

TOXICIDADE AGUDA E AVALIAÇÃO DE RISCOS ECOLÓGICOS DE FÁRMACOS PERTENCENTES A DIFERENTES CLASSES DETECTADOS EM AMBIENTES AQUÁTICOS

F. K Tominaga¹; N. F. Boiani¹, V. S. G. Garcia¹, T.T. Silva¹, P. Leo², S. I. Borrely¹

¹ Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Centro de Tecnologia das Radiações – IPEN-CNEN/SP, São Paulo, SP, Brasil.

² Instituto de Pesquisas Tecnológicas, Laboratório de Biotecnologia Industrial, Núcleo de Bionanomanufatura – IPT/SP, São Paulo, SP, Brasil.

INTRODUÇÃO

Fármacos são compostos biologicamente ativos, que vem sendo continuamente introduzidos no meio ambiente em baixas concentrações (ng L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$) com potencial para causar impactos em ecossistemas. Dentre os diversos contaminantes, anti-inflamatórios, antidiabéticos, antibióticos, e antidepressivos vem sendo frequentemente detectados em matrizes ambientais. Diferentes organismos-modelos tem sido empregado para a avaliação da toxicidade e de riscos ecológicos destes contaminantes para garantir maior proteção do ambiente aquático. Esse trabalho tem por objetivo avaliar a toxicidade de quatro fármacos de classes distintas empregando organismos de diferentes níveis tróficos (levedura *Saccharomyces cerevisiae*, bactéria bioluminescente *Aliivibrio fischeri* e microcrustáceo *Daphnia similis*).

METODOLOGIA

O ácido acetilsalicílico e o cloridrato de fluoxetina foram obtidos da Labsynth (>99,5%) e Divis Pharmaceuticals Pvt. Ltd (98,8%), respectivamente. O cloridrato de metformina (97%) e o ciprofloxacino ($\geq 98\%$) foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

Os ensaios de toxicidade com *Saccharomyces cerevisiae* foram realizados de conforme a metodologia adaptada de Dolezalova & Rumlova (2014), que se baseia no monitoramento das alterações da condutividade específica de suspensões de leveduras devido à inibição da fermentação em condições tóxicas. As análises estatísticas consistiram no teste-F e no teste-t.

Os ensaios de toxicidade com *Aliivibrio fischeri* seguiram as recomendações da normativa ABNT NBR 15411/2012. Os resultados foram expressos em CE50_{15min} (Concentração Efetiva50) obtidos por regressão linear dos valores de efeito gama (relação entre a luz perdida e a luz remanescente).

Os ensaios toxicidade aguda com *Daphnia similis* foram realizados conforme a norma ABNT NBR 12713/2016. Os resultados foram expressos em CE50_{48h}, calculados pelo método Trimmed Spearman-Kärber a partir dos dados de imobilidade.

A avaliação do impacto de cada fármaco foi calculada com base no Quociente de Risco (QR), baseada na relação entre os efeitos obtidos com as concentrações ambientais aferidas (MEC) adquiridas da literatura e pelos valores de estimados de PNEC (*Predicted No Effect Concentration*).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios com leveduras indicaram baixa sensibilidade aos fármacos nas concentrações avaliadas, visto que não foi possível estimar a $CE_{50_{30min}}$ ($CE_{50_{30min}} > 50 \text{ mg L}^{-1}$ para fluoxetina e ciprofloxacina; e $CE_{50_{30min}} > 125 \text{ mg L}^{-1}$ para aspirina e metformina). Entretanto, os resultados indicaram que houve alterações significativas na fermentação entre o controle e as amostras, exceto para a fluoxetina, denotando, assim, a presença de toxicidade dos fármacos aspirina, metformina e ciprofloxacina.

Os ensaios com a *Aliivibrio fischeri* demonstraram maior sensibilidade ao antidepressivo, seguido do anti-inflamatório. Para o antibiótico e o antidiabético, foi verificada baixa toxicidade nas concentrações testadas, uma vez que foram obtidas inibições luminosas de aproximadamente 5 e 20%, respectivamente, nas maiores concentrações avaliadas. Os valores de $CE_{50_{15min}}$ para fluoxetina e aspirina foram de $4,59 \pm 0,17$ e $38,48 \pm 4,48 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, enquanto para ciprofloxacina e metformina os valores foram maiores que 20 e 100 mg L^{-1} .

Os ensaios de toxicidade com *D. similis* demonstraram maior sensibilidade ao antidepressivo e menor sensibilidade ao anti-inflamatório, ao passo que o antidiabético e antibiótico apresentaram sensibilidades próximas e intermediárias. Os valores de $CE_{50_{48h}}$ (mg L^{-1}) calculados para os fármacos foram de $86,05 \pm 4,63$; $1,45 \pm 0,37$; $20,44 \pm 2,83$ e $23,18 \pm 2,14$ para ácido acetilsalicílico, fluoxetina, metformina e a ciprofloxacina, respectivamente. De acordo com a classificação proposta pelo Sistema de Classificação Integrado Harmonizado para Saúde Humana e Riscos Ambientais de Substâncias Químicas e Misturas (OECD, 2002), a fluoxetina se classifica como perigosa para o ambiente aquático, na categoria de toxicidade aguda II, enquanto os demais fármacos se classificam na categoria de toxicidade aguda III.

Com base nos dados de toxicidade aguda dos três níveis tróficos distintos, foi verificado maior sensibilidade do microcrustáceo para fluoxetina, metformina e ciprofloxacina, e maior sensibilidade da bactéria para a aspirina, sendo assim selecionados para a estimativa do PNEC e do Quociente de Risco. O maior valor de concentração ambiental medida (MEC) dos fármacos

em águas superficiais brasileiras foi utilizado para a avaliação de risco, visando verificar o pior cenário real. O PNEC foi estimado pelos dados de toxicidade aguda divididos por um fator de avaliação (FA) de 1000. Os QR calculados indicaram que metformina apresenta um alto risco à biota aquática ($RQ > 1$), enquanto aspirina possui um possível risco ($0,1 < RQ < 1$), e a ciprofloxacina e fluoxetina um baixo risco ($RQ < 1$).

CONCLUSÃO

Neste trabalho verificou-se a levedura demonstrou baixa sensibilidade aos fármacos, ao passo que *A. fischeri* se apresentou mais sensível a fluoxetina e a aspirina e *D. similis* exibiu maior sensibilidade a maioria dos compostos, sendo observado maior toxicidade para fluoxetina. A avaliação de risco indicou alto risco para metformina e possível risco para a aspirina. Embora os resultados tenham demonstrado baixo risco à fluoxetina e ciprofloxacina, ressalta-se a importância de avaliar a toxicidade crônica, para elucidar o potencial de risco ambiental, e utilizar diferentes níveis tróficos, a fim de garantir maior proteção aos diferentes organismos não-alvo do ambiente aquático.

Fonte Financiadora:

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN), Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT).

Palavras-chave:

toxicidade de fármacos; antibiótico, anti-inflamatório; antidiabético; antidepressivo

Referencias:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Ecotoxicologia aquática — Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (ensaio de bactéria luminescente) - Parte 2: Método utilizando bactérias desidratadas. Rio de Janeiro: ABNT, 2012 (NBR 15411-2).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT, 2016 (NBR 12713).

DOLEZALOVA, J.; RUMLOVA, L. A new biological test of water toxicity—yeast *Saccharomyces cerevisiae* conductometric test. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, v. 38, n. 3, p. 977-981, 2014.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R. V. (1977). Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ Sci Technol*, 11(7), 714-719.

OECD - Organisation for Economic Co-Operation and Development. Harmonised Integrated Classification System For Human Health And Environmental Hazards Of Chemical Substances And Mixtures, França, 2002