

## VI-091 - ÁRMACOS: ESTUDOS SOBRE A EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO EM ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS E ENSAIOS DE TOXICIDADE

**Suzete Maria Lenzi Caminada<sup>(1)</sup>**

Farmacêutica pela Universidade São Francisco-Campus Bragança Paulista, SP, 1993 – Especialista em Administração de Empresas, Fundação Escola e Comércio Álvares penteadado, FAAP –SP, 1995 – Licenciatura em Química, Faculdade Maria Imaculada, 2000 - Mestre em Engenharia Civil, Departamento de Saneamento e Ambiente FEC/UNICAMP, 2008. Doutoranda Faculdade de Saúde Pública, USP.

**Miriam Moreira Bocchiglieri**

Engenheira Civil pela Faculdade de Engenharia São Paulo. Mestre e Doutora em Ciências / Saúde Pública pela FSP/USP. Engenheira da Sabesp.

**Wanderley da Silva Paganini**

Engenheiro Civil e Sanitarista. Mestre e Doutor em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP/USP). Livre Docente em Saneamento Básico e Ambiental pela FSP/USP. Superintendente de Gestão Ambiental da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP) e Professor Associado da FSP/USP.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Avenida Antartica, 720, casa 109 – Jardim Santa Úrsula – Jaguariúna-SP – CEP: 13.820-000 – Brasil – Tel: +55 (19) 97145-3575 – e-mail: slcaminada@gmail.com

### RESUMO

Considerando o aumento dos conhecimentos na área da química ambiental e a atuação do comitê científico de toxicologia, ecotoxicologia e ambiente identificou-se, a necessidade da obtenção de dados sobre os efeitos dos fármacos no ambiente. A literatura científica comenta que a presença de fármacos no ambiente é, geralmente, pequena quando comparada a outros produtos químicos. No entanto, a alta persistência de vários destes compostos e sua contínua reposição aumentam o risco de exposição crônica para os organismos aquáticos, como também para os humanos. No Brasil, assim como em outros países, muitos compostos já foram identificados, em várias matrizes ambientais, apresentando variações quanto a remoção em plantas de tratamento de esgoto. Estes compostos e seus metabólitos são introduzidos no ambiente, pelo esgoto em quantidades que superam 100 toneladas/ano. Um destes compostos, o Hidrocloridrato de Fluoxetina, tem sido reportado como causador de distúrbios em organismos aquáticos. Nesse sentido, esse trabalho apresenta os resultados obtidos na avaliação da eficiência de remoção de fármacos em plantas de tratamento de esgoto, com base na literatura especializada, e desenvolve ensaios de toxicidade para o fármaco Hidrocloridrato de Fluoxetina. Os resultados obtidos demonstraram que o fármaco em estudo foi parcialmente degradado pelos organismos no sistema teste com uma remoção aproximada de 27%. Os dados obtidos experimentalmente, estão de acordo com o que foi predito pelo modelo de relação quantitativa entre estrutura e atividade (Q<sup>2</sup>SARS), em torno de 32%. Os ensaios toxicológicos indicaram que os fármacos apresentam toxicidades diferentes entre as formulações estudadas: CE50=47,74% (comercial), CE50=37,76% (genérico) e CE50=66,24% (princípio ativo puro), no teste utilizando o organismo *Vibrio fischeri*. A avaliação da toxicidade das amostras geradas pelo sistema de respirometria apresentaram uma redução na toxicidade, a medida que a biodegradação se processa. O testes com *Ceriodaphnia dubia* apresentou redução em torno 25% (CE50-24horas=0,87ppm – 1,16ppm) e com o organismo *Vibrio fischeri* redução em torno 12% (CE50=28,50% e CE50 40,92%). Os ensaios indicam uma possível acumulação ambiental com consequências prejudiciais aos organismos aquáticos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biodegradação, Fluoxetina, Toxicidade, Fármacos.

### INTRODUÇÃO

A indústria farmacêutica mundial é considerada como o segundo melhor negócio do planeta, ficando atrás apenas de companhias de petróleo. Segundo a revista inglesa Focus, 2008 apud MORAIS, 2003, o setor faturou em 2002, 406 bilhões de dólares.

O Brasil está entre os cinco maiores consumidores de medicamentos do mundo, com mais de 32 mil rótulos de medicamentos com 12 mil substâncias quando na verdade bastariam 300 itens. Há uma drogaria para cada 3 mil habitantes, mais que o dobro do recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

A variedade de especialidades químicas farmacoterapêuticas bem como os metabólitos gerados, os fármacos excretados inalterados ou na forma conjugada através de urina e fezes, assim como os descartes inadequados e os medicamentos vencidos, indicam a necessidade de estudos relacionados aos aspectos ecotoxicológicos, quantificação e identificação quanto à presença destes compostos nas várias matrizes ambientais e eficiência na remoção dos mesmos (CAMINADA, 2009).

A contaminação das águas superficiais por farmoquímicos tem suscitado preocupações entre cientistas devido ao potencial de efeitos negativos sobre os organismos aquáticos (HENRY, 2005). De particular importância são os compostos farmacêuticos que afetam os sistemas endócrino ou nervoso, pois seus efeitos em organismos aquáticos podem ser observados mesmo em baixas concentrações ambientais. Estudos recentes têm relatado a presença de fármacos, em partes por bilhão em águas superficiais, águas residuais e tratadas. Pouco é conhecido sobre o destino e o comportamento dessas substâncias no ambiente aquático, assim como não está claro quais organismos são afetados e em que grau. Atualmente, uma avaliação do risco ambiental devido à contaminação por fármacos tem sido requerida em vários países.

Diante da problemática quanto ao uso indiscriminado dos compostos farmacêuticos, insegurança quanto ao real efeito que estes produtos possam causar, assim como a falta de procedimentos adequados para seu descarte e tratamento a contaminação ambiental, causada por estes compostos, é um assunto bastante atual no meio científico e preocupante em termos de saúde pública.

A presença destes compostos e/ou seus metabólitos tem sido apontada como causa de inúmeras modificações tanto em nível fisiológico como genético, de organismos aquáticos, e com potencial, bastante provável, de causar doenças ao homem conforme demonstrado em vários artigos científicos.

O monitoramento da eficiência de remoção destes compostos ao passar pelos sistemas atuais de tratamento é de grande importância, pois, no futuro, podem ser necessárias adaptações, ou mesmo a implantação de sistemas de tratamento complementar e mais eficaz, para a remoção de fármacos do ambiente (BROOKS et al., 2002).

## **OBJETIVO**

Diante da atual preocupação, do meio científico quanto à presença de micropoluentes ambientais (fármacos) e os possíveis efeitos deletérios que esses compostos podem causar, o presente estudo tem por objetivo relacionar os resultados obtidos na avaliação da eficiência de remoção em plantas de tratamento de esgoto em ensaios de toxicidade do fármaco hidrocloridrato de fluoxetina, além de identificar os fármacos mais consumidos no Brasil e avaliar o comportamento desses compostos no ambiente, utilizando revisão bibliográfica.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O trabalho foi desenvolvido a partir de pesquisa bibliográfica, para identificar os fármacos mais consumidos no Brasil, nos últimos 2 anos e levantamento de dados sobre a eficiência de remoção em plantas de tratamento de esgotos, bem como o desenvolvimento de ensaios de toxicidade dos principais princípios ativos encontrados no ambiente.

Como a literatura científica disponível não apresenta dados de biodegradabilidade do composto em estudo, foram realizados ensaios visando a avaliação do potencial de biodegradação do hidrocloridrato de fluoxetina para avaliação do potencial tóxico antes e após o processo de biodegradação.

Conforme apresentado, CAMINADA, 2009 os experimentos foram conduzidos em etapas distintas, onde, a Etapa 1, compreendeu a avaliação do composto em estudo e testes de biodegradabilidade imediata, por ensaio de respirometria baseado no Teste Gledhill-modificado, 1988 - IBAMA e, quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), onde foi avaliada a porcentagem de biodegradação do fármaco comercial

durante o período do teste de respirometria, assim como o teor de pureza do princípio ativo, sendo este último também realizado para um fármaco genérico.

Na Etapa 2 foram realizados os testes de toxicidade aguda, os quais avaliaram o efeito agudo do composto a organismos aquáticos, sendo que estes testes foram conduzidos simultaneamente à avaliação de biodegradação.

O composto do hidrocloreto de fluoxetina CAS 56296-78-7, adquirido através da Sigma, com grau de pureza de maior que 90%, foi utilizado para os ensaios cromatográficos e alguns ensaios toxicológicos. Para condução dos experimentos referentes a biodegradação, ensaio de respirometria e ensaios de toxicidade aguda, o composto utilizado, na forma comercial, Prozac® foi adquirido em farmácia local, na cidade de Amparo-SP.

Os ensaios de toxicidade, organismos teste e respectivas metodologias são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1: Ensaios de toxicidade, organismos teste e respectivas metodologias empregadas.**

Toxicidade	Organismo-teste	Tempo de exposição	Atividade	Medida Final	Método
Aguda	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	24/48 h	Imobilidade mortalidade	<b>CE50</b>	NBR 13373, ABNT, 2006
Aguda	<i>Vibrio fischeri</i>	15 min	Bioluminescência	<b>CE50</b>	NBR 15411-2 ABNT, 2006

CE50-Concentração efetiva do efeito observado em 50% dos organismos teste

#### **Ensaio de toxicidade aguda do Hidrocloreto de Fluoxetina utilizando a *Ceriodaphnia dubia*: método NBR 13373 (ABNT, 2006).**

Inicialmente foram realizados ensaios preliminares visando avaliar a toxicidade do fármaco, estes testes compreendem os ensaios 01, 02 e 03 descritos a seguir.

Os resultados de CE50 foram obtidos através do Método estatístico (Trimmed Spearman Karber, Hamilton, 1978).

ENSAIO 01 - Ensaios preliminares foram realizados visando avaliar a toxicidade do fármaco em estudo. Para a realização dos ensaios foi utilizado o fármaco na forma comercial contendo 20 mg do princípio ativo/cápsula. O procedimento para o preparo da “solução 01” assim como as diluições efetuadas seguiram as seguintes etapas: a) Abertura de 2 cápsulas (20 mg cada) do fármaco analisado procedendo-se a diluição em 200 mL de água milliQ, desta forma obteve-se uma solução 200 ppm; b) partindo-se da “solução 01” procedeu-se diluições seriadas nas concentrações: 100, 50 e 25 ppm.

ENSAIO 02 - teste de toxicidade foi realizado utilizando amostra proveniente do sistema de respirometria (concentração 204,25 ppm). A referida amostra recebeu a denominação de “solução 02”. O experimento foi conduzido adicionando-se 10 mL da amostra (“solução 02”) e 6 organismos-teste. O mesmo procedimento foi repetido, utilizando-se a amostra diluída em 50%, com concentração aproximada de 102,12 ppm (solução 02.1). Após a avaliação dos resultados apresentados nos ensaios preliminares, procedeu-se o preparo de uma série de diluições visando à obtenção de concentrações adequadas para realização de 3 ensaios posteriores conforme demonstrado abaixo.

ENSAIO 03 – Amostra proveniente da “solução 1”; ENSAIO 04 – Amostra proveniente do sistema de respirometria (1º dia do ensaio) e ENSAIO 05 – Amostra proveniente do sistema de respirometria (28º dia do ensaio). Os organismos teste utilizados nos ensaios foram, cuidadosamente, adicionados às soluções anteriormente preparadas, bem como a uma solução controle.

#### **Ensaio de toxicidade aguda com a bactéria marinha *Vibrio fischeri* (Sistema Microtox). Método: 15411-2 (ABNT, 2006a).**

Para a realização deste ensaio foram utilizadas amostras do composto referência, genérico, padrão (>90%) e amostra proveniente do ensaio de respirometria. As soluções do fármaco referência e genérico foram

preparadas dissolvendo uma quantidade conhecida do composto, 200 ppm, solução-estoque, e procedendo as diluições conforme NBR 15411-2, ABNT, 2006a.

O método consiste na inibição da luminescência da bactéria marinha *Vibrio fischeri* causada pela exposição a diferentes concentrações do agente tóxico, por um período de 15 e 30 min de exposição ou, opcionalmente, 5 min, a 15°C, nas condições prescritas no método NBR 15411-2, (Parte II – Utilizando bactérias desidratadas), ABNT, 2006a.

O equipamento utilizado para ensaios com *V.fischeri*, é um fotômetro específico onde podem ser posicionadas até 30 cubetas de vidro. Este equipamento é composto de um espaço especial para o estoque do reagente (bactéria hidratada, 4°C; e um poço para a leitura do sinal (luminescência bacteriana).

As soluções do fármaco foram preparadas dissolvendo uma quantidade conhecida do composto em 80% de um volume especificado de água milliQ. Não foram utilizados nestes ensaios, solventes para a preparação das substâncias teste respeitando a constante de solubilidade da hidrocloreto de fluoxetina (Cs=5 mg/mL). Estas soluções foram utilizadas para a realização dos ensaios, simplesmente misturando os volumes necessários aos organismos testes utilizados.

Para a realização destes testes preliminares foram utilizados os fármacos na forma comercial e um genérico contendo 20 mg do princípio ativo/cápsula, ensaio 01, 02 e 03. As soluções do fármaco foram preparadas dissolvendo uma quantidade conhecida do composto, 200 µg/mL (mg/L), solução-estoque, e procedendo as diluições conforme NBR 15411-2, ABNT, 2006a.

Posteriormente o teste foi realizado utilizando as amostras geradas pelo sistema de respirometria. As soluções foram preparadas dissolvendo uma quantidade conhecida do composto, conforme resultados obtidos nas análises de CLAE e amostra do hidrocloreto de fluoxetina, com grau de pureza >90%, na concentração inicial 200 µg/mL, solução-estoque, e procedendo as diluições conforme NBR 15411-2, ABNT, 2006a. Esses testes correspondem aos ensaios 04 a 08.

## RESULTADOS

Os dados obtidos na revisão bibliográfica podem ser observados nas tabelas abaixo. A Tabela 2 descreve os fármacos mais consumidos no Brasil, nos anos 2014/2015. Os resultados referentes aos ensaios de biodegradação e toxicidade também foram reportados em SIBESA, 2010.

**Tabela 2: Fármacos mais consumidos no Brasil.**

NOME COMERCIAL	PRINCÍPIO ATIVO	INDICAÇÃO
Neosoro®	cloridrato de nafazolina	cloridrato de nafazolina
Dorflex®	dipirona monoidratada, citrato de orfenadrina e cafeína anidra	analgésico e de combate à dor muscular e à cefaleia
Losartana®	losartana	bloqueador do receptor de angiotensina, o anti-hipertensivo
Sinvastatina®	estatinas	utilizadas para a redução de níveis de colesterol, LDL e triglicérides
Neosaldina	isometepteno, dipirona sódica e cafeína	antiespasmódica, analgésica, anti-inflamatória e vasoconstritora
Rivotril®	clonazepam	Ansiolítico
Puran T4®	levotiroxina sódica	reposição hormonal para pacientes com hipotireoidismo

Vários pesquisadores têm relatado a presença de compostos farmacêuticos, tanto de origem veterinária, quanto humana, em afluentes e efluentes de estações de tratamento de esgotos (ETE), estações de tratamento de água (ETA) como também em outras matrizes ambientais tais como solo, sedimento e águas naturais, em concentrações que variam na faixa de µg/L e ng/L (Stumpf et al.,1996; Zuccato et al., 2000; e Halling-Sorensen et al., 1998., Petrie, B., et al., 2014).

A Tabela 3 apresenta os dados que reportam a eficiência da remoção de fármacos em plantas de tratamento de esgotos realizados por vários pesquisadores em diferentes países.

**Tabela 3: Eficiência de remoção de fármacos em plantas de tratamento de esgotos.**

Composto	Afluente (µg/L)	Efluente (µg/L)	Remoção (%)	Referência
Analgésico/anti-inflamatório				
AAS	3.2	0.6	81	Ternes et al. (1999)
AS	57	0.05	99	Metcalf et al. (2003a) <sup>a</sup>
Diclofenaco	3.0	2.5	17	Heberer (2002)
Ibuprofen	2.6 – 5.7	0.9 – 2.1	60 – 70	Carballa et al. (2004) a
Propranolol	70	304	0	Roberts and Thomas (2005) <sup>a</sup>
Atenolol	n.r.	n.r.	< 10	Andreozzi et al. (2003a) <sup>c</sup>
Fenofibrato	0.44	0.22 – 0.4	6 - 45	Stumpf et al. (1999) <sup>b</sup>
Ácido clofíbrico	1	0.68 – 0.88	15 – 34	Stumpf et al. (1999) <sup>b</sup>
Carbamazepina	n.r.	n.r.	7 – 8	Ternes (1998) <sup>b</sup>
Diazepan	0.59 – 1.18	0.1 – 0.66	93	Van Der Hoeven (2004)

Fonte: Adaptada, FENT et al.(2005) , n.r.: não reportado.; a) concentração média ou %; b) concentração média ou %; c) concentração máxima ou %.

#### **Ensaio de respirometria em sistema fechado e Quantificação do consumo do fármaco por cromatografia (CLAE).**

Utilizando-se análise quantitativa, foi possível avaliar o teor ativo do fármaco comercial, um genérico e a evolução de consumo do fármaco, pelos microrganismos presentes no inóculo, durante o teste de biodegradação. As amostras são provenientes dos frascos-teste do ensaio de respirometria (Etapa I).

Com os resultados obtidos nas análises quantitativas, realizadas por cromatografia, foi possível avaliar a evolução de consumo do fármaco pelos microrganismos durante o período de ensaio, conforme demonstrado na Tabela 4.

**Tabela 4: Resultados das amostras provenientes dos frascos-teste do ensaio de respirometria (Etapa 1)**

Amostras (ppm)	Concentração ppm.					% remoção
	1º dia	6º dia	13º dia	21º dia	28º dia	
200	214,49	204,55	195,00	155,83	203,02	27,35
125	140,55	127,87	119,22	129,70	129,01	7,72
62,5	74,07	73,63	61,28	72,20	69,82	2,52
31,25	33,93	35,33	32,52	32,47	33,69	4,30
15,62	16,33	15,96	15,05	15,27	14,63	6,49

Pode-se observar pelos resultados apresentados na Tabela 4 que o fármaco em estudo apresentou uma degradação variável dependendo da concentração inicial utilizada. Os melhores resultados foram observados em concentrações de 200 µg/ml com redução de 27%. Concentrações mais baixas demonstram uma pequena utilização do composto com remoção média 4,2%. Os resultados estão de acordo com o que foi previsto pelo modelo de relação quantitativa entre estrutura e atividade (Q'SARS), em torno de 32% .

Paralelamente ao ensaio de respirometria foi realizada a determinação da concentração do princípio ativo do produto comercial e medicamento genérico adquiridos no mercado local. Os resultados obtidos na cromatografia (CLAE) mostraram concentrações de 21,70mg e 22,85mg respectivamente por cápsula. Estas

análises foram realizadas para confirmação da quantidade do princípio-ativo presentes nas formulações comerciais.

Com os dados da Tabela 4 foram obtidas as curvas da Figura 1. Nela pode ser observado o processo de biodegradação verificando-se que a partir do 21º dia de ensaio as concentrações do fármaco não sofrem alterações significativas até o 28º dia, o que demonstra que o processo de biodegradação atingiu o equilíbrio, exceto para a amostra de concentração 200 ppm.

O ensaio não foi submetido a um período mais prolongado devido ao embasamento do método utilizado que prevê o ensaio por um período máximo de 28 dias para a avaliação da biodegradação.

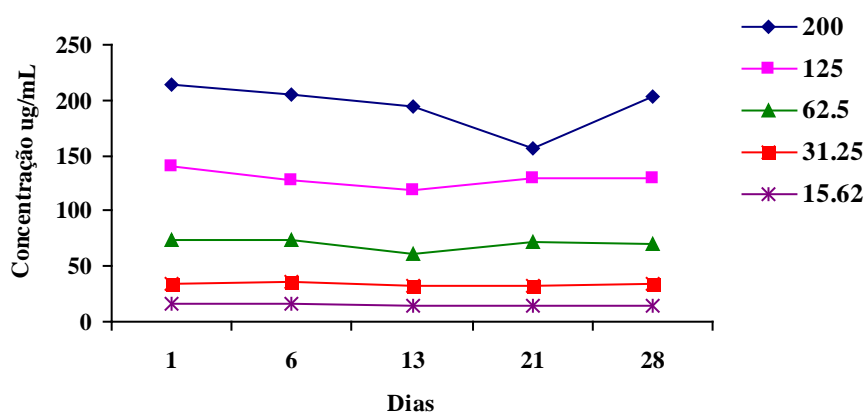


Figura 1: Avaliação da biodegradação do hidrocloridrato de fluoxetina durante o período de 28 dias do ensaio respirométrico (Concentrações de 200 a 15,62 µg/mL).

#### Avaliação da toxicidade do hidrocloridrato de fluoxetina

Os ensaios foram realizados utilizando-se amostras da forma farmacêutica contendo 20mg/cápsula e amostras geradas a partir de ensaio de respirometria em sistema fechado (Teste de Ghendhil, IBAMA), tendo sido escolhida a concentração que apresentou melhor eficiência no sistema (200µg/mL), para os testes realizados com os dois organismos.

#### Teste de toxicidade aguda com microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*, NBR 13373 (ABNT, 2005)

Foram realizados dois ensaios preliminares (ensaio 01 e 02) utilizando-se amostras provenientes da forma farmacêutica comercial e amostra proveniente do sistema de respirometria (21º dia), e que apresentou concentração 200µg/ml(mg/l) e 204,25µg/ml, conforme CLAE, respectivamente.

Transcorrido o período de 4 horas e assegurada às condições do teste, foi constatada a ausência total de sobrevivência dos organismos testes, demonstrando efeito tóxico nas concentrações utilizadas, para os 2 ensaios.

Posteriormente, teste de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*, foi realizado utilizando amostras geradas pelo sistema de respirometria referentes ao 1º, 6º e 21º dia, que correspondem aos ensaios 3, 4 e 5. Os resultados referentes aos ensaios realizados podem ser visualizados na Tabela 5.



**Tabela 5: Resultados da concentração efetiva para o teste de toxicidade aguda utilizando o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*.**

Amostras provenientes do sistema de respirometria	CE50 – 24 horas	CE50 – 48 horas
Ensaio 3 – Fármaco comercial	<b>0,87 ppm (0,61-1,23)</b>	<b>0,87 ppm (0,68-1,12)</b>
Ensaio 4 – Fármaco comercial	<b>1,41 ppm (0,66-3,02)</b>	<b>0,84 ppm (0,51-1,39)</b>
Ensaio 5 – Fármaco comercial	<b>1,16 ppm (0,86-1,55)</b>	<b>0,95 ppm (0,70-1,30)</b>

Os resultados do teste de toxicidade, considerando o equilíbrio do processo de biodegradação (21° dia), utilizando o organismo teste *Ceriodaphnia dubia*, demonstram efeitos tóxicos agudos, CE50=1,16 ppm (0,86-1,55) – 24 horas e 0,95 ppm(0,70-1,30) – 48 horas, tendo apresentado resultados semelhantes aos apresentadas por HENRY (2004) e BROOKS (2003).

HENRY, 2004, discute que trabalhos relacionados a avaliação da toxicidade para os organismos aquáticos quanto a presença dos ISRS (Inibidores seletivos da recaptção da serotonina) não é bem documentada na literatura. Alguns pesquisadores investigaram a toxicidade da fluoxetina para organismos aquáticos, em vertebrados e invertebrados aquáticos, em testes padronizados foram determinados concentração de efeito não observado (CENO) de 56 µg/L para a reprodução em *Ceriodaphnia dubia*.

HENRY, 2004 demonstra em seu trabalho que a exposição crônica reduziu o número médio de neonatos produzidos por *C.* durante o período de 7 – 8 dias. Para fluoxetina, a CENO, para a média do número de nascidos vivos, foi de 0,089 mg/L, que era similar a CENO (0,056 mg / L fluoxetina HCl) relatada por Brooks, 2003 utilizando o mesmo padrão 7-dias de ensaio para toxicidade crônica com *C.*

Foi relatado que a fluoxetina foi detectada na concentração de 0,012 µg/L em córregos nos Estados Unidos durante os anos 1999 e 2000 e, de 0,013 a 0,099 mg/L no tratamento de efluentes de esgoto perto dos Grandes Lagos, Canada. Em levantamento realizado pelo NDCHealth (Atlanta, GA, E.U.A.), a fluoxetina foi classificada em 34° substância com base nas 200 prescrições mais dispensadas nos Estados Unidos durante o ano de 2003, (em <http://www.rxlist.com/> , KNOW, 2006).

#### **Teste de toxicidade aguda com a bactéria marinha *Vibrio fischeri* , NBR 15411-2 (ABNT, 2006)**

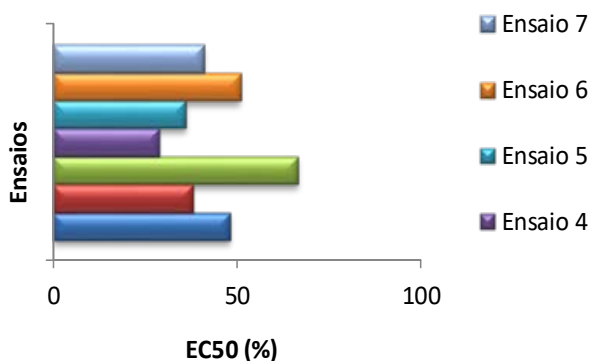
Foi realizado teste preliminar para a avaliação da toxicidade do Hidrocloridrato de fluoxetina, utilizando amostras nas formas comercial e genérica em concentração de 200ppm, e constituem os ensaios 01 e 02, respectivamente. Os ensaios posteriores foram realizados utilizando amostras geradas pelo sistema de respirometria, e amostra do composto puro (> 90%), na concentração inicial 200 ppm. Esses testes correspondem aos ensaios 03 a 07 apresentados na Tabelas 6.

**Tabela 6: Resultados da concentração efetiva para o teste de toxicidade aguda utilizando a bactéria marinha *Vibrio fischeri*.**

Ensaio	Amostras	CE50	Concentração
Ensaio 01	Fármaco comercial	47,74% (35,13 – 64,87)	95,48 ppm (70,26 – 129,74ppm)
Ensaio 02	Medicamento genérico	37,76% (6,50 – 219,41)	75,52 ppm (13,00 – n.d. ppm)
Ensaio 03	Fármaco comercial - 214,49µg/ml	28,50% (23,81 -34,11)	61,13 ppm (51,07 – 73,16 ppm)
Ensaio 04	Fármaco comercial - 204,55µg/ml	35,84% (24,83 – 51,74)	73,31 ppm (50,79 – 105,83 ppm)
Ensaio 05	Fármaco comercial - 195µg/ml	50,79% (38,59 – 66,84)	99,04 ppm (75,25 – 130,34 ppm)
Ensaio 06	Fármaco comercial - 155,83µg/ml	40,92% (30,08 – 55,67)	63,77 ppm (46,87 – 86,75 ppm)
Ensaio 07	Fármaco puro	66,24% (39,05 – 112,37)	132,48 ppm (78,10 – 224,74 ppm)

O teste de toxicidade evidenciou não apenas a toxicidade do hidrócloridrato de fluoxetina e a diminuição desta frente ao processo de biodegradação (ensaio de respirometria), mas também, o problema inerente ao tipo de excipiente utilizado nas várias formas farmacêuticas.

Os compostos analisados apresentaram toxicidades diferentes, sendo o medicamento genérico mais tóxico que a forma comercial e o fármaco puro (teor < 90%) que apresentou a menor toxicidade, visualizados na Tabela 04 e ilustrado na Figura 4.



**Figura 2: Ensaio de toxicidade aguda (*Vibrio fischeri*) avaliando o hidrócloridrato de fluoxetina puro, formulação comercial e amostras provenientes da respirometria.**

Através da consulta no bulário, de cada uma das formas farmacêuticas utilizadas, constatou-se diferença na formulação quanto à composição dos excipientes, sendo a forma comercial constituída por amido em pó e amido em pó com 5% de silicone q.s.p (quantidade suficiente para) e a forma genérica constituída de amido de milho e óleo vegetal hidrogenado q.s.p. CARLSON et al, 2005a, avaliaram em seus trabalhos os riscos associados aos excipientes contidos nos fármacos e que os mesmos podem apresentar efeitos tóxicos em vários organismos.

## CONCLUSÕES

Os dados obtidos pela revisão bibliográfica reportam a ineficiência da remoção de fármacos em plantas de tratamento de esgotos, tendo apresentado variações significativas quanto à eficiência de remoção, dependendo do princípio ativo avaliado.

Os ensaios toxicológicos preliminares indicou que os fármacos apresentam toxicidades diferentes entre as formulações estudadas, sugerindo que as diferenças apresentadas quanto à toxicidade podem estar baseadas na variedade de excipientes apresentada pelas formas farmacêuticas distintas. A avaliação da toxicidade das amostras geradas pelo sistema de respirometria indicou uma diminuição da toxicidade à medida que a biodegradação se processa, no entanto o residual ainda apresenta valores significativos quanto aos possíveis efeitos deletérios aos organismos aquáticos.

O presente estudo procurou, com os dados obtidos, demonstrar a necessidade de novas pesquisas quanto ao desenvolvimento de processos visando minimizar a presença destes compostos ou diminuir os efeitos tóxicos que estes apresentam. Importante ressaltar que reais condições ambientais são diferentes, pois os organismos são expostos a uma mistura diversificada de contaminantes, o que pode potencializar os efeitos, ter ação sinérgica ou antagônica, entre outros. Também é importante salientar o fato da exposição ocorrer durante várias gerações. Atividades de farmacodinâmica unida a ecotoxicologia de fármacos são ciências que podem apresentar resultados mais conclusivos do risco dos mesmos e suas formulações aos problemas ambientais.

Devido a necessidade de novos estudos, no que se refere à presença e remoção dos fármacos nas várias matrizes ambientais, pode-se sugerir:

- Processo alternativo de oxidação do composto;



- Estudos de atividade enzimática dos organismos e avaliação da expressão gênica dos organismos por técnicas moleculares;
  - Avaliação dos subprodutos gerados durante o processo oxidativo ou processos biológicos; entre outros.
- Importante ressaltar que qualquer que seja o processo a ser desenvolvido, deve ser acompanhado por uma avaliação ecotoxicológica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-15411-2**: Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (Ensaio de bactéria luminescente) Parte 2: Método utilizando bactérias desidratadas. Rio de Janeiro, 2006.
2. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-13373**: Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia spp* (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2005.
3. BRASIL, LEIS, DECRETOS, ETC. 1996. PORTARIA NORMATIVA IBAMA Nº 84, DE 15/12/1996, DISPÕE SOBRE PROCEDIMENTOS PARA REGISTRO E AVALIAÇÃO DO PPA. PUBLICADA NO D.O.U. EM 18/10/96 E 23/10/96.
4. BROOKS, B.W., Turner, P.K., Stanley, J.K., Weston, J., Glidewell, E.A., Foran, C.M., Slattery, M., La Point, T.W., Huggett, D.B.. Aquatic ecotoxicology of fluoxetine. *Chemosphere* (in press). 2002.
5. BROOKS, B.W., Turner, P.K., Stanley, J.K., Weston, J., Glidewell, E.A., Foran, C.M., Slattery, M., La Point, T.W., Huggett, D.B.. Waterborne and sediment toxicity of fluoxetine to select organisms. *Chemosphere* (in press). 2003.
6. CAMINADA, Suzete Maria Lenzi. **Estudo da biodegradação do hidrocloreto de fluoxetina, empregando ensaios de respirometria e toxicidade**. 2009. 138 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Saneamento e Ambiente, Universidade de Campinas, Campinas, 2009.
7. CARSLON, Carina, JOHANSSON, Anna-Karin, ALVAN, Gunnar, BERGMAN, Kerstin, KUHNER, Thomas. Are Pharmaceuticals potent environmental pollutants? Part I: Environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *Science of the Total Environment* 364: 67-87. 2005a.
8. HALLING-SØRENSEN, B., Nors-Nielsen, S., Lanzky, P.F., Ingerslev, F., Holten-Lutzhoft, H.C. and Jørgensen, S.E.. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment—a review. *Chemosphere* 36 2, pp. 357–393. 1998.
9. HENRY TB, Kwon J-W, Armbrust KL, Black MC.. Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in *Ceriodaphnia dubia*. *Environ Toxicol Chem* 23:2229–2233, 2005.
10. JONES O.A.H.; VOULVOULIS N., LESTER J.N. Human pharmaceuticals in the aquatic environment—a review. *Environ. Technol.* 22, 1383–1394; 2001.
11. MORAIS, Jomar .Viciados em remédios. *Revista Superinteressante*. Editora Abril, edição 185, São Paulo, fev.2003.
12. PETRIE, B., et al., A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring, *Water Research* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.053>
13. STUMPF M.; TERNES T.A.; HABERER K.; SEEL P.; BAUMANN W. Determination of pharmaceuticals in sewage plants and river water. *Vom Wasser* ;86:291–303; 1996.
14. CAMINADA, Suzete Maria Lenzi; PONEZI, Alexandre Nunes; BORRELY, Suely Ivone. Avaliação da Toxicidade do Hidrocloreto de Fluoxetina, utilizando *Ceriodaphnia dubia* e *Vibrio fischeri*. In: X SIBESA - SIMPÓSIO ÍTALO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 10., 2010, Maceio. **Anais...** . Maceió: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2010. p. 53 - 54.
15. TERNES T. Occurrence of pharmaceuticals in surface waters (Vorkommen von Pharmaka in Gewässern). *Wasser und Boden*; 53(4):9–14; 2001.
16. ZUCCATO E.; CASTIGLIONI S.; FANELLI R. Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*. 122, 205–209; 2005