatos foram secos sob fluxo de nitrogênio até a completa evaporação do solvente, e os analitos foram ressolubilizados em 2 mL de etanol, obtendo-se um fator de concentração (FC) de 500, para posterior aplicação no ensaio YES

Adicionalmente, 2 L de amostra foram coletados em frascos de plástico e congelados para realização dos ensaios de ecotoxicidade com *Allivibrio fischeri*, *Daphnia similis* e *Danio rerio*.

Bioensaio *in vitro* YES

O ensaio YES para a determinação da atividade estrogênica foi conduzido conforme descrito por Gomes et al. (2023) e todas as soluções utilizadas no ensaio, incluindo meio mínimo, glicose, ácido L-aspártico, L-treonina, sulfato de cobre, vitaminas, CPRG, meio de cultivo e meio de análise, foram preparadas seguindo o protocolo de Routledge e Sumpter (1996).

O ensaio foi realizado em microplacas de 96 poços, com diluições seriadas dos extratos de amostra em etanol (grau HPLC). O hormônio 17β -estradiol (E2) foi utilizado como controle positivo, com concentrações-teste variando de 2724 a $1,33 \text{ ng L}^{-1}$, enquanto o etanol (grau HPLC) foi empregado como controle negativo. Em cada placa-teste, 10 μL de cada diluição da amostra foram adicionados e deixados evaporar. Em seguida, 200 μL do meio de análise contendo levedura ($1,35 \times 10^6$ células mL^{-1}) e CPRG (100 mg L^{-1}) foram adicionados. Após incubação por 72 h a 30°C , as absorbâncias a 575 nm e 620 nm foram medidas utilizando um leitor de microplacas VersaMax (Molecular Devices).

Análise dos resultados do bioensaio *in vitro* YES

A partir das leituras de absorbância, os dados foram processados em termos de absorbância corrigida (Eq. 1).

$$Abs_{corr} (amostra) = Abs_{575} (amostra) - (Abs_{620} (amostra) - Abs_{620} (controle negativo)) \quad (\text{Eq. 1})$$

As curvas concentração-resposta foram elaboradas no software Origin 6.0 (Origin Lab), utilizando as médias das absorbâncias corrigidas em função das concentrações em escala logarítmica (ng L^{-1} para compostos individuais e porcentagem para extratos de amostras ambientais). As curvas padrão do controle positivo E2 foram ajustadas a uma função logística simétrica.

As concentrações equivalentes de estradiol (EQ-E2) das amostras ambientais foram determinadas em ng L⁻¹ por interpolação entre os dados das amostras e a curva concentração-resposta padrão do E2 utilizando um modelo log-logístico (Eq. 2).

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + \left(\frac{x_0}{x}\right)^p} + A_2 \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde A1 e A2 representam os valores máximos e mínimos de absorbância corrigida da curva ajustada do E2, x₀ é a concentração de efeito mediano (CE50) do E2 em ng L⁻¹, *p* corresponde à inclinação da curva sigmoidal e (x, y) é o par ordenado relativo à concentração da amostra e sua resposta em absorbância corrigida. Os resultados de EQ-E2 em ng L⁻¹ foram obtidos pela razão entre o menor x que evidenciou uma resposta agonista e o fator de concentração (FC) final no ensaio.

A citotoxicidade, ou seja, a inibição do crescimento da levedura, também foi avaliada e quantificada a partir do controle da absorbância a 620 nm, seguindo a Eq. 3 proposta por Frische *et al.* (2009).

$$\text{Citotoxicidade} = 1 - \left(\frac{\text{Abs}_{620}(\text{amostra})}{\text{Abs}_{620}(\text{controle negativo})} \right) \quad (\text{Eq. 3})$$

Valores negativos e nulos foram interpretados como ausência de toxicidade, enquanto valores positivos indicaram citotoxicidade, sendo expressos em percentual. Diluições citotóxicas não foram utilizadas no cálculo dos valores de EQ-E2.

O limite de detecção (LD), isto é, a menor concentração detectável no ensaio, foi baseado na curva do E2 padrão realizada com 12 diluições em série 1:1. O LD foi definido como 1,1 vezes a concentração imediatamente abaixo da menor diluição detectada de E2. Este cálculo foi definido em nosso laboratório após a observação das curvas sigmoides e da expressão da atividade estrogênica do controle positivo E2, onde, como margem de segurança, foi adicionado 10% do valor da concentração nominal imediatamente abaixo da menor diluição detectada de E2 para o cálculo do LD (Figura 1). Posteriormente, a concentração foi dividida pelo respectivo fator de concentração final da amostra e multiplicada pelo fator de diluição aplicado no ensaio.

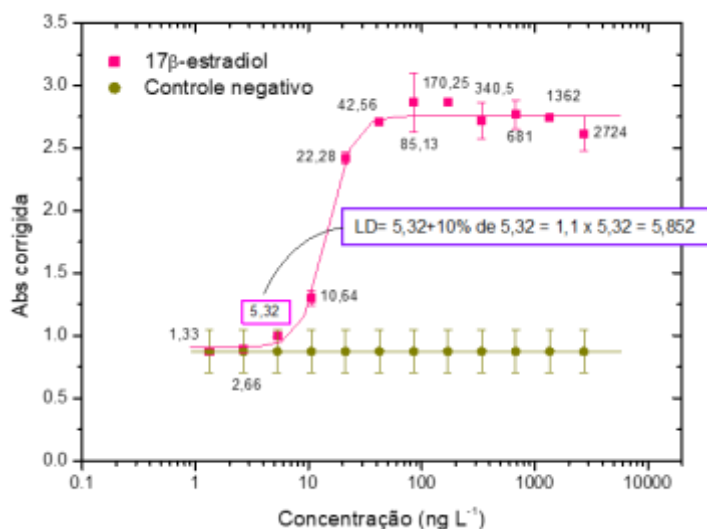


Figura 1: Curva dose-resposta do controle positivo E2 para exemplificação do cálculo do limite de detecção do ensaio YES

Fonte: Elaboração própria

Ecotoxicidade com os organismos-teste *Allivibrio fischeri*, *Daphnia similis* e *Danio rerio*

Foram realizados ensaios ecotoxicológicos com organismos-teste de três níveis tróficos diferentes: a bactéria luminescente *Allivibrio fischeri* (decompositor), o microcrustáceo *Daphnia similis* (consumidor primário) e o peixe *Danio rerio* (consumidor secundário). Os ensaios foram realizados seguindo as metodologias descritas nas normas da ABNT: NBR 15411-3 (ABNT, 2012), NBR 12713 (ABNT, 2009) e NBR 15088 (ABNT, 2006), respectivamente.

Resumidamente, para *Allivibrio fischeri*, os ensaios foram realizados sem diluição, em duplicata, utilizando NaCl a 2% como controle negativo. A bioluminescência foi avaliada e os resultados foram expressos em CE50 (SDI Microtox OMNI 4.1). Para *Daphnia similis*, as amostras foram testadas nas concentrações de 100% e 50%, em quadruplicata, com água de cultivo como controle negativo e diluente. A imobilidade foi avaliada e os resultados expressos em CE50 (TRIMMED SPEARMAN-LCPIN). Para *Danio rerio*, as amostras foram avaliadas a 100% de concentração, com água de cultivo como controle negativo. Os resultados foram expressos como CL50 (GWBASIC).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação da atividade estrogênica da água superficial

Os resultados obtidos revelaram variações nos valores de EQ-E2, que ficaram na faixa de 0,47 e 82,87 ng L⁻¹ (Figura 2). Observou-se resposta positiva para estrogenicidade em 90% das amostras; entretanto, foi registrada elevada variabilidade nos valores de EQ-E2, possivelmente associada às flutuações de vazão do rio Guandu, que podem diluir a contribuição de afluentes mais poluídos.

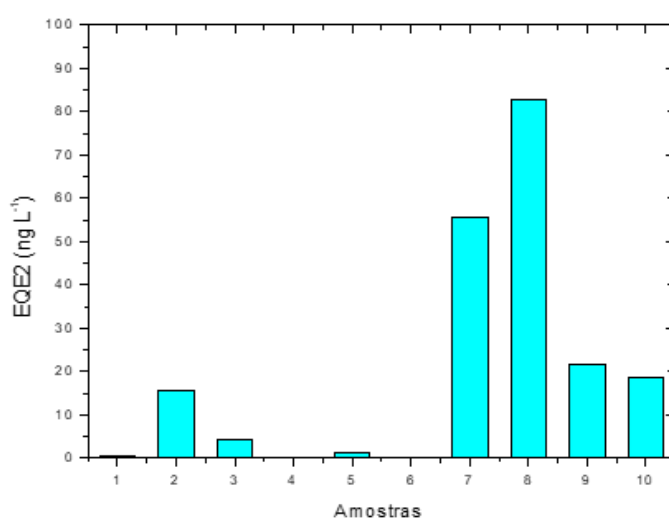


Figura 2: Atividade estrogênica expressa em EQ-E2 (ng L⁻¹) das 10 amostras analisadas.

Fonte: Elaboração própria

Nenhuma das amostras apresentou citotoxicidade, garantindo que todos os cálculos de EQ-E2 foram realizados de forma segura, uma vez que não houve morte celular nem inibição do crescimento da levedura.

Dias et al. (2015), que também investigaram a água superficial do rio Guandu, relataram valores de EQ-E2 de 2,3 e 15 ng L⁻¹, os quais estão dentro da faixa observada neste estudo.

A presença de atividade estrogênica no Rio Guandu também foi previamente estudada por Kuster et al. (2009), porém não pelo ensaio YES mas por cromatografia líquida acoplada a espectrofotômetro de massa. Foi detectada a presença de compostos estrogênicos como a progesterona, fitoestrogênios, estrogênios e seus derivados conjugados. A progesterona, provavelmente, pela sua estrutura química, fornece uma resposta estrogênica no ensaio YES (WANG et al., 2005), ao contrário de alguns derivados conjugados (estradiol-17-glucoronídeo e

estriol-16-glucoronideo) encontrados por Kuster et al. (2009), os quais não apresentam estrogenicidade pelo ensaio YES (DIAS et al., 2015). No entanto, esses compostos são facilmente convertidos em estriol e estradiol por enzimas produzidas por bactérias presentes no esgoto e na água. Assim, essas substâncias podem também ser responsáveis pela atividade estrogênica encontrada nas amostras de água coletadas e analisadas no âmbito desse estudo.

Apesar dos resultados obtidos, faz-se necessária a ampliação da base de dados, com a inclusão de novas coletas sazonais, a fim de fortalecer a avaliação do panorama atual do Rio Guandu.

Avaliação da ecotoxicidade

As amostras não causaram danos significativos aos organismos testados (*Allivibrio fischeri*, *Daphnia similis* e *Danio rerio*), o que impossibilitou o cálculo da CE50 (%) ou CL50 (%). No entanto, apesar da ausência de toxicidade aguda, as amostras apresentaram atividade estrogênica, conforme discutido anteriormente, a qual pode induzir efeitos adversos em organismos vivos. Nesse sentido, observa-se que os testes de toxicidade tradicionais, por não possuírem mecanismos específicos para a avaliação da estrogenicidade, não constituem ferramentas eficientes para prever os efeitos ambientais associados a essa classe de micropoluentes. Tal limitação é evidenciada pelo fato de terem sido detectadas concentrações superiores a 1 ng L^{-1} de estrogenicidade, valor já associado a efeitos deletérios em organismos aquáticos (Matthiessen et al., 2006; Routledge et al., 1998), sem que fossem observados efeitos agudos. No entanto, embora as concentrações de atividade estrogênica não tenham provocado toxicidade em ensaios agudos, não se pode descartar a possibilidade de efeitos tóxicos decorrentes de exposições crônicas.

Desafios regulatórios na avaliação de desreguladores endócrinos

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam a presença de desreguladores endócrinos em águas superficiais do rio Guandu, indicando a influência de múltiplas fontes potenciais de poluição associadas à resíduos de origem doméstica, agrícola e industrial. Essas fontes estão relacionadas às condições de saneamento básico, uma vez que essas substâncias podem alcançar corpos hídricos por meio do lançamento de efluentes e do lixiviado de aterros sanitários (AQUINO, 2013). Nesse contexto, a gestão da qualidade dos recursos hídricos no Brasil é orientada por instrumentos legais que estabelecem critérios e limites voltados à proteção ambiental e à saúde pública.

No Brasil, as concentrações-limite para a manutenção da qualidade dos recursos hídricos são definidas principalmente pela Resolução CONAMA nº 357/2005, posteriormente complementada pela Resolução CONAMA nº 430/2011, que dispõem sobre a classificação dos corpos d'água superficiais, seu enquadramento ambiental e as condições e padrões para o lançamento de efluentes. Adicionalmente, a Portaria GM/MS nº 888/2021 do Ministério da Saúde estabelece os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, enquanto a Resolução CONAMA nº 396/2008 define a classificação e as diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas.

Embora essas legislações estabeleçam valores-limite para diversas substâncias, como alguns agrotóxicos e metais reconhecidos como desreguladores endócrinos, esses limites baseiam-se, em geral, em efeitos tóxicos clássicos e não em mecanismos específicos de desregulação endócrina. E, como demonstrado neste estudo, amostras que apresentaram atividade estrogênica não exibiram efeitos ecotoxicológicos nos ensaios tradicionais. Portanto, caso a legislação considerasse a estrogenicidade como critério para definição de limites, os valores permitidos seriam provavelmente muito inferiores, uma vez que desreguladores endócrinos podem induzir efeitos adversos em concentrações na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} .

Diante do elevado potencial de contaminação ambiental e de exposição de seres humanos e outros organismos, evidencia-se a necessidade de legislações mais rigorosas quanto ao lançamento de desreguladores endócrinos no ambiente. Nesse sentido, estudos científicos são fundamentais para elucidar as concentrações associadas a efeitos biológicos adversos, subsidiando o estabelecimento de limites regulatórios mais adequados para a proteção ambiental e da saúde pública.

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo evidenciaram a ocorrência de atividade estrogênica em águas superficiais do rio Guandu, com valores de EQ-E2 variando entre 0,47 e 82,87 ng L^{-1} , e resposta positiva em 90% das amostras analisadas. A variabilidade observada sugere a influência de fatores hidrológicos, como flutuações na vazão, que podem afetar a diluição e aporte de fontes de poluição ao longo do corpo híbrido. A ausência de citotoxicidade no ensaio YES assegurou a confiabilidade dos resultados obtidos. Por outro lado, a não observação de efeitos tóxicos agudos nos ensaios ecotoxicológicos, mesmo diante da detecção de atividade estrogênica nas amostras analisadas, evidencia que os ensaios ecotoxicológicos convencionais não são suficientes para

avaliar os efeitos de desreguladores endócrinos. Nesse contexto, os resultados reforçam a necessidade de abordagens integradas de monitoramento da qualidade da água, que incluem ensaios biológicos específicos para desreguladores endócrinos, bem como a ampliação da base de dados por meio de coletas sazonais. Adicionalmente, os resultados indicam a pertinência de discutir a incorporação da atividade estrogênica como critério complementar nos instrumentos regulatórios voltados à proteção dos recursos hídricos, dos ecossistemas e da saúde pública.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANA - AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. 2017 Atlas Esgoto: Despoluição de Bacias Hidrográficas. Disponível em: <https://bibliotecadigital.gestao.gov.br/handle/123456789/964>. Acesso em: dezembro de 2025.

ARGOLO, S., GOMES, G., BILA, D.M. Ecotoxicology and Environmental Safety Insights into total estrogenic activity in a sewage-impacted urban stream assessed via ER transcriptional activation assay: Distribution between particulate and dissolved phases. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 208, 11574, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.11574>

AQUINO, S. DE. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. *Eng. Sanit.* 187-204, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522013000300002>

BERESFORD, N, ROUTLEDGE, E.J., HARRIS, C., SUMPTER, J.P. Issues arising when interpreting results from an in vitro assay for estrogenic activity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 162, 22-33, 2000. <https://doi.org/10.1006/taap.1999.8817>

BRASIL, Ministério da Saúde, Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017: Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. *Diário Oficial da União*, 28/09/2017; Brasília, DF.

BRIX, R., NOGUEROL, T.N., PIÑA, B., BALAAM, J., NILSEN, A.J., TOLLEFSEN, K.E., LEVY, W., SCHRAMM, K.W., BARCELÓ, D. Evaluation of the suitability of recombinant yeast-based estrogenicity assays as a pre-screening tool in environmental samples. *Environ. Int.* 36, 361-367, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.02.004>

CHAVES, F.P., GOMES, G., DELLA-FLORA, A., DALLEGRAVE, A., SIRTORI, C., SAGGIORO, E.M., BILA, D.M., 2020. Science of the Total Environment Comparative endocrine disrupting compound removal from real wastewater by UV / Cl and UV / H₂O₂: Effect of pH, estrogenic activity, transformation products and toxicity. *Sci. Total Environ.* 746, 141041, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141041>

CONAMA, Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA: Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, 18/03/2005; Brasília, DF.

CONAMA, Resolução nº 396, de 3 de abril de 2008 do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA: Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, 07/04/2008; Brasília, DF.

CONAMA, Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA: Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. *Diário Oficial da União*, 16/05/2011; Brasília, DF.

DIAS, A.C.V., GOMES, F.W., BILA, D.M., SANT'ANNA, G.L., DEZOTTI, M. Analysis of estrogenic activity in environmental waters in Rio de Janeiro state (Brazil) using the yeast estrogen screen. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 120, 41–47, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.05.013>

FRISCHE, T., FAUST, M., MEYER, W., BACKHAUS, T. Toxic masking and synergistic modulation of the estrogenic activity of chemical mixtures in a yeast estrogen screen (YES). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16, 593–603, 2009.
<https://doi.org/10.1007/s11356-009-0184-7>

GOMES, G.; ARGOLLO, A.; FELIX, L.; BILA, D.M. Interferences in the yeast estrogen screen (YES) assay for evaluation of estrogenicity in environmental samples, chemical mixtures, and individual substances. *Toxicology in Vitro*, v. 88, p. 105551, 2023.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2022.105551>

GRIFFERO, L., GOMES, G., BERAZATEGUI, M., FOSALBA, C., DE MELLO, F.T., REZENDE, C., BILA, D.M.; GACÍA-ALONSO, J. Estrogenicity and cytotoxicity of sediments and water from the drink water source-basin of Montevideo city, Uruguay. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, vol. 13, no. 1, pp. 15–22, 2018.
<https://doi.org/10.5132/eec.2018.01.02>

KOLLE, S.N., KAMP, H.G., HUENER, H.A., KNICKEL, J., VERLOHNER, A., WOITKOWIAK, C., LANDSIEDEL, R., VAN RAVENZWAAY, B. In house validation of recombinant yeast estrogen and androgen receptor agonist and antagonist screening assays. *Toxicol. Vitro*. 24, 2030–2040, 2010.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.08.008>

KUSTER, M.; AZEVEDO, D. A.; LÓPEZ DE ALDA, M. J.; AQUINO NETO, F. R.; BARCELÓ, D. Analysis of phytoestrogens, progestogens and estrogens in environmental Waters from Rio de Janeiro (Brazil). *Environment International*, v. 35, n. 7, p. 997–1003, 2009.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.04.006>

NASCIMENTO, M.T.L.D., SANTOS, A.D.D.O., CUNHA, D.L.D., FELIX, L.C., GOMES, G., RANGEL, C.M.A.; BAPTISTA NETO, J.A. Endocrine disruptors, estrogenic activity by the YES bioassay, and acute toxicity in Southeastern Brazil metropolitan surface waters. *Geochimica Brasiliensis*, vol. 36, 2022.
<https://doi.org/10.21715/GB2358-2812.202236005>

NBR 12713. ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Aguda – Método de Ensaio com Daphnia sp (Crustacea, Cladocera)*. 3ª edição, 2009.

NBR 15088. ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Aguda – Método de ensaio com peixes*. 2ª edição, versão corrigida, 2006.

NBR 15411-3. ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *Ecotoxicologia Aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão da bioluminescência de Vibrio fischeri (ensaio de bactéria luminescente)*. Parte 3: Método utilizando bactérias liofilizadas. 2ª edição, 2012.

RAMIREZ, T., BUECHSE, A., DAMMANN, M., MELCHING-KOLLMUß, S., WOITKOWIAK, C., VAN RAVENZWAAY, B. Effect of estrogenic binary mixtures in the yeast estrogen screen (YES). *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 70, 286–296, 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.07.006>

ROUTLEDGE, E.J., SUMPTER, J.P. Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 241–248, 1996.
<https://doi.org/10.1002/etc.5620150303>

RUTISHAUSER, B. V., PESONEN, M., ESCHER, B.I., ACKERMANN, G.E., AERNI, H.-R., SUTER, M.J.F., EGGEN, R.I.L. Comparative analysis of estrogenic activity in sewage treatment plant effluents involving three in vitro assays and chemical analysis of steroids. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 857–864, 2004.
<https://doi.org/10.1897/03-286>

WANG, J.; XIE, P.; KETTRUP, A.; SCHRAMM, K. W. Inhibition of progesterone receptor activity in recombinant yeast by soot from fossil fuel combustion emissions and air particulate materials. *Science of the Total Environment*, v. 349, p. 120-128, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.01.019>

WANGMO C, JARQUE S, HILSCHEROVA K, BLAHA L, BITTNER M. *In vitro* assessment of sex steroids and related compounds in water and sediments—A critical review. *Environ Sci Processes Impacts* 20: 270-287, 2018 <https://doi.org/10.1039/C7EM00458C>

WHO (World Health Organization), 2012. Possible developmental early effects of endocrine disrupters on child health 1-84.

