

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO MEDICAMENTO VETERINÁRIO IVERMECTINA FRENTE AOS ORGANISMOS-TESTE *LACTUCA SATIVA* E *ARTEMIA SALINA*

Aline Cassia Fernandes¹
Ananda Kelly de Abreu Mariano²
Elisa Dias de Melo³

Conservação e Educação de Recursos Hídricos

Resumo

No contexto das crises ambientais da atualidade observa-se, em relação aos recursos hídricos, a necessidade iminente da avaliação conjunta de aspectos quanti e qualitativos. A avaliação qualitativa pelos parâmetros físico-químicos e biológicos é de grande relevância, mas há a necessidade em se englobar o monitoramento ecotoxicológico, permitindo uma avaliação conjunta e mais abrangente. Os medicamentos veterinários, quando empregados de forma irresponsável e abusiva, podem causar impactos ambientais, sendo inclusive classificados como contaminantes emergentes. Sendo assim, este estudo tem como objetivo a implantação de testes de toxicidade aquática nas instalações da Universidade Vale do rio Verde - UninCor, para a avaliação da toxicidade aquática de contaminantes emergentes, dentre outros contaminantes. A UninCor localiza-se na cidade de Três Corações, no sul de Minas Gerais, região com grande desenvolvimento econômico devido ao setor agropecuário. Neste contexto, foi trabalhada com a hipótese que o emprego de medicamentos veterinários sem o devido controle pode causar impactos negativos para o ecossistema aquático da bacia hidrográfica do rio Verde, com possíveis reflexos para a saúde humana. A implantação dos testes poderá, portanto, dar subsídios para um adequado monitoramento ambiental. Foram selecionados os organismos-teste: *Lactuca Sativa* e *Artemia Salina*, em teste de toxicidade aguda, utilizando o fármaco Ivermectina como substância teste. Após a realização dos testes obteve-se que a substância teste empregada apresentou $CL(I)_{50;48h} < 5 \times 10^{-5}$ mg/L, frente a *A. Salina*, e é considerada tóxica em relação ao organismo teste *L. Sativa*.

Palavras-chave: Contaminantes emergentes; Ecotoxicidade; Medicamento veterinário.

¹Aluna do Curso Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Vale do Rio Verde, alinefernandesc96@gmail.com.

²Aluna do Curso Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Vale do Rio Verde, anandakelly12.ak@gmail.com.

³Profa. Dra. Universidade Vale do Rio Verde – Engenharia Ambiental e Sanitária. Mestrado Profissional Sustentabilidade em Recursos Hídricos, prof.elisa.melo@unincor.edu.br.

INTRODUÇÃO

A água é um recurso natural finito, desta forma é imprescindível prezar por uma adequada gestão dos recursos hídricos. Mas, infelizmente, não é isso que vem ocorrendo na sociedade atual. A cada dia, o uso desenfreado e irresponsável dos recursos hídricos têm gerado grandes problemas, e um dos mais preocupantes é a alteração e deterioração de sua qualidade.

Geralmente os estudos de qualidade de água se resumem somente a parâmetros físico-químicos e biológicos. Ainda que estas análises sejam importantes, se torna necessário realizar análises ecotoxicológicas, obtendo-se assim uma avaliação mais abrangente.

A ecotoxicologia aquática, por meio dos testes de toxicidade, permite o estudo de efeitos tóxicos de uma substância, ou mistura de diferentes substâncias em amostras ambientais, efluentes domésticos ou industriais, sobre organismos representativos do ecossistema aquático, denominados organismos-teste. Por terem como resposta a atividade biológica dos organismos-teste, os testes de toxicidade podem indicar concentrações de substâncias bem abaixo dos limites de detecção por métodos de análises químicas, sendo de grande importância para o estudo de contaminantes de preocupação emergente. Dentre os contaminantes emergentes, definidos como substâncias potencialmente tóxicas cujos efeitos ou presença no ambiente ainda são pouco conhecidos, destacam-se os medicamentos veterinários.

Os medicamentos veterinários possuem uma atividade biológica que os tornam notáveis quando no meio ambiente, pois apresentam uma maior resistência à biodegradação por serem desenvolvidos com uma resistência à biotransformação. O fato de que esses elementos podem ser eliminados nas fezes e urinas de animais, faz com que esses compostos geralmente estejam presentes em águas residuais, o que justifica sua presença em sistemas aquáticos (NUNES, 2010).

Por tanto, objetiva-se com esse trabalho avaliar possíveis impactos ambientais gerados pelo uso indiscriminado e descarte incorreto de medicamentos veterinários, e com essa avaliação obter um embasamento técnico-científico para alertar aos produtores e órgãos públicos da região, quanto ao perigo do uso indiscriminado das referidas substâncias.

METODOLOGIA

O fármaco veterinário Ivermectina (Vitamedic®), pertencente ao grupo de antiparasitários, foi utilizado como substância teste, por ser amplamente e indiscriminadamente utilizado na região do Sul de Minas Gerais.

Seguindo a norma 16530/2016 da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT, o teste de toxicidade aguda com *A. salina* foi realizado a partir da exposição dos náuplios durante 48 horas a diferentes concentrações da amostra avaliada. Apesar de não ser um organismo-teste representativo da área de estudo, a *A. salina* possui como vantagem a fácil obtenção e manipulação.

Foram feitas diluições da substância teste em solução de água salina, sendo que para cada concentração foram dispostas quatro réplicas. Em cada réplica foram adicionados 10 organismos teste, em volume final de 10 mL em cada tubo de ensaio. As concentrações utilizadas, em relação ao princípio ativo, foram: 1×10^{-4} mg/L; 5×10^{-5} mg/L; $2,5 \times 10^{-5}$ mg/L; 1×10^{-5} mg/L e 1×10^{-6} mg/L, determinada após a realização de testes preliminares.

Para validação dos testes de toxicidade aguda, foram realizados testes de sensibilidade com o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) como substância de referência, nas concentrações de: 0,1 mg/L; 1 mg/L; 5 mg/L; 10 mg/L e 100 mg/L, diluídas em solução salina.

Após o período de exposição foi contabilizado o número de organismos vivos e mortos em cada concentração. Foram feitas também soluções controle para ter certeza que a mortalidade observada nos náuplios era resultante da toxicidade aos compostos, e não das condições dos testes.

Para os testes utilizando-se de *L. sativa* (alface), foram adquiridas sementes da marca ISLA®, com 96% de taxa de germinação, seguindo as recomendações das Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2009).

Seguiu-se as orientações de Fantin (2009), com algumas adaptações, preparando-se diluições do fármaco Ivermectina, em água destilada, nas concentrações de 0,1 mg/L, 1mg/L, 2,5 mg/L, 5 mg/L e 10 mg/L, em relação à concentração do princípio ativo. Foram

utilizadas placas de Petri previamente esterilizadas, contendo papel filtro e distribuídas 20 sementes umedecidas com 5 mL das concentrações avaliadas, em triplicata.

O teste de sensibilidade, com o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) como substância de referência, foi diluído em água destilada nas concentrações de 1 mg/L, 2,5 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L e 100 mg/L. Para controle negativo foi utilizado somente água destilada. As placas foram envolvidas em filme de PVC, e mantidas em ausência total de luz durante cinco dias, a uma temperatura de $22^\circ \pm 2^\circ C$.

Após tempo de incubação, foi contabilizado o número de sementes que germinaram em cada placa, e medidas o comprimento de suas raízes e radículas. Para os cálculos de germinação relativa das sementes (GRS), alongamento relativo da radícula (ARR) e índice de germinação (IG) foi utilizado o modelo proposto por Araújo e Monteiro (2005):

$$GRS (\%) = \frac{\text{Número de sementes germinadas}}{\text{Número de sementes germinadas no controle}} \times 100$$

$$ARR (\%) = \frac{\text{Média do alongamento da radícula na concentração}}{\text{Média do alongamento da radícula no controle}} \times 100$$

$$IG = \frac{(\% \text{ Germinação da semente}) \times (\% \text{ Alongamento da radícula})}{100}$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos testes de sensibilidade, realizados com a *A. salina* indicaram CL(I)50, 48h entre 100 mg/L e 10 mg/L $K_2Cr_2O_7$, comparável com o resultado obtido por Cunha (2011).

Os testes de toxicidade aguda, realizados com o organismo-teste *A. salina*, apresentaram CL(I)50, 48h $< 5 \times 10^{-5}$ mg/L, frente a substância teste empregada nos ensaios. Baseado na diretiva 93/67/EEC, da União Europeia, que torna obrigatório a realização de estudos para determinação da toxicidade de compostos químicos antes que os mesmos sejam inseridos no mercado, para avaliação de riscos existentes, Blaise et al.

(2006) desenvolveram uma escala de toxicidade para diferentes compostos químicos emergentes classificando-os como: extremamente tóxicos (concentrações < 0,1 mg/L), muito tóxicos (0,1 a 1mg/L), tóxicos(1 a 10 mg/L), nocivos (10 a 100 mg/L) e não tóxicos (>100mg/L). Sendo assim, pelo o resultado obtido neste estudo para a *A. salina*, pode-se classificar o fármaco Ivermectina como extremamente tóxico.

Nos testes de sensibilidade para o organismo-teste *L. sativa* foi observado que nas menores concentrações (1 mg/L; 2,5 mg/L) houve um estímulo no crescimento da radícula das sementes, podendo-se associar esse estímulo à presença de potássio na substância empregada, pois de acordo com Kano et al. (2006) o potássio influencia significativamente na produção de sementes. Entretanto, conforme se aumenta as concentrações ocorre a inibição do desenvolvimento da radícula.

Nos ensaios de ecotoxicidade com o fármaco Ivermectina, obteve-se os parâmetros de germinação e desenvolvimento da radícula da planta, conforme as tabelas abaixo:

Tabela 1: Índice de germinação das sementes para cada concentração (IG)

	Controle	0,1 mg/L	1 mg/L	2,5 mg/L	5 mg/L	10 mg/L
Germinação	100%	42,65%	33,72%	30,85%	0%	0%

Tabela 2: Comprimento médio das radículas para cada concentração

	Controle	0,1 mg/L	1 mg/L	2,5 mg/L	5 mg/L	10 mg/L
Tamanho médio das radículas (cm)	1,96	1,02	0,97	0,91	0	0

Tabela 3: Alongamento relativo da radícula para cada concentração (ARR)

	Controle	0,1 mg/L	1 mg/L	2,5 mg/L	5 mg/L	10 mg/L
Alongamento relativo da radícula	100%	51,97%	49,64%	46,72%	0%	0%

De acordo com Young et al. (2012), é considerada tóxica toda amostra que inibir o crescimento das sementes com resultado de índice de germinação abaixo de 80%, atóxicas se estiver entre 80% e 120% e são considerados estímulo de crescimento se apresentar taxas acima de 120%. Portanto, os resultados obtidos para os ensaios de toxicidade aguda com o fármaco mostraram que o medicamento em questão é tóxico para o referido organismo-teste.

Segundo a escala de toxicidade de Blaise et al. (2006), o medicamento em questão é considerado nocivo frente ao organismo-teste *L. Sativa*, entretanto para a *A. Salina* a substância teste é considerada extremamente tóxica. Pode-se associar essa desigualdade aos diferentes níveis tróficos onde os organismos estão inseridos e também ao desenvolvimento em ambientes distintos.

A *A. Salina*, por se tratar de um microcrustáceo sensível e de água salina, necessita de condições favoráveis e específicas para sua sobrevivência. Desta maneira o organismo é mais sensível a alterações no seu ambiente de desenvolvimento, apresentando também maior sensibilidade frente à substância teste em relação a *L. Sativa*.

Por tanto o fármaco Ivermectina, classificado como contaminante emergente, se mostrou tóxico frente aos organismos-teste utilizados.

CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos após realização dos testes de toxicidade, é possível concluir que o fármaco veterinário Ivermectina possui $CL(I)_{50;48h} < 5 \times 10^{-5}$ mg/L frente ao organismos teste *A. salina*.

A substância teste é considerada tóxica a sementes de alface, influenciando diretamente na taxa de germinação e desenvolvimento da planta nas menores concentrações testadas (0,1 mg/L do princípio ativo do medicamento).

Portanto, foi possível obter embasamento técnico científico para alertar os produtores e órgãos públicos da região, quanto ao perigo do uso indiscriminado da referida substância. Além disso, a implementação dos testes de toxicidade obteve sucesso,

sendo a saúde dos organismos-teste validada por meio dos testes de sensibilidade. Apesar de não ser organismo-teste representativo da região, o teste de toxicidade aguda com *A. salina* têm como vantagem ser tecnicamente simples, não exigindo equipamentos sofisticados e são economicamente viáveis.

REFERÊNCIAS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 16530 **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Artemia* sp. (Crustacea, Brachiopoda)**, 2016.
- ARAUJO, Ademir S. F; MONTEIRO, Regina T. R. **Plant bioassays to assess toxicity of textile sludge compost**. Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.), v.62, n.3, p.286-290, Mai./Jun., 2005. [asp?pNuTransacao=12869882017&pIdAnexo=7703436](http://www.sciagric.com.br/revistas/asp?pNuTransacao=12869882017&pIdAnexo=7703436); Acesso em: 15 ago. 2018.
- BLAISE,C., GAGNÉ,F., EULLAFFROY,P., FÉRARD,J.F. **Ecotoxicity of Selected Pharmaceuticals of Urban Origin Discharged to the Saint-Lawrence River (Québec, Canada): A Review – 2006**.
- BOWMAN, D. D.; Antiparasitic drugs. **Parasitology for veterinarians**. 7. Ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1999. p. 235-274.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes. Secretaria de Defesa Agropecuária**. – Brasília, 2009.
- CUNHA, Bruna Muller da **Avaliação ecotoxicológica de distintos tipos de efluentes mediante ensaios de toxicidade aguda utilizando *Artemia Salina* e *Lactuca Sativa***. 2011. 79 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.
- FANTIN, A. C. M. **Teste de sensibilidade em sementes de Rúcula (*Eruca sativa*) Alfaca (*Lactuca sp*) em contato com diferentes concentrações, do pesticida Glifosato**. VI Congresso de Meio Ambiente da AUEM (Universidades Grupo de Montevideú) – Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, outubro/2009.
- KANO, C.; CARDOSO, A. I. I.; HIGUTI, A. R. O.; VILLAS BOAS, R. L.; **Doses de potássio na produção e qualidade de sementes de alfaca**. Horticultura Brasileira. 24: 356-359; 2006.
- NUNES, Bruno. **Fármacos no ambiente: implicações ecotoxicológicas**. 2010. Disponível em: <<http://revistas.ua.pt/index.php/captar/article/viewFile/2724/2576>>. Acesso em: 12 ago. 2018.
- YOUNG et al. **Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa***. Ecotoxicology and Environmental Safety, n. 76, p. 182-186, 2012.