



PIBIC- CNPq

Avaliação de efeitos tóxicos e comportamentais gerados por resíduos de antibiótico em peixes *Danio rerio* (Hamilton, 1822)

Projeto: Desreguladores2

Autores: Júlia Caroline Dal Prá, Matheus Parmegiani Jahn

Laboratório de Toxicologia Ambiental

INTRODUÇÃO / OBJETIVO

Fármacos são produzidos e vendidos anualmente para proporcionarem efeitos biológicos em baixas doses [1], para promover melhora na qualidade de vida, alívio e cura de sintomas e doenças. Os fármacos geram resíduos que são encontrados em ambientes terrestres e aquáticos [2]. Esses resíduos são pertencentes ao grupo de micropoluentes emergentes, que são substâncias tóxicas encontradas em pequenas concentrações [3-4], podendo afetar espécies não-alvo.

Dentre os resíduos de fármacos, os antibióticos são amplamente encontrados em ambientes aquáticos. As tetraciclina são o principal grupo de antimicrobianos usados na veterinária e em práticas agrícolas [5], e esses medicamentos são usados para combater doenças bacterianas, para a promoção do crescimento animal e para o tratamento de plantas com doenças bacterianas [6]. Porém, os resíduos gerados destes fármacos têm implicado em efeitos de resistência bacteriana, desregulação endócrina e toxicidade crônica em organismos não-alvo.

Portanto, é essencial avaliar a ocorrência, concentração, persistência, efeitos toxicológicos no ambiente e nos organismos dessas substâncias, para compreender melhor o potencial de causar danos e efeitos biológicos significativos nos organismos não-alvo [7-8]. Para essa avaliação podem ser realizados testes toxicológicos de efeitos agudos além de testes comportamentais, utilizando-se peixes como modelo experimental [9-10].

Esse projeto teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição de resíduos de antibióticos sobre a mortalidade e o comportamento de peixe *Danio rerio*.

MATERIAL E MÉTODOS

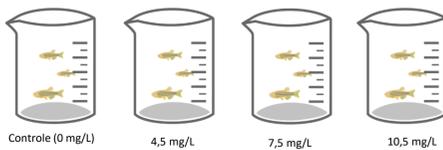
Fármaco

Foi usado o antibiótico cloridrato de tetraciclina de 500 mg de marca comercial.

Ensaio Toxicológico

Ensaio Preliminar

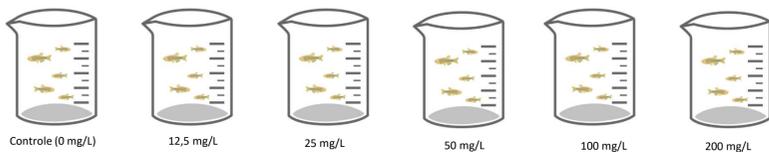
- Norma ABNT NBR 15088.
- Validação do método com substância cloreto de sódio (NaCl) em diferentes concentrações.
- Exposição de tres peixes *Danio rerio* em cada concentração por 48 horas.



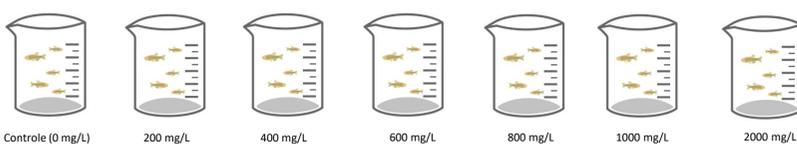
Ensaio Tetraciclina

- Exposição dos animais ocorreu em um período de 48 horas, onde foram colocados cinco peixes *Danio rerio* por concentração.

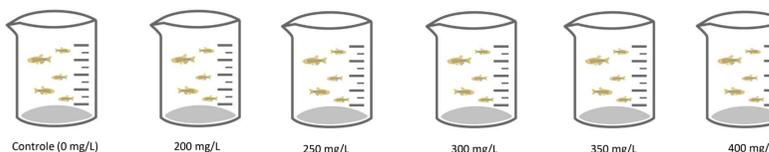
Primeiro ensaio



Segundo ensaio



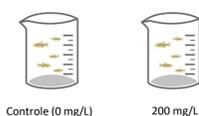
Terceiro ensaio



- Realizada a determinação da CL50, com o software Trimmed Spearman-Kärber.

Ensaio Comportamental

- Foi realizada a exposição ao antibiótico tetraciclina de 5 peixes *Danio rerio* em cada aquário por 96h, e após este período, os peixes foram filmados por 10 minutos com uma câmera Nikon P520.
- Foram avaliados os parâmetros de velocidade média geral (mm/s), taxa de mobilidade (%), taxa total de área explorada (%), distância média percorrida (mm) e tempo de congelamento (m:s). Para a realização dos resultados foi utilizado o software Tox Trac.



RESULTADOS

Ensaio Toxicológico

Figura 1: Resultado do teste preliminar apresenta letalidade dos organismos na maior concentração (10,5 mg/L).

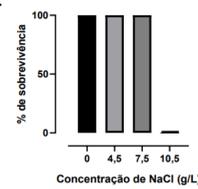


Figura 1. Porcentagem de sobrevivência no teste com a substância de referência (NaCl), nas concentrações controle (0 mg/L), 4,5 mg/L, 7,5 mg/L e 10,5 mg/L. Durante um período de 48 horas com peixes *Danio rerio*.

Figura 2: As seguintes concentrações não apresentam toxicidade para os organismos.

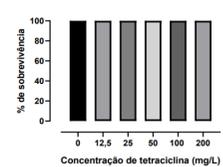


Figura 2. Porcentagem de sobrevivência no teste com a tetraciclina nas concentrações controle, 12,5 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L e 200mg/L. Durante um período de 48 horas com peixes *Danio rerio*.

Figura 3: O medicamento gera efeito tóxico a partir da concentração de 400 mg/L, onde se obteve efeito letal em todos os animais.

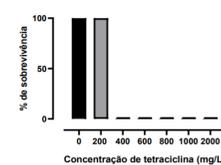


Figura 3. Porcentagem de sobrevivência no teste com a tetraciclina nas concentrações Controle, 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L, 1000 mg/L e 2000 mg/L. Durante um período de 48 horas com peixes *Danio rerio*.

Figura 4: A letalidade dos organismos ocorreu a partir da concentração de 300 mg/L, já nas concentrações inferiores não houve letalidade dos peixes.

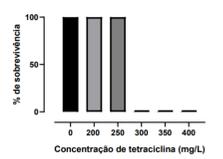


Figura 4. Porcentagem de sobrevivência no teste com a tetraciclina nas concentrações controle, 200 mg/L, 250 mg/L, 300 mg/L, 350 mg/L e 400 mg/L. Durante um período de 48 horas com peixes *Danio rerio*.

A partir dos Resultados dos ensaios, se obteve a **CL50 = 273,86 mg/L**, da substância cloridrato de tetraciclina.

Ensaio Comportamental

Parâmetros comportamentais analisados pelo software **Tox Trac**, nas concentrações controle e 200 mg/L de tetraciclina. Durante um período de 96 horas com peixes *Danio rerio*.

Parâmetros analisados	Controle 96h	200 mg/L 96h
Velocidade média geral (mm/s)	25,97	14,89
Taxa de mobilidade (%)	79,65	59,41
Taxa total de área explorada(%)	79,55	63,33
Distância média percorrida (mm)	35851	20602
Tempo de congelamento (m:s)	2:27	6:02

Os animais expostos à substância cloridrato de tetraciclina apresentaram **diminuição na mobilidade**.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível identificar a concentração na qual o antibiótico tetraciclina causa efeitos tóxicos no peixe *Danio rerio* e assim determinar a CL50.

No teste comportamental foi possível observar uma diminuição nos níveis de atividade dos animais, na concentração de 200 mg/L, causadas por possível efeito sobre a mobilidade dos animais.

A partir disso conclui-se que, mesmo em doses consideradas não-letais, foi possível observar efeitos deletérios sobre os animais, demonstrando a extrema importância de estudos para possíveis melhorias no manejo do descarte dessas substâncias, bem como o estímulo ao desenvolvimento de novas técnicas de tratamento de água e remoção desses resíduos dos meios hídricos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Fabbri, E. (2015). Pharmaceuticals in the environment: expected and unexpected effects on aquatic fauna. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1340, n. 1, p. 20–28. <https://doi.org/10.1111/nyas.12605>
- [2] Fent K. et al. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, v. 76, n. 2, p. 122–159. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.09.009>
- [3] Silva, C. G. A. & Collins, C. H. (2011). Applications of High Performance Liquid Chromatography For The Study of Emerging Organic Pollutants. *Química Nova*, v. 34, n. 4, p. 665–676. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000400020>
- [4] Aquino, S. F. et al. (2011). Remoção de fármacos desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 18, n. 3, p. 187–204.
- [5] Daghrir, R. & Drogui, P. (2013). Tetraciclina antibióticos no ambiente: uma revisão. *Environ Chem Lett*, v. 11, p. 209–227. [6] Chi, Z. et al. (2010). Toxic interaction mechanism between oxytetracycline and bovine hemoglobin. *Journal of Hazardous Materials*, v. 180, p. 741–747. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.04.110>
- [7] Miller, T. H. et al. (2018). A review of the pharmaceutical exposome in aquatic fauna. *Environmental Pollution*, v. 239, p. 129–146. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.04.012>
- [8] Miklósi, Á. & Andrew, R. J. (2006). The Zebrafish as a Model for Behavioral Studies. *Mary Ann Liebert, Inc*, v. 3, n. 2, p. 227–234. <https://doi.org/10.1089/zeb.2006.3.227>
- [9] Ji, K. et al. (2012). Risk assessment of chlortetracycline, oxytetracycline, sulfamethazine, sulfathiazole, and erythromycin in aquatic environment: Are the current environmental concentrations safe? *Ecotoxicology*, v. 21, n. 7, p. 2031–2050. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0956-6>
- [10] Petersen, B. D. et al. (2021). Antibiotic drugs alter zebrafish behavior. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 242, p. 108936. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108936>