

Avaliação da ecotoxicidade de fármacos em ambientes aquáticos utilizando *Daphnia similis*

Ian Baena Palomo, Evaldo Luiz Gaeta Espíndola, Allan Pretti Ogura

Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos

palomoian068@usp.br

Objetivos

A presente pesquisa buscou avaliar os efeitos de ecotoxicidade letais de sete fármacos e subletais do fármaco mais tóxico (aquele com menor concentração de efeito estimada para 50% da população – CE₅₀) para microcrustáceos da espécie *Daphnia similis*, considerando exposições agudas e crônicas.

Métodos e Procedimentos

Os efeitos tóxicos dos fármacos acetaminofeno (ACE), atenolol (ATL), diclofenaco (DFC), ibuprofeno (IBU), naproxeno (NPX), propranolol (PRO) e triclosan (TCS) foram testados sob exposição aguda com organismos da espécie *D. similis* por 48 h com objetivo de obter as CE₅₀ para o *endpoint* de mobilidade. Os ensaios seguiram as diretrizes da NBR 12.713 (ABNT, 2022), com fotoperíodo 16 h: 8 h (claro-escuro) a 20±2°C. Em copos plásticos de 50 mL, com 15 mL de amostra (considerando quatro réplicas), 5 organismos neonatos foram adicionados. Para cada composto, 5 concentrações diferentes foram testadas, baseadas em estudos com *Daphnia magna* encontrados na literatura. Posteriormente, o fármaco com o menor valor de CE₅₀, ou seja, o mais tóxico, foi testado novamente em exposições crônicas de 21 dias a fim de observar concentrações de efeito observável e não observável (CEO e CENO) para o *endpoint* de reprodução. Os testes foram realizados em condições análogas às de exposição aguda, considerando 10 réplicas para cada uma das 5 concentrações testadas, todas

abaixo da menor CEO do teste de exposição aguda. Na presente pesquisa, ensaios de ecotoxicidade crônica foram feitos com TCS a 1, 6,25, 12,5, 25 e 50 µg/L. Os ensaios foram feitos em copos plásticos de 50 mL com volume de 40 mL de amostra, uma adaptação da norma 211 da OECD (OECD, 2012). A reprodução foi contabilizada a partir da contagem de neonatos a cada 48 h. O tratamento estatístico foi feito utilizando os métodos de Shapiro-Wilk e Levene para a verificação da homogeneidade e da normalidade dos dados. Para analisar a significância estatística dos dados ($p < 0,05$), foram aplicados a Análise de Variância (one-way ANOVA, com post hoc de Tukey) e o teste de Kruskal-Wallis (com post hoc de Dunn). Os valores de CE₅₀ foram determinados por meio de regressão não linear usando a curva logística de três parâmetros.

Resultados

Para os testes de ecotoxicidade aguda, foram determinadas as CE₅₀ para cada composto (Tabela 1).

Fármacos	Imobilidade - CE ₅₀ (mg/L)
ACE	65,56
ATL	> 100,00
DFC	29,7
IBU	45,18
NPX	51,38
PRO	4,96
TCS	0,16

Tabela 1: CE₅₀ para dos fármacos *D. similis*.

No geral, houve uma discrepância entre as CE_{50} . O ATL foi o fármaco menos tóxico, com concentração de efeito acima de 100mg/L. Por outro lado, o TCS foi o fármaco mais tóxico, com CE_{50} na casa dos $\mu\text{g/L}$, sendo o único com efeito em baixas concentrações. Entretanto, apesar dos efeitos agudos não terem ocorrido em concentrações baixas como o TCS, isso não os isenta de risco, uma vez que efeitos subletais podem ocorrer em concentrações ainda menores do que as constatadas nos testes de ecotoxicidade aguda, como ocorrido nos testes com o TCS, em que a CEO foi de 6,25 $\mu\text{g/L}$. Nos ensaios de ecotoxicidade crônica com TCS (Figura 1), houve diferença significativa ($p < 0,05$) em todas as concentrações exceto a de 1 $\mu\text{g/L}$.

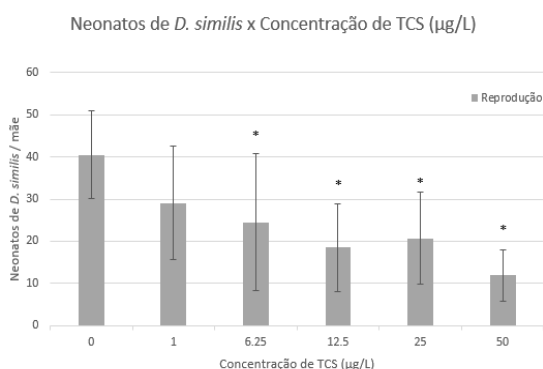


Figura 1: Número médio de neonatos de *D. similis* em exposição crônica.

Esse efeito subletal no ensaio crônico, com CEO acima de 1 $\mu\text{g/L}$ reforça a importância da realização dos testes de ecotoxicidade crônica para a observação de concentrações de efeito em exposição contínua com concentrações baixas que são mais próximas das encontradas ambientes aquáticos e efluentes (Dogan *et al.*, 2020).

Conclusões

O TCS foi o composto mais tóxico para a espécie *D. similis* devido à sua CE_{50} de 0,16 mg/L nos testes de exposição aguda. Além disso, o TCS apresentou efeitos na reprodução

dessa espécie em concentrações acima de 6,25 $\mu\text{g/L}$. Dessa forma, existe uma preocupação acerca da remoção desse e outros contaminantes em estações de tratamento de esgoto, a fim de minimizar sua chegada em águas superficiais.

Referências

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Crustacea, Cladocera). NBR 12713, 2016.

Dogan, A., Plotka-Wasyłka, J., Kempieńska-Kupczyk, D., Namieśnik, J., Kot-Wasik, A., 2020. Detection, identification and determination of chiral pharmaceutical residues in wastewater: Problems and challenges. TrAC Trends Anal. Chem. 122, 115710.

OECD (2012), Test No. 211: *Daphnia magna* Reproduction Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264185203-en>.