

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Medicamentos e Assistência
Farmacêutica

Laíse Taciane Rodrigues Jardim

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO ANTIRRETROVIRAL RALTEGRAVIR
EM *MICROCYSTIS NOVACEKII*, *CHLORELLA VULGARIS* E *ARTEMIA*
SALINA

Belo Horizonte
2025

Laíse Taciane Rodrigues Jardim

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO ANTIRRETROVIRAL RALTEGRAVIR
EM *MICROCYSTIS NOVACEKII*, *CHLORELLA VULGARIS* E *ARTEMIA
SALINA***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicamentos e Assistência Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestra em Medicamentos e Assistência Farmacêutica.

Área de concentração: Medicamentos e Assistência Farmacêutica

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Micheline Rosa Silveira

Coorientadores: Dr. Marcos Paulo Gomes Mol;

Prof.^a Dr.^a Cíntia Aparecida de Jesus Pereira.

Belo Horizonte

2025

J37a	Jardim, Laíse Taciane Rodrigues. Avaliação ecotoxicológica do antirretroviral raltegravir em <i>Microcystis novacekii</i>, <i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Artemia salina</i> [recurso eletrônico] / Laíse Taciane Rodrigues Jardim. – 2025. 1 recurso eletrônico (95 f. : il.) : pdf Orientadora: Micheline Rosa Silveira. Coorientadores: Marcos Paulo Gomes Mol. Cíntia Aparecida de Jesus Pereira. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Medicamentos e Assistência Farmacêutica. Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader. 1. Raltegravir potássico – Teses. 2. Antirretrovirais – Teses. 3. Toxicidade – Teses. 4. Organismos aquáticos – Teses. 5. Riscos ambientais – Teses. 6. Resíduos de serviços de saúde – Teses. I. Silveira, Micheline Rosa. II. Mol, Marcos Paulo Gomes. III. Pereira, Cíntia Aparecida de Jesus. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. V. Título. CDD: 616.925
------	---



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FOLHA DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO ANTIRRETROVIRAL RALTEGRAVIR EM MICROCYSTIS NOVACEKII, CHLORELLA VULGARIS E ARTEMIA SALINA

LAÍSE TACIANE RODRIGUES JARDIM

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICAMENTOS E ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA, como requisito para obtenção do grau de Mestre em MEDICAMENTOS E ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA, área de concentração MEDICAMENTOS E ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA.

Aprovada em 05 de junho de 2025 pela banca constituída pelos membros:

Micheline Rosa Silveira - Orientadora (FAFAR-UFMG)
Cintia Aparecida de Jesus Pereira - Coorientadora (UFMG)
Marcos Paulo Gomes Mol - Coorientador (FUNED)
Luciana Silami Carvalho (Fiocruz)
Gilcinea de Cássia Santana (UFMG)



Documento assinado eletronicamente por **Micheline Rosa Silveira, Professora do Magistério Superior**, em 05/06/2025, às 19:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cintia Aparecida de Jesus Pereira, Professora do Magistério Superior**, em 05/06/2025, às 19:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gilcinea de Cassia Santana, Chefe de departamento**, em 05/06/2025, às 19:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcos Paulo Gomes Mol, Usuário Externo**, em 06/06/2025, às 10:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciana Silami Carvalho, Usuária Externa**, em 06/06/2025, às 18:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4268327** e o código CRC **8CF28AD8**.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitora

Sandra Regina Goulart Almeida

Vice-Reitor

Alessandro Fernandes Moreira

Pró-Reitora de Pós-Graduação

Isabela Almeida Pordeus

Pró-Reitor de Pesquisa

Fernando Marcos dos Reis

FACULDADE DE FARMÁCIA

Diretora

Prof^a. Ana Paula Lucas Mota

Vice-Diretora

Prof^a. Gisele Assis Castro Goulart

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICAMENTOS E ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA

Coordenadora

Prof^a. Clarice Chemello

Subcoordenadora

Prof^a. Cristiane A. M. de Pádua

Colegiado

Titulares

Prof. Adriano Max Moreira Reis

Prof^a. Mariana Martins G. do Nascimento

Prof. Augusto Afonso G. Junior

Prof^a. Clarice Chemello

Discente Ana Rafaela Pires Lira

Suplentes

Prof^a. Cristiane A. M. de Pádua

Prof^a. Maria Auxiliadora Martins

Prof^a. Juliana Alvares Teodoro

Prof^a. Simone de A. M. M.

Discente Isabela Lima de Oliveira

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, pelo amor incondicional, apoio constante e pelo legado de valorização do conhecimento. Mesmo diante de privações, sempre fizeram questão de que os filhos estudassem. Este caminho é também fruto do esforço e da fé de vocês.

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Micheline Rosa Silveira, minha orientadora, pela oportunidade, acolhimento, apoio constante e amizade. Agradeço por todos os direcionamentos, pela confiança e pelos incentivos que me motivaram a seguir em frente.

Ao Doutor Marcos Paulo Gomes Mol, meu coorientador, pela orientação generosa, paciência e disponibilidade em cada etapa deste trabalho.

À Professora Doutora Cíntia Aparecida de Jesus Pereira, minha coorientadora, por sua presença atenta e valiosas contribuições.

À equipe do Laboratório de Água da FAFAR, Geraldo, Vinícius, e em especial a Mariângela Domingos Alcântara, pelo suporte técnico e humano ao longo desta jornada, e por ter se tornado uma grande amiga.

Ao meu amigo Gabriel Souza Silva, pela dedicação e parceria durante a realização da pesquisa. Seu apoio foi essencial nos projetos de ecotoxicologia do Laboratório de Água da FAFAR e em tantos outros momentos.

Aos colegas e amigos do PPGMAF – FAFAR/UFMG, Cléssius Ribeiro de Souza, Matheus Miranda e Igor Francisco Chagas, pelo apoio, incentivo e companheirismo ao longo dessa trajetória.

A Deus, por me conceder paciência, prudência, sabedoria e resiliência para concluir mais esse sonho.

EPÍGRAFE

"Os problemas não existem para nos derrotar, mas para testar nossa capacidade de superá-los
e crescer."

Lúcia Helena Galvão

RESUMO

O crescente consumo de medicamentos tem contribuído para a presença de resíduos farmacêuticos em corpos hídricos, gerando preocupações quanto às consequências ecológicas desses contaminantes emergentes no ecossistema aquático. Esse cenário torna-se ainda mais preocupante diante da baixa cobertura sanitária mundial e da ineficiência dos sistemas convencionais de tratamento de águas residuais na remoção completa desses resíduos. Dentre esses compostos, destacam-se os antirretrovirais (ARV), amplamente utilizados no tratamento do HIV. O raltegravir (RAL), primeiro inibidor de integrase aprovado para uso clínico, tem sido detectado em águas residuais, porém seus impactos ambientais ainda são pouco compreendidos. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade do medicamento contendo raltegravir potássico (MCR), isoladamente e em associação com o medicamento contendo dolutegravir (MCD), sobre os organismos aquáticos *Microcystis novacekii*, *Chlorella vulgaris* e *Artemia salina*. Os ensaios seguiram os protocolos ABNT NBR 12648 (2018) e NBR 16530 (2021), com exposições variando entre 6 e 102 mg/L. Os resultados mostraram que a cianobactéria *M. novacekii* foi o organismo mais sensível, com CE_{50} de $44,56 \pm 1,77$ mg/L para MCR isoladamente e de $20,96 \pm 0,95$ mg/L para a combinação de MCR e MCD, sugerindo efeito sinérgico. A microalga *C. vulgaris* apresentou aumento do crescimento celular em todas as concentrações testadas, enquanto o microcrustáceo e *A. salina* mostrou baixa sensibilidade, sem imobilidade significativa até 100 mg/L. A avaliação de risco ambiental, baseada em dados de concentração ambiental prevista (MEC) e nos valores de CE_{50} obtidos, indicou risco elevado do RAL para os diferentes cenários simulados (Brasil, Portugal, África do Sul). Os resultados sugerem que, embora o MCR seja classificado como levemente tóxico segundo o *Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals* (GHS), sua presença contínua e potencial sinergismo com outros ARV podem representar riscos à biota aquática, enfatizando a necessidade de monitoramento e ações regulatórias.

Palavras-chave: raltegravir; ecotoxicidade; organismos aquáticos; risco ambiental; resíduo farmacêutico.

ABSTRACT

The increasing consumption of pharmaceuticals has contributed to the presence of pharmaceutical residues in water bodies, raising concerns about the ecological consequences of these emerging contaminants in aquatic ecosystems. This situation is further exacerbated by the low global sanitation coverage and the inefficiency of conventional wastewater treatment systems in completely removing these substances. Among these compounds, antiretrovirals (ARVs), widely used in the treatment of HIV, stand out. Raltegravir (RAL), the first integrase inhibitor approved for clinical use, has been detected in wastewater, although its environmental impacts remain poorly understood. In this context, the objective of this study was to assess the toxicity of a pharmaceutical formulation containing raltegravir potassium (MCR), both alone and in combination with a formulation containing dolutegravir (MCD), on the aquatic organisms *Microcystis novacekii*, *Chlorella vulgaris*, and *Artemia salina*. The bioassays followed standardized protocols (ABNT NBR 12648:2018 and NBR 16530:2021), with exposure concentrations ranging from 6 to 102 mg/L. The cyanobacterium *M. novacekii* was the most sensitive species, with CE50 values of 44.56 ± 1.77 mg/L for MCR alone and 20.96 ± 0.95 mg/L for the MCR + MCD combination, suggesting a synergistic effect. The microalga *C. vulgaris* showed stimulated growth at all tested concentrations, while the microcrustacean *A. salina* exhibited low sensitivity, with no significant immobility observed up to 100 mg/L. The environmental risk assessment, based on predicted environmental concentration (PEC) data and CE50 values from this study, indicated high risk associated with RAL under simulated scenarios (Brazil, Portugal, and South Africa). The results suggest that although MCR is classified as slightly toxic according to the Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), its continuous presence and potential synergism with other ARVs may pose risks to aquatic biota, highlighting the need for environmental monitoring and regulatory action.

Keywords: raltegravir; ecotoxicity; aquatic organisms; environmental risk; pharmaceutical residue.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Fórmula estrutural do raltegravir (RAL) 21
- Figura 2** - Curva dose-resposta da inibição do crescimento em *M. novacekii* após 4 dias de exposição aguda ao medicamento contendo RAL-K (MCR), em concentrações variando de 12 a 102 mg/L. O grupo controle negativo consistiu em meio de cultura ASM-1 sem MCR (0,0 mg/L) 48
- Figura 3** - Crescimento celular de *M. novacekii* em diferentes concentrações do medicamento contendo RAL-K (MCR), variando de 12 a 102 mg/L, durante exposições agudas (4 dias) e crônicas (14 dias). O grupo controle negativo consistiu em meio de cultura ASM-1 sem MC (0,0 mg/L). 50
- Figura 4** - Relação entre a imobilidade média (%) de *A. salina* e a concentração do medicamento contendo RAL-K (MCR) após 48 horas de exposição a concentrações variando de 6,25 a 100 mg/L. A linha tracejada indica a tendência. O grupo controle negativo consistiu de cultura salina (cloreto de sódio a 3,5%) sem MCR (0,0 mg/L) 56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Taxa de estimulação do crescimento celular (C%) de *C. vulgaris* sob exposição ao medicamento contendo RAL-K (MCR) em diferentes concentrações por 4 e 14 dias. O grupo controle negativo consistiu em meio de cultura BG-11 com nitrogênio e sem MCR (0,0 mg/L)..... 53

Tabela 2 - Efeito da combinação dos medicamentos contendo RAL (MCR) e medicamentos contendo DTG (MCD) no crescimento de *Chlorella vulgaris* em diferentes tempos de exposição. Os valores de absorbância em 695 nm (ABS) representam a média $\pm$ desvio padrão (DP) de uma de uma triplicata. O grupo controle negativo consiste em meio de cultura BG-11 com nitrogênio e sem MCR ou MCD (0,0 mg/L)..... 58

Tabela 3 - Comparação dos efeitos do medicamento contendo RAL-K (MCR) isoladamente e da combinação de MCR e MCD sobre a cianobactéria *Microcystis novacekii*, com base nos parâmetros de toxicidade aguda (4 dias de exposição) e recuperação (14 dias de exposição). 60

Tabela 4 - Excipientes do medicamento contendo raltegravir potássico (MCR) Isentress® (solúveis) e sua toxicidade em organismos aquáticos. 63

Tabela 5 - Concentrações de raltegravir relatadas em corpos d'água, obtidas a partir de diferentes estudos, utilizando métodos preditivos e analíticos. 65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3TC	Lamivudina
ABC	Abacavir
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Analytical Communities</i>
ARV	Antirretroviral
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CE50	Concentração efetiva média
CENO	Concentração de efeito não observado
CEO	Concentração de efeito observado
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo
CI50	Concentração inibitória média
CL50	Concentração letal média
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
CONITEC	Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS
DATHI	Departamento de HIV/AIDS, Tuberculose, Hepatites Virais e Infecções Sexualmente Transmissíveis
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTG	Dolutegravir
EACS	<i>European AIDS Clinical Society</i>
EFZ	Efavirenz
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
ERA	<i>Environmental Risk Assessment</i>
ETA	Estações de tratamento de água
ETV	Entecavir
EUA	Estados Unidos da América
FAFAR	Faculdade de Farmácia
FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
FDA	<i>Food Drugs and Administration</i>

FUNED	Fundação Ezequiel Dias
GHS	<i>Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals</i>
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
ILO	<i>International Labour Organization</i>
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
LabÁgua	Laboratório de Água
LEOC	Limiar de Efeito Observado Crônico
MCR	Medicamento contendo RAL
MEC	<i>Measured Environmental Concentration</i>
MSD	Merck Sharp & Dohme Farmacêutica Ltda.
NBR	Norma Brasileira Registrada
NVP	Nevirapina
OECD	<i>Organization for Economic Cooperation and Development</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNEC	<i>Predicted No Effect Concentration</i>
PNRS	Política Nacional de Resíduos Sólidos
PPGMAF	Programa de Pós-Graduação em Medicamentos e Assistência Farmacêutica
PVHIV	Pessoas vivendo com HIV
RAL	Raltegravir
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SNIS	Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento
SUS	Sistema Único de Saúde
TARV	Terapia Antirretroviral
TDF	Tenofovir Disoproxil Fumarato
TFV	Tenofovir desesterificado
UE	União Europeia
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UGT1A1	Uridina 5'-difosfo-glucuronosiltransferase 1A1
UNAIDS	Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/Aids
USDA	<i>U.S. Department of Agriculture</i>
U.S.EPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>
UV	Ultravioleta

WHO

World health organization

SUMÁRIO

1 ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO	14
CAPÍTULO 1.....	15
2 INTRODUÇÃO	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
3.1 Raltegravir e HIV	19
3.2 ARV no meio aquático.....	22
3.3 Ecotoxicologia e ensaios ecotoxicológicos.....	26
3.4 Aspectos regulatórios de fármacos no meio ambiente	30
3.5 Ensaio de toxicidade	32
3.5.1 Ensaio de toxicidade com <i>Microcystis novacekii</i>	32
3.5.2 Ensaio de toxicidade com <i>Chlorella vulgaris</i>	34
3.5.3 Ensaio de toxicidade com <i>Artemia salina</i>	35
4 OBJETIVOS.....	38
4.1 Objetivo geral	38
4.2 Objetivos específicos	38
CAPÍTULO 2 - ECOTOXICIDADE DO ANTIRRETROVIRAL RALTEGRAVIR SOBRE MICROCYSTIS NOVACEKII, CHLORELLA VULGARIS, E ARTEMIA SALINA	39
CAPÍTULO 3.....	78
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
REFERÊNCIAS	80
ANEXO A - Artigo Científico Publicado	90

1 ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Esta dissertação foi desenvolvida no formato de artigo, de acordo com as etapas metodológicas propostas no projeto apresentado ao Programa de Pós-graduação em Medicamentos e Assistência Farmacêutica (FAFAR/UFMG). O capítulo 1 foi elaborado para apresentar introdução, referencial teórico, objetivo geral e específicos. No capítulo 2, é apresentado o artigo intitulado “Ecotoxicidade do antirretroviral raltegravir sobre *Microcystis novacekii*, *Chlorella vulgaris*, e *Artemia salina*”, publicado no *International Journal of Health Science* (DOI <https://doi.org/10.22533/at.ed.813532508057>), no qual aborda-se a toxicidade do medicamento comercial a base de raltegravir (RAL) para três organismos teste, microalga, cianobactéria e microcrustáceo. Finalmente, no capítulo 3, são apresentadas as considerações finais do trabalho.

CAPÍTULO 1

2 INTRODUÇÃO

O consumo global de medicamentos cresceu 14% nos últimos cinco anos, e estima-se que até 2028, ocorra um aumento adicional de 12%, chegando ao uso anual de 3,8 trilhões de doses diárias. Esse aumento pode ser atribuído a diferentes fatores como o envelhecimento da população, o aumento da prevalência de doenças crônicas, e o maior acesso a serviços de saúde e medicamentos (IQVIA, 2024). Diante deste cenário surgem novos desafios em razão da liberação e dispersão desses resíduos farmacêuticos no meio ambiente, especialmente no ecossistema aquático (Escher, et al., 2019; Wilkinson et al., 2022).

Uma ampla gama de resíduos farmacêuticos foi detectada em águas superficiais de 104 países, abrangendo todos os continentes, incluindo a Antártida, evidenciando que a presença desses compostos na matriz aquática representa uma potencial ameaça a saúde ambiental e humana (Wilkinson et al., 2022). Esses resíduos farmacêuticos chegam aos corpos d'água principalmente por meio de efluentes domésticos, industriais e hospitalares, descarte inadequado de medicamentos e excreção de compostos não metabolizados por seres humanos e animais (Montagner et al., 2017; Ncube et al., 2018; Kar et al., 2020). No entanto, os sistemas convencionais de tratamento de água e esgoto carecem de tecnologia específica para a remoção eficiente desses resíduos e seus metabólitos (Montagner et al., 2017), resultando na liberação contínua desses contaminantes no ambiente aquático (Ncube et al., 2018; Kar et al., 2020).

Os fármacos antirretrovirais (ARV), amplamente utilizados, devido a sua relevância no tratamento da infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), que em 2023, afetou cerca de 39,9 milhões de pessoas globalmente (WHO, 2024), estão entre os resíduos farmacêuticos frequentemente encontrados em águas residuais (Mlunguza et al., 2020; Cid et al., 2021; Adeola; Forbes, 2021). Os ARV desempenham um papel fundamental ao inibirem a replicação viral e retardarem a progressão da doença, contribuindo significativamente para a melhora da qualidade de vida e a redução da transmissão do HIV. No entanto, o tratamento requer adesão rigorosa ao esquema terapêutico, monitoramento regular e, em alguns casos,

enfrentamento de desafios relacionados à resistência viral e efeitos colaterais adversos (Bertagnolio et al., 2021; Charpentier et al., 2023).

Considerados uma classe emergente de contaminantes ambientais (Abafe et al., 2018; K'oreje et al., 2016; Ngumba et al., 2016; Prasse; Ternes, 2016), os ARV são frequentemente detectados em concentrações traços (ng/L a µg/L), porém persistentes devido a sua baixa degradabilidade, em águas superficiais e subterrâneas em diversas regiões do mundo (Mlunguza et al., 2020; Cid et al., 2021; Adeola; Forbes, 2021). Fármacos como Abacavir, Zidovudina, Darunavir, Estavudina, Entricitabina, Nevirapina (NVP), Efavirenz, Lamivudina (3TC), Dolutegravir (DTG) e Raltegravir (RAL) foram identificados em águas superficiais, estações de tratamento de efluentes e água potável, na França (Aminot et al., 2016), Polônia (Giebułtowiec; Nałęcz-Jawecki, 2016), Alemanha (Prasse; Ternes, 2016; Funke et al., 2016) Portugal (Almeida et al., 2023) Brasil (Cid et al., 2021; Marzabal et al., 2022; Ramos et al., 2025) Quênia (K'Oreje et al., 2016; Rimayl, 2018) e África do Sul (Wood et al., 2015; Abafe et al., 2018). Embora o consumo global de ARV tenha aumentado significativamente nas últimas décadas (WHO, 2024), em muitos países os medicamentos contendo esses fármacos não estão sujeitos a regulamentações ou padrões de proteção estabelecidos (Montagner et al., 2017; Wilkinson et al., 2022), e o impacto ambiental dos ARV, principalmente em exposições crônicas, ainda é pouco compreendido (Silva-Souza et al., 2025; Omotola et al., 2021, 2022; Escher et al., 2019).

Neste contexto, a ecotoxicologia surge como um campo essencial para investigar os efeitos prejudiciais dessas substâncias no ambiente aquático, visando lidar com os impactos adversos da atividade humana sobre a biodiversidade e os processos ecológicos. Desde a avaliação de riscos até a gestão da contaminação ambiental, a ecotoxicologia desempenha um papel crucial na preservação da saúde dos ecossistemas aquáticos (Yusof et al., 2021; Tarazona, 2023; Campbell et al., 2022).

A ausência de saneamento básico em muitas regiões agrava essa situação, permitindo o acúmulo de contaminantes nos ecossistemas aquáticos e aumentando a exposição de populações humanas e animais à microrganismos resistentes (Murray et al., 2022). No cenário global, 46% da população ainda vive sem acesso a sistemas de saneamento, enquanto no Brasil, aproximadamente 24% da população não possui

esse serviço básico (UN, 2023; IBGE, 2022). Essa realidade reforça a necessidade urgente de estudos ecotoxicológicos que investiguem os impactos desses poluentes no ecossistema aquático, visando a preservação ambiental e a saúde pública (Wallace et al., 2023; Nannou et al., 2020; Godoy; Kummrow, 2017).

Entre os fármacos ARV destaca-se o RAL, o primeiro inibidor de integrase aprovado para uso clínico. É prescrito para a profilaxia da transmissão vertical do HIV em crianças com alto risco de exposição, no tratamento inicial de gestantes, e em casos de resistência ou falha terapêutica (FDA, 2011; Brasil, 2023a, 2023b, 2023c; WHO, 2017). No Brasil, em 2023, cerca de 1 milhão de pessoas viviam com HIV (PVHIV), sendo 740.000 em terapia antirretroviral (TARV), incluindo 1.755 pessoas em esquemas contendo RAL, das quais 253 eram crianças menores de 12 anos (Brasil, 2024a; Brasil, 2024b). Apesar de sua importância clínica, o RAL tem sido detectado no ambiente aquático, como em águas residuais (17.000 ng/L) e efluentes (3.500 ng/L) na África do Sul (Abafe et al., 2018). Diferentemente de outros ARV, cujos impactos ecotoxicológicos foram investigados anteriormente (Silva et al., 2019; Souza-Silva et al., 2023; Diniz et al., 2022; Cid et al., 2021; Almeida et al., 2021), dados sobre a toxicidade do RAL para o ecossistema aquático ainda são escassos.

Além do RAL, o DTG, inibidor de integrase de segunda geração, faz parte dos esquemas de primeira linha para o tratamento de PVHIV (WHO, 2019; Brasil, 2019). O uso generalizado do DTG tem sido associado ao aumento da prevalência de resistência viral, com possibilidade de resistência cruzada a outros inibidores da mesma classe, como o próprio RAL (Chagas dos Santos et al., 2025). Conforme demonstrado por Souza et al. (2022), ambos os fármacos são excretados após a administração, o que pode levar à contaminação ambiental. Portanto, a coocorrência de RAL e DTG em corpos d'água pode ser considerada plausível, sobretudo em regiões onde são adotados esquemas terapêuticos sucessivos ou combinados. Tal cenário reforça a importância de estudos ecotoxicológicos envolvendo a associação entre RAL e DTG, visto que o DTG demonstrou impacto negativo em organismos aquáticos, como cianobactérias, mesmo em baixas concentrações (Silva-Souza et al., 2025).

No Brasil, no ano de 2024, com base nos dados de distribuição do medicamento contendo RAL (Isentress®) pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2025), e nos parâmetros farmacocinéticos disponíveis para o fármaco (MSD, 2023) estima-se

que aproximadamente 13.098 kg do princípio ativo foram disponibilizados para consumo. Considerando um cenário máximo teórico de uso integral dos medicamentos dispensados, cerca de 10.872 kg do fármaco podem ter sido excretados, dos quais 5.544 kg foram eliminados inalterados pelas fezes e 313 kg pela urina. Esses valores indicam que uma fração significativa do RAL pode ter alcançado o ambiente em sua forma ativa, evidenciando a contribuição do medicamento para a carga ambiental e seu potencial impacto ecotoxicológico. O RAL apresenta estabilidade em condições de pH neutro (pH 7,0) e temperatura ambiente (25°C), além de resistência à luz ultravioleta (UV) (254nm) (Bhavyasri et al., 2015; Nakamura et al., 2023). Sua elevada hidrofília e a baixa afinidade por partículas sólidas durante o tratamento de esgoto (ou seja, baixa capacidade de sorção ao lodo) favorecem sua permanência na fase aquosa, resultando em maior liberação contínua para os corpos d'água (Marzabal et al., 2022).

Ensaio ecotoxicológicos realizados em condições controladas são ferramentas fundamentais para avaliar os impactos de substâncias químicas no ambiente aquático, permitindo monitorar efeitos agudos, como letalidade e imobilidade, e crônicos, como alterações na reprodução, crescimento e comportamento ao longo do ciclo de vida dos organismos (Omotola et al., 2021; Souza et al., 2022; Souza-Silva et al., 2023). Modelos biológicos como a cianobactéria *Microcystis novacekii*, a microalga *Chlorella vulgaris* e o microcrustáceo *Artemia salina* têm se destacado como bioindicadores eficazes devido à tolerância a contaminantes, capacidade de biorremediação e respostas rápidas a alterações ambientais (Campos et al., 2013; Coronado-Reyes et al., 2022; Diniz et al., 2022; Silva et al., 2019). Esses ensaios possibilitam compreender os riscos e impactos potenciais dos poluentes nos organismos e no ecossistema, contribuindo para estratégias de mitigação e preservação ambiental (González-Pleiter et al., 2013; Kar et al., 2020; Tang et al., 2023).

Em consonância com o aumento do uso de medicamentos e a crescente preocupação em relação aos efeitos dos ARV no meio ambiente aquático, visa-se no presente estudo atualizar o conhecimento científico sobre a toxicidade do antirretroviral RAL, de modo a auxiliar na mitigação das consequências socioambientais decorrentes do descarte de medicamentos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Raltegravir e HIV

A infecção pelo vírus HIV pode se manifestar de várias formas. Nos adultos, pode levar décadas para progredir para estágios mais avançados, e em crianças, especialmente aquelas com menos de cinco anos, há maior risco de progressão rápida para Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) e óbito. Todas as crianças com HIV com menos de cinco anos de idade são consideradas como tendo a doença na forma avançada segundo a *World Health Organization*, (WHO) (WHO, 2023). A transmissão vertical é a forma mais comum de transmissão do HIV em crianças, ocorrendo no útero (35%) ou durante o parto (65%) (WHO, 2021). O RAL tem sido estudado para prevenir a transmissão do HIV da mãe para o filho durante a gestação, parto ou amamentação. Ele é utilizado em crianças com alto risco de exposição ao HIV e demonstrou eficácia na prevenção da transmissão vertical, especialmente quando as mães não receberam tratamento antirretroviral adequado durante a gravidez (Blonk et. al., 2015; WHO, 2023).

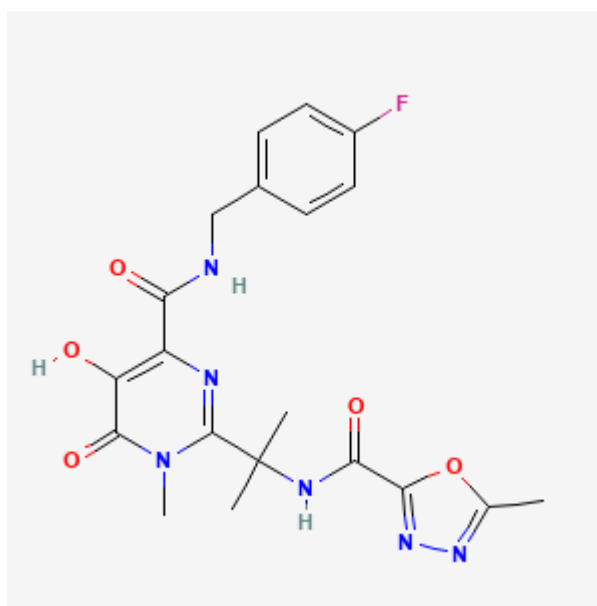
Desde o começo da epidemia na década de 80 até o final de 2023, 88,4 milhões de pessoas foram infectadas pelo vírus HIV. Somente em 2023, estimava-se que, cerca de 39,9 milhões de pessoas estavam vivendo com HIV no mundo. Deste total, 53% eram mulheres e meninas, e 30,7 milhões estavam em TARV. Entre as gestantes vivendo com o vírus, 83% receberam TARV. No mesmo período, registrou-se 1,3 milhão de novos casos de infecção pelo HIV, e 120 mil foram em crianças. A faixa etária de zero a 14 anos, correspondia a 57% dessas crianças, as quais tiveram acesso à TARV, conforme dados divulgados pelo Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/Aids (UNAIDS) em 2024. A WHO espera que em 2025, 95% de todas as pessoas diagnosticadas com HIV estejam em TARV, visando um controle mais efetivo da doença (UNAIDS, 2024; WHO, 2024).

No Brasil, em 2023, aproximadamente 1 milhão de pessoas viviam com HIV, e cerca de 740.000 estavam em TARV. Entre os menores de 13 anos, 84,2% dos casos foram devido à transmissão vertical. A prevalência de HIV na população geral foi de 0,49%, com 46.495 novas infecções registradas. Destas, 8.277 foram em gestantes, com uma taxa de detecção de 3,3 por 1.000 nascidos vivos. Cerca de 61,6% das gestantes notificadas sabiam de sua condição antes do pré-natal, e 70,4% usaram

TARV. A transmissão vertical foi notificada em 6.925 casos de infecção pelo HIV em adultos, sugerindo um diagnóstico tardio ou atraso nas notificações. Foram notificados 6732 novos casos de crianças expostas ao HIV em 2023. Em menores de cinco anos, a taxa de detecção de AIDS foi de 1,5 por 100.000 habitantes. De 2000 a junho de 2024, foram registrados 166.237 casos de gestantes infectadas pelo HIV no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), e 49,2% das crianças iniciaram a profilaxia ARV nas primeiras 24 horas de vida. Neste mesmo período 18.327 casos de AIDS foram notificados em crianças menores de cinco anos no Brasil (BRASIL, 2024).

De acordo com o Departamento de HIV/AIDS, Tuberculose, Hepatites Virais e Infecções Sexualmente Transmissíveis (DATHI/SVSA/MS), no ano de 2023, no Brasil, 1.755 pessoas receberam esquemas de tratamento com RAL. Dentre esses indivíduos, 253 eram crianças com idade inferior a 12 anos na data da dispensação, evidenciando a importância deste medicamento no tratamento pediátrico do HIV. O uso do RAL é significativo no contexto de prevenção e tratamento da infecção pelo HIV, especialmente em grupos vulneráveis como crianças e gestantes, bem como em indivíduos com resistência a outros ARV (BRASIL, 2024).

O RAL é um ARV pertencente à classe dos inibidores de integrase, que bloqueiam a inserção do genoma viral do HIV ao DNA da célula hospedeira, impedindo sua replicação (FDA, 2011; Liedtke et al., 2014). Aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) em 2007 e incorporado ao Sistema Único de Saúde (SUS) pela Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias (CONITEC) em 2017, é indicado para o tratamento do HIV-1 em adultos e crianças, e pode ser prescrito também em associação com outros ARV. Como primeiro inibidor de integrase aprovado, passou a fazer parte dos esquemas preferenciais de TARV devido à sua eficácia, segurança e facilidade de uso (Scarsi et al., 2020). Também figura entre as recomendações da *European AIDS Clinical Society* (EACS) e na Lista de Medicamentos Essenciais da OMS. (FDA, 2011; Brasil, 2017; WHO, 2017).

Figura 1 - Fórmula estrutural do raltegravir (RAL)

Fonte: Imagem da estrutura 2D do CID 54671008 (PUBCHEM).

A molécula do RAL é complexa, possui três anéis em sua estrutura, o que a torna estável e propensa a interações. Trata-se de um composto aromático heteromonocíclico, altamente polar, e solúvel em água em baixas concentrações (0,0976 mg/ml) (DRUGBANK 2025; FDA, 2011). A solubilidade do RAL é favorecida em meios ácidos, devido ao pKa ácido de 7,02 e básico de -1,1 (Fayaz et al., 2024; DRUGBANK 2025; FDA, 2011). É administrado em doses de 400 mg, duas vezes ao dia. Após a ingestão, cerca de 83% se liga a proteínas plasmáticas e sofre metabolismo hepático, com uma meia-vida de nove horas. A eliminação ocorre principalmente por glucuronidação mediada pela enzima uridina 5'-difosfoglucuronosiltransferase 1A1 (UGT1A1), sendo excretado principalmente nas fezes (51%) e urina (32%). Da dose total, 9% é excretado na urina na forma inalterada (Nakamura et al., 2023; MSD, 2023).

No Brasil, o RAL, é fabricado e distribuído pela Merck Sharp & Dohme Farmacêutica Ltda (MSD), comercializado sob a marca Isentress®. Ele é apresentado em duas formas principais: comprimidos revestidos de 400 mg e comprimidos mastigáveis de 25 e 100 mg (MSD, 2023). Cada comprimido revestido de 400 mg contém 434,4 mg de raltegravir potássico (como sal), equivalente a 400 mg de RAL. Os excipientes incluem celulose microcristalina, lactose monoidratada, fosfato de cálcio dibásico, hipromelose, poloxâmer, estearilfumarato de sódio, estearato de

magnésio, álcool polivinílico, dióxido de titânio, macrogol, talco, óxido de ferro vermelho e óxido de ferro preto (MSD, 2023).

Em 03 de julho de 2023, o SUS incorporou a forma granulada de 100 mg do RAL para a profilaxia da transmissão vertical do HIV em crianças com alto risco de exposição ao vírus. Esta decisão foi motivada pela necessidade de combater a epidemia de HIV, que resultou na morte de cerca de cinco milhões de crianças devido a causas relacionadas à AIDS no mundo. O RAL, possuía registro na Agência Nacional de Vigilância sanitária (ANVISA) para uso oral em adultos e crianças acima de dois anos, mostrou-se eficaz na prevenção da infecção pelo HIV em recém-nascidos de mães vivendo com HIV (UNAIDS, 2016; MSD, 2023; Brasil, 2023b, 2023c). Embora seja amplamente utilizado e considerado eficaz no controle da replicação do HIV, sua excreção e descarte inadequados representam uma fonte significativa de contaminação ambiental (Souza et al., 2022; Abafe et al., 2018).

3.2 ARV no meio aquático

O ecossistema aquático é complexo e diversificado, compreendendo uma variedade de corpos hídricos, como rios, lagos, mares e oceanos (Bila; Dezotti, 2003). As características físico-químicas desses ambientes influenciam significativamente tanto a atividade biológica quanto o impacto ambiental de contaminantes (Melo et al., 2009). A vulnerabilidade do ecossistema aquático às substâncias químicas é determinada por fatores como as propriedades dos contaminantes, sua concentração, o método de descarga, e as características individuais de cada ecossistema (Costa et al., 2008). De natureza dinâmica, os sistemas aquáticos estão em constante transformação, abrigando uma vasta gama de componentes. Os contaminantes podem ser transportados, transformados e assimilados, o que influencia sua distribuição e persistência (Khan; Barros, 2023). A bioacumulação pode causar efeitos deletérios nos organismos aquáticos, afetando a dinâmica das populações e a estrutura das comunidades (Bila; Dezotti, 2003; Melo et al., 2009; Costa et al., 2008; Khan; Barros, 2023).

Os ARV são amplamente prescritos e utilizados globalmente, sendo fundamentais no tratamento de infecções relacionadas ao HIV. Os medicamentos contendo esses fármacos, muitas vezes administrados em combinação, desempenham um papel fundamental na melhoria da qualidade de vida e na redução

da mortalidade entre indivíduos vivendo com HIV (WHO, 2021; Gandhi et al., 2023). No entanto, a crescente detecção de ARV no ambiente aquático tem levantado preocupações significativas. Devido à sua alta bioatividade, esses compostos podem provocar diversos efeitos químicos e biológicos adversos na saúde dos ecossistemas aquáticos e, potencialmente, na saúde humana (Wood et al., 2015; Omotola et al., 2021; Souza et al., 2022; Souza-Silva et al., 2023; Wallace et al., 2023; Munzhelele et al., 2024).

Diferentes ARV foram detectados em várias fontes de água ao redor do mundo, incluindo águas superficiais (lagos, rios e mares), subterrâneas, efluentes, e estações de tratamento de água (ETA) na África, América e na Europa (Mlunguza et al., 2020; Cid et al., 2021; Adeola; Forbes, 2021). Uma vez consumidos, os ARV são metabolizados e liberados na urina e/ou fezes. Eles podem estar na sua forma original, como metabolitos, ou conjugados com outras moléculas (Escher et al., 2019; Mahmood et al., 2019). Esses resíduos chegam às águas residuais e são conduzidos às ETA ou descarregados diretamente em águas superficiais e no solo sem tratamento prévio. A ineficiência das ETA na remoção completa desses resíduos resulta em sua liberação contínua no meio ambiente (Kar et al., 2020). Estudos demonstram que ARV, como o RAL, podem atravessar membranas biológicas, e permanecer nos corpos d'água, o que pode afetar negativamente a reprodução, crescimento, desenvolvimento, fisiologia e comportamento de organismos aquáticos como peixes, invertebrados e algas, mesmo em concentrações baixas (Escher et al., 2019; Mahmood et al., 2019; Omotola et al., 2021; Cid et al., 2021; Mahaye; Musee, 2022).

Novos estudos têm aprofundado a compreensão dos impactos dos ARV no ambiente aquático. A pesquisa de Wallace et al. (2023) revelou que cepas de *Escherichia coli* expostas ao RAL desenvolveram resistência não apenas ao próprio fármaco, mas também apresentaram resistência cruzada a diversos antibióticos, incluindo trimetoprim, tetraciclina, claritromicina, eritromicina e amoxicilina. Essas observações foram acompanhadas por mutações genéticas em genes relacionados à resistência a múltiplas drogas, como bombas de efluxo de multidrogas, transporte de carboidratos e metabolismo celular. As mudanças fenotípicas observadas, juntamente com os resultados genotípicos, indicam que bactérias expostas a medicamentos antivirais com propriedades antibacterianas *in vitro* podem desenvolver múltiplas mutações de resistência que conferem resistência cruzada a antibióticos. Isso destaca

a contribuição potencial do uso generalizado de medicamentos antivirais para o desenvolvimento e disseminação da resistência antimicrobiana em humanos e no ambiente. No referido estudo foram explorados outros fármacos, como DTG e efavirenz, sugerindo que a presença de ARV em corpos d'água pode promover resistência em microorganismos, o que pode comprometer a eficácia clínica de antimicrobianos em humanos e animais.

Almeida et al. (2023) destacaram que os antivirais têm sido reconhecidos como contaminantes emergentes, com efeitos ecotoxicológicos e destino ambiental amplamente investigados. Esses fármacos estão entre as classes terapêuticas mais perigosas, considerando sua toxicidade predita para algas, dáfnias e peixes. Fernández et al. (2022) evidenciaram o potencial de bioacumulação de abacavir e efavirenz no organismo *Rhinella arenarum*, o que sugere riscos ecológicos significativos. Diniz et al. (2022) mostraram que a toxicidade do medicamento contendo NVP foi maior do que a do princípio ativo isolado em *Chlorella vulgaris*, *Artemia salina* e *Aliivibrio fischeri*, indicando que os excipientes podem influenciar a toxicidade total. Gomes et al. (2022) demonstraram que a combinação de ARV como tenofovir (TDF), 3TC e efavirenz em concentrações ambientais relevantes afetou diretamente a resposta ecotoxicológica em *Synechococcus elongatus* e *Chlorococcum infusionum*. Assim como os ensaios ecotoxicológicos conduzidos por Omotola et al. (2022), em que a associação de 3TC, ciprofloxacino e sulfametoxazol tiveram efeitos tóxicos sinérgicos nos dafnídeos expostos a combinação, sugerindo uma potencialização dos efeitos tóxicos em relação aos princípios ativos isolados. Souza-Silva et al. (2023) observaram que o TDF provocou efeitos significativos no sistema imunológico do *Biomphalaria glabrata*, afetando marcadores citotóxicos e impactando a viabilidade, atividade metabólica e fagocítica dos organismos expostos.

Estudos ainda mais recentes reforçam a preocupação quanto à toxicidade dos ARV em organismos aquáticos. Souza-Silva et al. (2025) avaliaram os efeitos dos ARV TDF, 3TC e DTG sobre a cianobactéria *Microcystis novacekii*. Entre os compostos testados, o DTG apresentou a maior toxicidade, com inibição significativa do crescimento celular e da atividade metabólica da cianobactéria, mesmo em baixas concentrações. Os valores da concentração efetiva mediana (CE₅₀) estimados foram de $1,7 \pm 0,3$ mg/L para exposição aguda (96 h) e $0,9 \pm 0,4$ mg/L para exposição crônica (14 dias), indicando elevada toxicidade mesmo em níveis ambientalmente plausíveis. A maior toxicidade do DTG foi atribuída às suas características lipofílicas, que

aumentam a biodisponibilidade no meio aquático e favorecem sua bioacumulação. Além disso, foi demonstrado no estudo que a toxicidade aumentou significativamente quando os compostos foram combinados, com destaque para a associação de TDF + 3TC, que apresentou efeito sinérgico. Esses achados reforçam a importância de se investigar combinações de ARV, considerando que esses fármacos são frequentemente encontrados juntos em efluentes e ambientes aquáticos, e não apenas isoladamente. No referido estudo também foi ressaltada a influência dos excipientes presentes nas formulações comerciais, como o lauril sulfato de sódio, manitol e povidona, que podem modular a toxicidade do princípio ativo, seja potencializando ou reduzindo seus efeitos.

No Brasil, o uso de ARV é amplamente disponibilizado entre a população com HIV/AIDS por meio do SUS, sem custo para o usuário do medicamento (BRASIL, 2023d). Os resultados do estudo de Cid et al. (2021), no qual foram abordados a toxicidade e concentração dos ARV no ouriço do mar *Echinometra lucunter*, indicaram que todos os ARV excederam os limites da Agência Europeia de Medicamentos (EMA) (EMA, 2024), sugerindo a necessidade de avaliação dos efeitos ecológicos desses compostos. Além disso, a avaliação de risco ambiental (ERA) para atazanavir, efavirenz e NVP, mostrou que eles são potencialmente perigosos para a vida aquática na Baía de Santos, São Paulo, Brasil (Cid et al., 2021).

O RAL apresenta uma resistência considerável à degradação tanto sob exposição à luz UV quanto por meio de hidrólise em condições normais. Ele permanece estável quando exposto à luz UV (254nm), e sua degradação significativa por hidrólise ocorre apenas em condições de pH extremo, ou seja, em ambientes altamente ácidos ou alcalinos. Isso indica que, em corpos d'água naturais, onde o pH tende a ser neutro ou levemente ácido/alcalino, o RAL não se degrada facilmente, preservando sua integridade química por períodos prolongados (Bhavyasri et al., 2015).

Os ARV demonstram alta persistência no ambiente aquático, caracterizada pela significativa capacidade de bioacumulação nos organismos desse ecossistema. Esses resíduos farmacêuticos podem permanecer por longos períodos na biota aquática, acumulando-se e sedimentando-se ao longo do tempo. Tal fenômeno pode desencadear efeitos cumulativos prejudiciais aos organismos e ao ecossistema, além de afetar indiretamente toda a cadeia alimentar (Godoy; Kummrow, 2017; Nannou,

2020). A exposição prolongada dos organismos aquáticos aos ARV pode resultar em efeitos químicos e biológicos adversos, que eventualmente podem ser transferidos indiretamente para os seres humanos (Kudu et al., 2022).

Os impactos da presença dos ARV no meio aquático podem variar de acordo com a concentração do fármaco, suas características físico-químicas, tempo de exposição, bioquímica e fisiologia dos organismos e do ecossistema afetado. Para determinar e prever o impacto dessas ocorrências é essencial a realização de estudos ecotoxicológicos, por meio de modelos biológicos representativos, utilizando diferentes níveis de organização trófica, como cianobactérias, algas, microcrustáceos, e invertebrados, para ajudar na compreensão mais precisa dos riscos e potenciais impactos desses compostos químicos e adotar medidas para mitigação e prevenção de danos aos ecossistemas e a saúde humana (Kar et al., 2020).

A exposição a ARV, mesmo em concentrações ambientais (ng/L a µg/L), pode levar a impactos fatais, tendências mutagênicas e efeitos citotóxicos em organismos aquáticos (Mahaye; Musee, 2022). A descarga de ARV nos ecossistemas aquáticos pode prejudicar o desenvolvimento dos peixes, causar danos hepáticos e afetar negativamente sua saúde geral (Robson et al., 2017). Além disso, pode provocar alterações nos ovos e tecidos dos peixes, comprometendo potencialmente sua capacidade reprodutiva (Nibamureke; Wagenaar, 2021). Esses dados ressaltam a importância e necessidade contínua de avaliar os potenciais riscos ambientais associados a presença dos ARV nos corpos d'água (Mahaye; Musee, 2022).

3.3 Ecotoxicologia e ensaios ecotoxicológicos

A toxicidade configura-se como uma cascata complexa de eventos pelos quais substâncias químicas causam danos aos sistemas biológicos. Inicia-se com a exposição ao agente tóxico, seguida pela sua distribuição e metabolismo no organismo. Este processo pode resultar em interações prejudiciais com componentes celulares, levando a disfunção celular, danos a órgãos, e desfechos potencialmente fatais. Fatores como a concentração da substância, suas propriedades físico-químicas, a frequência e duração da exposição, bem como características individuais do organismo exposto, podem influenciar a gravidade da toxicidade (Hodgson, 2004; Mccarty et al., 2020). Os testes de toxicidade são utilizados para avaliar os efeitos nocivos de substâncias específicas e verificar sua conformidade com padrões estabelecidos (Costa et al., 2008).

A ecotoxicologia é uma área especializada da toxicologia ambiental, que se concentra no estudo dos efeitos adversos de substâncias químicas sobre os ecossistemas, abrangendo sua estrutura, funções e biodiversidade. Surgiu da necessidade de compreender e mitigar os impactos ambientais negativos decorrentes das atividades antrópicas, sobretudo industriais. Essa área envolve o desenvolvimento de métodos experimentais, a avaliação de riscos ecológicos e a formulação de estratégias para a gestão da contaminação ambiental, com especial ênfase nos ecossistemas aquáticos, como rios, lagos e oceanos (Yusof et al., 2021; Tarazona, 2023; Campbell et al., 2022).

Com a introdução contínua de resíduos farmacêuticos no meio aquático, torna-se cada vez mais necessário monitorar, coletar e analisar dados sobre a ecotoxicidade desses contaminantes emergentes (Le et al., 2024). Os ARV estão entre os principais fármacos presentes em ambientes aquáticos, sendo detectados em concentrações traço (ng/L a µg/L), mas com frequência e persistência elevadas. Apesar disso, os efeitos da exposição crônica a esses compostos ainda são pouco compreendidos (Adeola et al. 2021; Silva-Souza et al., 2025).

Para compreender melhor os impactos da presença de ARV nos ecossistemas aquáticos, empregam-se ensaios com modelos biológicos. Esses testes avaliam a toxicidade potencial dos resíduos farmacêuticos, por meio de respostas observáveis em diferentes organismos bioindicadores, fornecem informações sobre os riscos potenciais que os poluentes representam para os ecossistemas aquáticos, ajudam a estabelecer limites seguros para a exposição a essas substâncias, e no desenvolvimento de estratégias de gestão ambiental e políticas públicas (Melvin; Wilson, 2013; Hassan et al., 2016).

Órgãos de proteção ambiental, como *Environment Canada* e *Environmental Protection Agency* (U.S. EPA), e instituições de padronização, como *American Society for Testing and Materials* (ASTM), a *Organisation for Economic Cooperation and Development* (OECD), a *Association of Analytical Communities* (AOAC) e a *International Organization for Standardization* (ISO), têm se dedicado à criação e à aplicação de protocolos padronizados para o diagnóstico e a proteção da biodiversidade (Costa et al., 2008; Olker et al., 2022; Pompêo et al., 2022).

Ensaio ecotoxicológicos são conduzidos em condições controladas de laboratório e são essenciais para avaliação de risco ecológico de substâncias

químicas em organismos aquáticos de diferentes níveis tróficos. (Melvin; Wilson, 2013; Omotola et al., 2021; Souza-Silva et al., 2023). Considerando que cada espécie pode apresentar sensibilidades distintas aos contaminantes, para avaliar o impacto no ecossistema, a seleção dos organismos teste deve considerar características como seletividade constante aos contaminantes, disponibilidade e abundância, estabilidade genética, representatividade do nível trófico, distribuição geográfica e facilidade de cultivo e adaptação ao ambiente laboratorial (Kar et al., 2020).

Os bioensaios seguem protocolos padronizados que expõem organismos vivos a diferentes concentrações de substâncias químicas por períodos definidos. Após a exposição, os efeitos tóxicos são avaliados quanto à duração (aguda ou crônica) e à natureza da resposta, como alterações no crescimento, na reprodução, na sobrevivência ou em parâmetros genéticos e bioquímicos. Os resultados são expressos por meio de parâmetros como Concentração Efetiva Média (CE₅₀), Concentração Letal Média (CL₅₀), Concentração de Efeito Não Observado (CENO), Concentração de Efeito Observado (CEO) e Limiar de Efeito Observado Crônico (LEOC). A CE₅₀ corresponde a concentração que provoca um efeito observável em 50% dos organismos testados, enquanto a CL₅₀ refere-se à concentração letal para metade da população avaliada. A CENO representa a maior concentração na qual não se observam efeitos adversos, e a CEO é a menor concentração na qual se detecta algum efeito. O Limiar de Efeito Observado Crônico (LEOC) indica a menor concentração que provoca efeitos crônicos ao longo do tempo. Esses parâmetros são fundamentais para avaliar o risco potencial de substâncias químicas no ambiente aquático (Bertoletti, 2008; Connon et al., 2012; Vighi; Villa, 2013; Singla et al., 2021).

A classificação de toxicidade de substâncias químicas é estabelecida pelo *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals* (GHS). O GHS é um sistema internacionalmente reconhecido que fornece critérios harmonizados para a classificação de substâncias em relação aos seus perigos potenciais para a saúde humana e o meio ambiente. Substâncias com valores de toxicidade acima de 100 mg/L são consideradas não tóxicas; entre 10 e 100 mg/L, moderadamente tóxicas; entre 1 e 10 mg/L, altamente tóxicas; e abaixo de 1 mg/L, extremamente tóxicas. O GHS é revisado periodicamente por um subcomitê das Nações Unidas, que reúne especialistas e autoridades regulatórias de diferentes

países, cujas atualizações são publicadas no Manual *Purple Book* (GHS, 2023; UNECE, 2023).

A Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD) também realiza revisões periódicas das categorias de perigo do GHS, promovendo abordagens integradas para testes e avaliação de compostos químicos. Essas categorias levam em conta a toxicidade, persistência e bioacumulação, classificando os compostos como: “Muito Perigoso para o Meio Ambiente” engloba compostos altamente tóxicos (CL_{50} ou $CE_{50} \leq 1$ mg/L), que apresentam alta persistência no meio ambiente e alto potencial de bioacumulação; “Perigoso para o Meio Ambiente”, inclui compostos moderadamente tóxicos (1 mg/L $< CL_{50}$ ou $CE_{50} \leq 10$ mg/L), com persistência e bioacumulação moderadas; “Nocivos para o Meio Ambiente”, são menos tóxicos (10 mg/L $< CL_{50}$ ou $CE_{50} \leq 100$ mg/L), apresentando persistência de baixa a moderada e baixo potencial de bioacumulação; “Baixo Perigo para o Meio Ambiente” abrange compostos pouco tóxicos (CL_{50} ou $CE_{50} > 100$ mg/L), com baixa persistência e baixo potencial de bioacumulação. Essas categorias são fundamentais para determinar as medidas de controle e regulamentações necessárias para a gestão segura dos compostos químicos, minimizando seus impactos adversos no meio ambiente. Cada composto é avaliado e classificado para garantir que os riscos sejam adequadamente gerenciados e que a proteção ambiental seja mantida. Este sistema de categorização facilita a identificação de compostos que representam maiores riscos ecológicos, servem de guia para as entidades reguladoras na tomada de decisões, orientando ações preventivas e corretivas (OECD, 2024).

No Brasil, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) é responsável pelo desenvolvimento de protocolos específicos para ensaios ecotoxicológicos, juntamente com órgãos como a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), contribuem para a padronização de metodologias de diagnóstico ambiental, que podem variar conforme os estados brasileiros (Costa et al., 2008; Pompêo et al., 2022).

Apesar do crescente número de estudos envolvendo ARV, ainda há importantes lacunas sobre seus efeitos na biota aquática. É fundamental ampliar as investigações para além da mortalidade, incluindo biomarcadores histológicos, imunológicos, bioquímicos e genotóxicos, a fim de se obter uma compreensão mais

abrangente e detalhada dos riscos ambientais desses compostos (Melvin; Wilson, 2013; Souza-Silva et al., 2023; Souza-Silva et al., 2022).

3.4 Aspectos regulatórios de fármacos no meio ambiente

Os testes ecotoxicológicos são essenciais para a obtenção e renovação de licenças ambientais em diversas atividades econômicas. Na União Europeia (UE) e nos Estados Unidos (EUA), é necessário avaliar os potenciais riscos ambientais associados ao uso de novos medicamentos antes de sua aprovação. As diretivas 2000/60/CE e 2008/105/CE da UE estabelecem diretrizes para a proteção e melhoria da qualidade das águas superficiais e subterrâneas, visando a identificação e redução da poluição por substâncias perigosas, bem como a revisão periódica da lista de substâncias prioritárias. Nos EUA, a *Environmental Protection Agency* (EPA), a FDA e o *U.S. Department of Agriculture* (USDA) regulamentam a produção, distribuição, descarte e o processo de revisão ambiental para novos medicamentos. As indústrias farmacêuticas devem realizar testes ambientais com seus produtos e utilizá-los nas avaliações de risco ambiental, com o objetivo de prever possíveis danos à saúde humana e ao meio ambiente. Os dados resultantes são submetidos às autoridades regulatórias na forma de Relatórios de Avaliação de Risco Ambiental (ERA - *Environmental Risk Assessment*) (FDA, 1998; EMEA, 2024).

No Brasil, a qualidade da água de corpos hídricos deve ser periodicamente monitorada e regulada, a fim de garantir que os lançamentos de efluentes não provoquem impactos adversos ao meio ambiente ou à saúde humana, conforme estabelecido nas Resoluções nº 357 e 430 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA). A Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) e o Decreto nº 10.388/2020 representaram avanços importantes ao instituírem a logística reversa de medicamentos de uso domiciliar. No entanto, apesar da existência de limites legais para diversas substâncias em corpos d'água, a legislação brasileira ainda não contempla de forma explícita os resíduos farmacêuticos como classe de contaminantes ambientais. Diferentemente da UE e EUA, a ANVISA não exige atualmente a apresentação de uma avaliação de risco ambiental como parte do processo de registro de novos medicamentos (CONAMA, 2005, 2011; Brasil, 2020).

Além disso, o país enfrenta limitações estruturais na gestão de resíduos. A cobertura nacional de tratamento de esgoto sanitário ainda é baixa, com cerca de 55%

de atendimento, sendo as regiões Norte e Nordeste as mais afetadas, segundo dados da Secretaria Nacional de Saneamento (SNIS) (Brasil, 2021). Há também uma carência de exigências legais que obriguem a realização de estudos ecotoxicológicos por parte, sobretudo para as indústrias farmoquímicas e de medicamentos. Mesmo quando os esgotos são tratados pelos processos existentes, resíduos provenientes da degradação parcial de princípios ativos, bem como outras substâncias tóxicas presentes em efluentes, lixiviados e esgotos domésticos, podem permanecer nos corpos hídricos. Embora a CONAMA estabeleça que os efluentes de qualquer fonte poluidora não devem causar efeitos tóxicos a biota aquática, a responsabilidade de definir quais atividades devem realizar ensaios ecotoxicológicos e os critérios a serem adotados recai sobre os órgãos ambientais de cada estado brasileiro. Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná, possuem legislações específicas que regulamentam a realização desses ensaios como parte do controle de lançamentos de efluentes (CONAMA, 2005, 2011; Gazola, 2020).

Segundo Patel et al. (2019), faltam diretrizes e regulamentações específicas em todo o mundo a respeito da contaminação ambiental emergente por resíduos farmacêuticos no ecossistema aquático. A Austrália é destacada como o único país que desenvolveu diretrizes para resíduos farmacêuticos em água potável. Em outros países, a implementação de diretrizes regulamentares é bastante heterogênea. Além disso, existe uma lacuna expressiva nos dados de monitoramento de contaminantes farmacêuticos, especialmente nos países em desenvolvimento, onde estudos são limitados ou inexistentes, o que agrava a vulnerabilidade ambiental e humana diante desses poluentes emergentes.

3.5 Ensaios de toxicidade

3.5.1 Ensaios de toxicidade com *Microcystis novacekii*

As cianobactérias são microrganismos procariontes que compartilham características tanto com bactérias quanto com algas. Embora não possuam núcleo celular delimitado por membrana, apresentam parede celular semelhante à das bactérias. Assim como as algas, contêm clorofila, realizam fotossíntese e liberam oxigênio. São aeróbias fotoautotróficas utilizando água, dióxido de carbono, nutrientes inorgânicas e luz como fontes para suas atividades metabólicas. Seu sistema fotossintético se assemelha ao das algas eucariontes, utilizando pigmentos que absorvem energia solar para realizar fotossíntese (Fiorante, 2013; Ferreira, 2013).

Microcystis novacekii, pertencente à família Microcystaceae, é uma cianobactéria comumente encontrada em ecossistemas aquáticos, onde desempenha papel relevante na produção primária e na ciclagem de nutrientes. Possui tilacóides em suas membranas, onde estão localizados pigmentos fotossintéticos como a clorofila a. Por ser autotrófica, apresenta elevada capacidade de fotossíntese e assimilação de nitrogênio, necessitando de poucos nutrientes para se desenvolver. Sua presença no fitoplâncton a posiciona como um elo importante na base da cadeia alimentar aquática. Pode ser encontrada em locais extremos, como desertos e geleiras, e sua capacidade de mixotrofia permite adaptar seu metabolismo à intensidade luminosa e às fontes disponíveis de carbono (Xiao et al., 2018).

A combinação entre tolerância a poluentes, alta capacidade de bioacumulação e plasticidade metabólica torna *M. novacekii* um organismo promissor em processos de biorremediação de águas superficiais contaminadas (Campos et al., 2013). Seu uso como bioindicador é viabilizado pelo ciclo de vida curto, sensibilidade a alterações ambientais e função ecológica como produtor primário. Mudanças em sua dinâmica populacional podem desencadear efeitos significativos em níveis tróficos superiores (Costa et al., 2008).

Ensaios de toxicidade com *M. novacekii* são amplamente utilizados devido à sua rápida resposta a mudanças ambientais. Estudos demonstram suas propriedades de bioabsorção de metais pesados (Ribeiro et al., 2010; Ferreira et al., 2018), tolerância a contaminantes e potencial de biorremediação (Ferreira et al., 2018; Campos et al., 2013). A capacidade de sobreviver em ambientes poluídos,

sensibilidade a substâncias tóxicas, assimilação de compostos orgânicos, e habilidade de acumular e biodegradar diferentes poluentes tornam a *M. novacekii* dominante em relação a outras espécies fitoplanctônicas frequentemente utilizadas em testes ambientais (El-Bestawy et al., 2007; Xiao et al., 2018; Brierley, 2017).

Cianobactérias do gênero *Microcystis*, são frequentemente utilizadas como modelos em testes de toxicidade ambiental para avaliar os efeitos de substâncias químicas e efluentes sob condições controladas. Os efeitos tóxicos são geralmente medidos por meio da inibição do crescimento ou da mortalidade celular. O Protocolo 201 da OECD de 2011, por exemplo, estabelece diretrizes para testes de inibição do crescimento de algas de água doce e cianobactérias, com exposição por 72 horas em fase de crescimento exponencial. A Norma Brasileira ABNT NBR 12648 de 2018 especifica métodos para avaliação da toxicidade crônica de amostras líquidas e substâncias químicas solúveis ou dispersas em água, aplicados a microalgas e algas verdes unicelulares, determinando se o agente testado possui efeito algicida ou algistático (ABNT, 2018; OECD, 2011).

No estudo conduzido por Silva et al. (2019), *M. novacekii*, foi um dos organismos aquáticos escolhidos para avaliar os efeitos tóxicos potenciais do ARV TDF. No estudo foram avaliados a inibição do crescimento da *M. novacekii*, a bactéria *Aliivibrio fischeri* e o crustáceo *Artemia salina*, em resposta à exposição ao TDF e a sua forma ativa, tenofovir desesterificado (TFV). Após 96 horas, a concentração inibitória média (CI₅₀) para a cianobactéria foi de 161,01 mg/L para o TDF e de 89,00 mg/L para o TFV. Comparativamente, *M. novacekii* mostrou sensibilidade moderada ao TDF, enquanto *A. fischeri* foi mais sensível, com um CI₅₀ de 14,83 mg/L após apenas 15 minutos de exposição. De forma complementar, Souza-Silva et al. (2025) investigaram os efeitos de três ARV TDF, 3TC e DTG, em *M. novacekii* e observaram que o DTG apresentou a maior toxicidade entre os compostos, com inibição significativa do crescimento celular e da atividade metabólica, mesmo em baixas concentrações (CE₅₀ = 1,7 ± 0,3 mg/L em 96 h; 0,9 ± 0,4 mg/L em 14 dias).

Esses resultados reforçam a importância de serem utilizados organismos representativos de diferentes níveis de organização ecológica para avaliar a toxicidade ambiental de fármacos, pois diferentes organismos podem apresentar respostas variadas à mesma substância, dependendo de suas características individuais e complexidade biológica.

3.5.2 Ensaio de toxicidade com *Chlorella vulgaris*

Chlorella vulgaris é uma microalga verde, de forma esférica e tamanho variando entre 1 e 10 µm, pertencente à ordem Chlorococcales e à família Oocytaceae. Como integrante do fitoplâncton, exerce papel fundamental na cadeia trófica aquática, atuando como produtora primária de energia por meio da fotossíntese. Apresenta alta taxa de reprodução, completando seu ciclo de crescimento em aproximadamente 17 a 20 horas. Seu cultivo é simples e rápido, desenvolvendo-se tanto em água doce quanto salgada, e crescendo em meios autotróficos, heterotróficos e mixotróficos, o que facilita a avaliação dos efeitos de substâncias tóxicas ao longo de várias gerações (Coronado-Reyes et al., 2022).

Essa espécie é amplamente utilizada em ensaios ecotoxicológicos devido à sua sensibilidade a alterações ambientais, à sua eficácia na biorremediação de metais pesados e nutrientes, e capacidade de remover poluentes de águas residuais industriais (Expósito et al., 2021; Rajivgandhi et al., 2022; Herath; Ganehenege, 2023). Possui uma parede celular resistente, que lhe confere proteção contra fatores bióticos e abióticos. Devido à sua capacidade de coexistir em ambientes poluídos, é frequentemente utilizada em biotecnologia e em estudos ecotoxicológicos (Coronado-Reyes et al., 2022).

Os ensaios de crescimento e inibição da fotossíntese da *C. vulgaris* constituem ferramentas rápidas e de baixo custo, com culturas de fácil preparo em condições laboratoriais (Costa et al., 2008; Expósito et al., 2021; Coronado-Reyes et al., 2022). A toxicidade é comumente avaliada por meio da inibição do crescimento da biomassa algal, conforme protocolos padronizados pela OCDE (2011) e ABNT NBR 12648/2018 (OECD, 2011; ABNT, 2018). Trata-se da espécie fotossintética mais comumente utilizada em estudos de ecotoxicidade para avaliação dos efeitos agudos e crônicos em ambientes aquáticos (Costa et al., 2008; Expósito et al., 2021) e em métodos de biomonitoramento (Hassan et al., 2019; Solovchenko et al., 2022).

Diniz et al. (2022) avaliaram a toxicidade aquática do ARV NVP tanto em sua forma isolada quanto na formulação comercial. O ensaio de inibição do crescimento por 72 horas revelou que a NVP afetou significativamente a viabilidade da microalga, com valores de CE₅₀ de 24,90 mg/L para o princípio ativo isolado e 19,52 mg/L para a formulação. Os resultados indicaram que os excipientes presentes no medicamento podem potencializar a toxicidade total, além de reforçarem a importância de se

considerar tanto a substância pura quanto sua formulação no contexto ecotoxicológico. O estudo também incluiu *Artemia salina* e *Aliivibrio fischeri*, ressaltando a necessidade do uso de diferentes organismos bioindicadores para avaliação mais abrangente dos riscos ambientais associados aos ARV.

3.5.3 Ensaios de toxicidade com *Artemia salina*

Artemia salina é um microcrustáceo zooplânctônico pertencente à ordem Anostraca, conhecido popularmente como camarão de salmoura. Apresenta ampla distribuição geográfica e habita ambientes aquáticos com elevada variação de salinidade, como regiões litorâneas e lagos hipersalinos, tolerando faixas de salinidade de 5 g/L a 250 g/L e temperaturas entre 6 °C e 35 °C (Azra et al., 2022; Jeyavani et al., 2022; Ntungwe et al., 2020; ABNT, 2021; Gajardo; Beardmore, 2012). Essa resistência natural explica, em parte, sua menor sensibilidade a determinados contaminantes em comparação a outros organismos aquáticos, tornando-a um modelo útil para triagens iniciais de toxicidade, especialmente quando se deseja identificar compostos com efeitos mais expressivos (Kalčíková et al., 2012; Minguez et al., 2016). Alimenta-se por filtração não seletiva de partículas menores que 50 µm, incluindo algas unicelulares, bactérias, protozoários e matéria orgânica dissolvida, atuando como consumidor primário e elo trófico entre comunidades planctônicas e organismos de níveis superiores na cadeia alimentar (Ates et al., 2015; Lo Nostro et al., 2015)

Essa espécie apresenta reprodução partenogenética predominante e grande capacidade adaptativa, sendo amplamente utilizada em estudos ecotoxicológicos devido à sua disponibilidade comercial em forma de cistos dormentes (Ntungwe et al., 2020). Esses cistos, quando submetidos às condições ideais, eclodem em náuplios viáveis para testes em menos de 24 horas, proporcionando homogeneidade amostral e reduzindo custos operacionais. Além disso, *A. salina* não exige alimentação durante os ensaios, é facilmente manipulável em laboratório, adapta-se a diferentes sistemas de exposição e pode ser utilizada em recipientes de pequeno volume (Nunes et al., 2006; ABNT, 2021).

A toxicidade é avaliada com base na imobilização ou mortalidade dos náuplios após 48 horas de exposição a diferentes concentrações da substância-teste. A observação é feita por um período de 10 segundos (ABNT, 2021). O método é amplamente empregado na avaliação da toxicidade aguda de contaminantes diversos, incluindo fármacos, efluentes industriais, substâncias inorgânicas, extratos naturais e

agrotóxicos (Ferreira; Dias Júnior, 2023; Minguez et al., 2016; Kalčíková et al., 2012; ABNT, 2021). O uso de *A. salina* é recomendado para testes com efluentes finais, que frequentemente atingem ambientes marinhos ou hipersalinos (Minguez et al., 2016). Essa espécie desempenha um papel fundamental na aquicultura como alimento vivo para larvas de peixes e outros organismos marinhos (Azra et al., 2022; Minguez et al., 2016).

Estudos recentes têm demonstrado a aplicabilidade de *A. salina* na avaliação ecotoxicológica de ARV. Diniz et al. (2022) avaliaram a toxicidade da NVP, um inibidor da transcriptase reversa, na forma isolada e em formulação comercial. Os resultados mostraram que a NVP isolada afetou significativamente a viabilidade da espécie, com valor de CE_{50} de 27,77 mg/L após 72 horas, enquanto o medicamento não provocou 50% de mortalidade na maior concentração testada (>40,83 mg/L), sugerindo influência dos excipientes na modulação da toxicidade. No estudo ainda observada uma estreita faixa de concentração entre os primeiros efeitos observáveis e os efeitos tóxicos, destacando a importância de controle ambiental para esse composto. Em outro estudo, Silva et al. (2019) analisaram a toxicidade do TDF em *A. salina* e determinaram uma CE_{50} de 111,82 mg/L após 24 horas de exposição, indicando baixa toxicidade aguda para essa espécie. Os autores ressaltaram, no entanto, que a exposição contínua a baixos níveis desse fármaco pode acarretar efeitos ecológicos cumulativos, reforçando a necessidade de investigações complementares.

De forma semelhante, De Souza et al (2025), avaliaram a toxicidade aguda do entecavir (ETV) em *A. salina*. Embora tenha sido observada inibição parcial da mobilidade em 48 horas, nenhuma concentração testada (25 a 250 mg/L) causou imobilização completa dos náuplios, impossibilitando a determinação precisa da CE_{50} . O ETV apresentou baixa toxicidade, semelhante à relatada para outros antivirais como TDF e abacavir, cujos valores de CE_{50} também ultrapassam 100 mg/L. Apesar do impacto agudo reduzido, os autores destacam a importância de investigações futuras sobre os efeitos crônicos e subletais desses compostos em organismos não-alvo, dado seu potencial acúmulo em ambientes aquáticos.

A presença de ARV no ambiente aquático representa uma preocupação emergente em saúde ambiental, devido ao seu potencial de causar efeitos adversos na biota e riscos indiretos à saúde humana. O RAL, inibidor da integrase amplamente utilizado em esquemas de tratamento ARV, destaca-se pela sua estabilidade química,

baixa taxa de remoção em estações de tratamento de esgoto e eliminação parcial de forma inalterada, o que favorece sua persistência e bioacumulação nos ecossistemas aquáticos.

Estudos recentes indicam que o RAL pode induzir resistência cruzada a outros antirretrovirais, como o DTG, além de estar associado à resistência a antibióticos, ampliando o risco de disseminação de microrganismos multirresistentes, tema que constitui uma das maiores preocupações globais em saúde pública. A avaliação simultânea de RAL e DTG em ambientes aquáticos torna plausível a exposição combinada a esses compostos, cuja toxicidade ambiental ainda é pouco compreendida.

No Brasil, esse cenário é agravado pela ausência de diretrizes regulatórias específicas para resíduos farmacêuticos e pela limitada cobertura de saneamento básico, que favorece o lançamento contínuo de efluentes não tratados em corpos hídricos. Diante disso, estudos ecotoxicológicos envolvendo o RAL, isoladamente e em associação, tornam-se fundamentais para preencher lacunas de conhecimento, apoiar a gestão ambiental e contribuir com a formulação de políticas públicas e estratégias de mitigação de riscos ambientais.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos ecotoxicológicos do medicamento contendo raltegravir (RAL) e da associação dos medicamentos contendo raltegravir e dolutegravir (RAL + DTG) para os organismos aquáticos: cianobactéria *Microcystis novacekii*, microalga *Chlorella vulgaris* e o microcrustáceo *Artemia salina*.

4.2 Objetivos específicos

1. Determinar os valores de CE_{50} do medicamento contendo RAL para a cianobactéria *M. novacekii*. e microalga *C. vulgaris*.
2. Determinar os valores de CE_{50} do medicamento contendo RAL para o microcrustáceo *A. salina*
3. Determinar os valores de CE_{50} da associação dos medicamentos contendo RAL e DTG para a cianobactéria *M. novacekii* e microalga *C. vulgaris*.

**CAPÍTULO 2 - ECOTOXICIDADE DO ANTIRRETROVIRAL RALTEGRAVIR
SOBRE *MICROCYSTIS NOVACEKII*, *CHLORELLA VULGARIS*, E *ARTEMIA
SALINA***

Laíse Taciane Rodrigues Jardim¹, Gabriel Souza-Silva¹, Matheus Miranda¹, Cléssius Ribeiro de Souza¹, Kenia Pedrosa Nunes², Marcos Paulo Gomes Mol³, Cíntia Aparecida de Jesus Pereira⁴, Micheline Rosa Silveira¹.

1 Departamento de Farmácia Social, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte 31270-901, MG, Brasil

2 Departamento de Engenharia Biomédica e Ciência, Instituto de Tecnologia da Flórida, Melbourne, FL 32901, EUA

3 Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento, Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte 30510-010, MG, Brasil

4 Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte 31270-901, MG, Brasil

RESUMO

O raltegravir (RAL), antirretroviral (ARV) utilizado no tratamento do HIV, foi detectado em ambientes aquáticos, embora seus efeitos ecotoxicológicos ainda sejam pouco compreendidos. O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade da formulação RAL-K (MCR), isoladamente e em combinação com um medicamento contendo dolutegravir (MCD), sobre os organismos aquáticos *Microcystis novacekii*, *Chlorella vulgaris* e *Artemia salina*, bem como estimar o risco ambiental associado. Os ensaios seguiram as normas ABNT NBR 12648 (2018) e NBR 16530 (2021), com exposições variando de 6 e 102 mg/L. Como resultado, a espécie *M. novacekii* apresentou a maior sensibilidade entre os organismos testados, com CE_{50} de $44,56 \pm 1,77$ mg/L, sendo classificada como "ligeiramente tóxica" (categoria 3 – GHS). A combinação MCR + MCD intensificou os efeitos, reduzindo a CE_{50} para $20,96 \pm 0,95$ mg/L. Em contraste, a microalga *C. vulgaris* apresentou crescimento celular estimulado, enquanto *A. salina* não apresentou efeitos agudos significativos ($CE_{50} > 100$ mg/L). A avaliação de risco ecológico indicou alto risco em todos os cenários simulados: Brasil (RQ = 11,0), Portugal (RQ = 6,06) e África do Sul (RQ = 381,51). Os resultados sugerem que, embora o RAL seja classificado como levemente tóxico para os organismos testados, sua concentração ambiental pode afetar negativamente os organismos aquáticos. Adicionalmente, sua presença combinada com outros ARV pode exacerbar esses impactos, destacando a necessidade de monitoramento ambiental e de melhorias nos sistemas de tratamento de efluentes.

Palavras-chave: Saúde ambiental, Contaminação farmacêutica, Efeito sinérgico, Risco ambiental, Organismos aquáticos.

INTRODUÇÃO

De acordo com o relatório do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/Aids (UNAIDS), em 2023, aproximadamente 39,9 milhões de pessoas viviam com HIV (PVHIV) em todo o mundo, com 30,7 milhões em terapia antirretroviral (TARV), representando 77% dos casos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) visa atingir 95% de cobertura até 2025 (UNAIDS, 2024). Os antirretrovirais (ARV), amplamente utilizados no tratamento da infecção pelo HIV, são essenciais para reduzir a mortalidade e melhorar a qualidade de vida das PVHIV (WHO, 2021; Gandhi et al., 2023). Entretanto, seu uso intensivo e contínuo tem levado a crescente detecção desses fármacos em ambientes aquáticos, onde, devido à sua alta estabilidade e bioatividade, podem causar efeitos ecotoxicológicos significativos e potenciais riscos à saúde humana (Wood et al., 2015; Omotola et al., 2021; Souza et al., 2022; Wallace et al., 2023; Munzhelele et al., 2024).

Entre os ARV utilizados no tratamento do HIV, destaca-se o raltegravir (RAL), o primeiro inibidor da integrase aprovado para uso clínico. Embora não seja a primeira escolha para TARV, é utilizado em determinados contextos clínicos, incluindo o tratamento de adultos, crianças e gestantes vivendo com HIV (FDA, 2011b; Brasil, 2017, 2023). O RAL faz parte dos regimes recomendados pela *European AIDS Clinical Society* (EACS) e está incluído na Lista de Medicamentos Essenciais da OMS, destacando sua importância no manejo da infecção (WHO, 2017; EACS, 2025). Em adultos, o medicamento contendo RAL (MCR) é administrado em duas doses de 400 mg e, após metabolização hepática, uma porção significativa do fármaco RAL é excretada inalterada nas fezes (51%) e na urina (9%) (Nakamura et al., 2023; MSD, 2023).

Diferentes ARV foram detectados em corpos d'água ao redor do mundo, com concentrações variando entre ng/L a µg/L, em águas superficiais, subterrâneas, efluentes e estações de tratamento de água na África, América e Europa (Mlunguza et al., 2020; Cid et al., 2021; Adeola; Forbes, 2021). Embora a toxicidade aquática de ARV, como dolutegravir (DTG) (Souza-Silva et al., 2025), tenofovir disoproxil fumarato (TDF) (Silva et al., 2019; Souza-Silva et al., 2023), nevirapina (NVP) (Diniz et al., 2022; Cid et al., 2021; Nibamurek et al., 2019), abacavir (ABC) (Minguez et al., 2016), efavirenz (EFZ) e lamivudina (3TC) (Almeida et al., 2021; De Souza et al., 2025), tenha sido investigada, estudos sobre os efeitos ecotoxicológicos do RAL ainda são escassos. Dados preditivos indicam sua presença em diferentes corpos d'água,

com concentrações variando dependendo da região e do tipo de matriz aquática (Almeida et al., 2023; Marzabal et al., 2022; Abafe et al., 2018), ressaltando a necessidade de maiores investigações sobre os impactos ambientais deste fármaco.

Com base na quantidade de MCR distribuída pelo Sistema Único de Saúde (SUS) entre 2022 e 2024, estima-se que aproximadamente 79.215,38 kg do medicamento foram disponibilizados para consumo no Brasil (Brasil, 2025). Considerando parâmetros farmacocinéticos (MSD, 2023), e adotando um cenário teórico de consumo máximo, cerca de 35.425,43 kg de RAL podem ter sido excretados inalterados no meio ambiente durante esse período, sugerindo uma carga ambiental significativa e potenciais impactos ecotoxicológicos.

O fármaco RAL é estável em condições de pH neutro (pH 7,0) e temperatura ambiente (25°C) (Nakamura et al., 2023). Permanece estável quando exposto à luz ultravioleta (UV) (254nm), e sua degradação significativa por hidrólise ocorre apenas em condições extremas de pH (pH<1 ou pH>13) (Bhavyasri et al., 2015), sugerindo que, em corpos d'água naturais pode não se degradar facilmente, mantendo sua integridade química e estabilidade.

Além do RAL, o dolutegravir (DTG), outro inibidor de integrase, é amplamente utilizado na terapia de primeira linha do HIV no Brasil e sua crescente incorporação nos regimes de tratamento (Chagas dos Santos et al., 2025) pode elevar sua presença ambiental, especialmente em áreas urbanas (Souza-Silva et al., 2025). Em casos de resistência ao DTG, esse medicamento pode ser substituído pelo RAL no regime de TARV (Brasil, 2022), destacando a importância de compreender o impacto ambiental desses compostos, tanto individualmente quanto em combinação.

Resíduos farmacêuticos, embora detectados no ambiente em baixas concentrações (ng/L a µg/L) (Taheran et al., 2018; Morin-Crini et al., 2022) e considerados sem risco direto à saúde humana (WHO, 2022), são continuamente liberados nos corpos d'água, e os efeitos da exposição prolongada permanecem mal compreendidos (Adeola et al., 2021). Wallace et al. (2023) demonstraram, em um ensaio laboratorial com concentrações de RAL variando de 10 a 100 mg/L, que este fármaco pode induzir resistência cruzada a antibióticos amplamente utilizados, como claritromicina e eritromicina, em *Escherichia coli*, sugerindo que ARV em ambientes aquáticos podem contribuir para o desenvolvimento de microrganismos multirresistentes.

O surgimento de cepas resistentes é particularmente preocupante, visto que *E. coli* é um agente significativo de infecções humanas (Khan; Gupta, 2020), e a cobertura insuficiente de saneamento básico, que afeta aproximadamente 46 % da população mundial e 24 % da população brasileira, pode facilitar a disseminação dessas bactérias resistentes (UN, 2023; IBGE, 2022).

Embora os ARV tenham potencial de causar alterações biológicas nos organismos, impactos cumulativos nos ecossistemas e riscos à cadeia alimentar (De Oliveira et al., 2023; Godoy; Kummrow, 2017), a falta de diretrizes específicas e a ineficiência dos tratamentos de águas residuais, destacam a necessidade de mais estudos e ações para mitigar os efeitos desses contaminantes emergentes (Montagner; Vidal; Acayaba, 2017); Taheran et al., 2018; Patel et al., 2019; Morin-Crini et al., 2022).

Estudos sobre a cianobactéria *Microcystis novacekii* (Silva et al., 2019) e a microalga *Chlorella vulgaris* (Diniz et al., 2022) indicam que ambas são bioindicadores eficazes de toxicidade devido à tolerância a contaminantes e capacidade de biorremediação, apresentando respostas rápidas a alterações físico-químicas e servindo como organismos produtores representativos (Campos et al., 2013; Coronado-Reyes et al., 2022; OECD, 2011; ABNT, 2023; Xiao et al., 2018). Adicionalmente, *Artemia salina*, um consumidor primário, é um dos microcrustáceos mais amplamente utilizados em avaliações de ecotoxicidade de substâncias. Sua ampla distribuição, capacidade de filtração e capacidade de adaptação a habitats extremos a tornam um biomarcador eficaz da qualidade ambiental (Souza et al., 2024).

Diante deste contexto, este estudo tem como objetivo avaliar a toxicidade do RAL sobre os organismos aquáticos *M. novacekii*, *C. vulgaris* e *A. salina*, a fim de contribuir para a compreensão dos impactos ecológicos e ambientais desse fármaco.

MATERIAIS E MÉTODOS

Medicamentos

Para avaliar os efeitos do raltegravir potássico (RAL-K), CAS nº 871038-72-1, foi utilizado neste estudo, o medicamento contendo RAL-K (MCR) Isentress®, fabricado pela Merck Sharp & Dohme. O MCR está na forma de comprimidos revestidos de cor rosa, formato ovalado, com solubilidade em água variável

aproximadamente 71 mg/mL, sem tamponamento, e pH final de 7,9. O pKa do RAL-K é 6,3, e sua solubilidade aumenta em meios levemente alcalinos. A formulação do Isentress® contém excipientes como celulose microcristalina, lactose monoidratada, fosfato de cálcio dibásico, hipromelose, poloxâmero, estearil fumarato de sódio, estearato de magnésio, álcool polivinílico, dióxido de titânio, macrogol, talco, óxidos de ferro vermelho e preto (FDA, 2011).

O medicamento contendo dolutegravir sódico (MCD), CAS nº 1051375-19-9, utilizado neste estudo, foi fabricado pela Blanver Farmoquímica e Farmacêutica S.A., com solubilidade em água de aproximadamente 269 mg/L. Cada comprimido revestido contém 50 mg de DTG, combinado com excipientes como celulose microcristalina, manitol 25C, povidona K30, glicolato de amido sódico e estearil fumarato de sódio. O revestimento inclui Opadry® II Amarelo, composto por álcool polivinílico parcialmente hidrolisado, dióxido de titânio, macrogol (PEG), talco e óxido de ferro amarelo.

Assim uma combinação de MCR + MCD foi preparada para avaliar potenciais efeitos sinérgicos ou antagônicos sobre *M. novacekii* e *C. vulgaris*, considerando os parâmetros físico-químicos e biológicos desses fármacos. Para o preparo das soluções, a concentração do ingrediente ativo foi considerada conforme declarada pelo fabricante, pressupondo-se o atendimento aos padrões de controle de qualidade exigidos para produtos farmacêuticos comercializados.

Cultura do organismo teste

As culturas de *M. novacekii* e *C. vulgaris* utilizadas neste estudo foram isoladas de amostras de água coletadas no Lago Dom Helvécio (Parque Estadual do Rio Doce - 42°35'595"; 19°46'419") e no Córrego da Mina, localizado na bacia do Rio São Francisco (19°58'748"; 43°49'259"), ambos em Minas Gerais, Sudeste do Brasil. As culturas foram mantidas em câmaras de germinação a $23 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo claro/escuro de 12/12 horas e intensidade luminosa de $45 \pm 5 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$. Os meios de cultura utilizados foram ASM-1 ($\text{pH} = 8,0 \pm 0,2$) para a cianobactéria e BG-11 ($\text{pH} = 7,5 \pm 0,2$), com nitrogênio (c/N), para a microalga. As culturas são mantidas no Laboratório de Água (LabÁgua) da Faculdade de Farmácia (FAFAR) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Os cistos de *Artemia salina* foram incubados em solução salina a 3,5% sob aeração constante, a temperatura controlada de 25°C e exposição à luz. Após 48

horas, os cistos eclodiram, produzindo náuplios (estágio inicial dos crustáceos). Os náuplios foram coletados e mantidos em condições estáveis até o início dos experimentos. Os processos de eclosão dos cistos e manutenção dos náuplios seguiram as diretrizes estabelecidas pela NBR 16530 de 2021 (ABNT, 2021). Os experimentos com *A. salina* foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia, no Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento da Fundação Ezequiel Dias.

Preparo da solução teste

A partir do MCR soluções estoque foram preparadas em ASM-1 para os ensaios com *M. novacekii* e em BG-11 (c/N) para os ensaios com *C. vulgaris*. Para isso, os medicamentos foram pulverizados manualmente com um pistilo e graal de porcelana. O material foi então transferido para béqueres de vidro e homogeneizado com agitador magnético por 10 minutos em temperatura ambiente (25 °C). Após agitação, o material foi filtrado em papel de filtro qualitativo, e o volume foi ajustado para obter uma concentração final de 120 mg/L. A partir dessa solução estoque, foram preparadas soluções teste em concentrações que variaram de 12 a 102 mg/L,

Para a solução estoque no teste de *A. salina*, o MCR foi pulverizado manualmente com um pistilo e graal de porcelana. O material foi então transferido para um béquer de vidro e suspenso em solução salina a 3,5%, utilizando um agitador magnético por 10 minutos à temperatura ambiente (25 °C). Após agitação, o material foi filtrado em papel de filtro qualitativo, e o volume foi ajustado para obter uma concentração final de 100 mg/L. A partir da solução estoque, foram preparadas soluções teste em concentrações que variaram de 6 a 100 mg/L.

Para preparo da solução teste com a combinação de MCR + MCD, seguiu-se o mesmo procedimento descrito para *M. novacekii* e *C. vulgaris*. O volume foi ajustado para a concentração final de 120 mg/L (para ambos os fármacos), a partir da qual foram preparadas soluções teste em concentrações que variam de 10 e 102 mg/L.

Essas concentrações teste foram baseadas na concentração do ingrediente farmacêutico ativo (IFA) em cada medicamento (RAL-K para MCR e DTG para o MCD) e foram selecionadas de acordo com a classificação de compostos químicos estabelecida pelo GHS (GHS, 2003). Adicionalmente, durante o preparo, não foi necessário ajuste de pH para as soluções teste, pois os valores de pH permaneceram compatíveis com o meio de cultura ($\pm 0,2$), exceto para a combinação de RAL e DTG,

onde hidróxido de sódio (NaOH) 0,1M foi utilizado para ajustar o pH das soluções teste.

Teste de inibição do crescimento celular

Os ensaios de inibição celular aguda (96 horas) e crônica (14 dias) do crescimento, com *M. novacekii* e *C. vulgaris*, foram conduzidos com base na norma ABNT NBR 12648 de 2018, com adaptações metodológicas. Para cada ensaio, suspensões contendo aproximadamente 10^6 células por mililitro do organismo teste foram transferidas para frascos Erlenmeyer de vidro de 250 mL e expostas, em triplicata, às concentrações de interesse de MCR, ou à combinação MCR + MCD, previamente preparadas.

Os meios de cultura ASM-1 e BG-11 (c/N) foram utilizados como controles negativos para os ensaios com *M. novacekii* e *C. vulgaris*, respectivamente. As taxas médias de crescimento e as curvas de inibição do crescimento em função das concentrações das substâncias teste foram determinadas a partir da absorbância das amostras medidas após 4 e 14 dias de exposição. As equações 1 e 2 foram utilizadas para converter as absorbâncias das amostras (X), em 680 nm para *M. novacekii* e 695 nm para *C. vulgaris*, para células por mililitro (y), respectivamente.

$$y = 10^7 \times X - 13,574 \text{ (R}^2 = 0.9944\text{) (Equação 1)}$$

$$y = 10^5 \times X - 7,723 \text{ (R}^2 = 0.9899\text{) (Equação 2)}$$

Teste de toxicidade aguda

O ensaio de toxicidade aguda com *A. salina* foi conduzido conforme a norma ABNT NBR 16530 de 2021 (ABNT, 2021). Náuplios com 48 horas de vida foram distribuídos em tubos de ensaio contendo diferentes concentrações de MCR solubilizado em solução salina 3,5%. As concentrações utilizadas variaram de 6,25 a 100 mg/L (diluição seriada 2x), sendo tubos de ensaio contendo apenas a solução salina utilizados como controle negativo. Cada tubo de ensaio recebeu 10 indivíduos, garantindo o controle adequado da exposição. Após 48 horas de incubação, a mobilidade dos náuplios foi avaliada contabilizando-se os organismos móveis e imóveis em cada concentração testada. O ensaio foi realizado em quadruplicata (n=40), assegurando rigor estatístico na análise dos dados.

Avaliação de risco ambiental

A avaliação de risco ambiental do RAL foi conduzida utilizando o Quociente de Risco (RQ), calculado como a razão entre a concentração ambiental medida (*Measured Environmental Concentration* - MEC) e a Concentração Prevista Sem Efeito (*Predicted No Effect Concentration* - PNEC) para os organismos aquáticos testados (Equação 3):

$$RQ = \frac{MEC}{PNEC} \text{ (Equação 3)}$$

Os valores de PNEC foram estimados a partir dos dados de CE₅₀ obtidos nos experimentos conduzidos neste estudo e em estudos disponíveis na literatura, aplicando-se um fator de divisão de 1.000 (PNEC = CE₅₀ / 1.000) (Cid et al., 2021; Ramos et al., 2025; Souza-Silva et al., 2025). A classificação do risco ecológico foi definida da seguinte forma:

RQ < 0,01 risco insignificante
 0,01 ≤ RQ < 0,1 baixo risco
 0,1 ≤ RQ < 1 risco médio
 RQ ≥ 1 alto risco.

Os valores de MEC foram obtidos a partir de registros disponíveis na literatura, por meio de modelagem preditiva (QSAR) e análises químicas em diferentes matrizes aquáticas (Almeida et al., 2023; Marzabal et al., 2022; Abafe et al., 2018).

Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados utilizando o software R (v4.4.1). O teste Shapiro-Wilk foi aplicado para verificar a normalidade, e o teste de Wilcoxon para dados não paramétricos. Os modelos de regressão log-logístico, log-normal e Weibull foram ajustados utilizando o pacote “drc” (Ritz et al., 2015), considerando p < 0,05 como significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Toxicidade do medicamento RAL-K (MCR):

Este é o primeiro estudo a avaliar experimentalmente os efeitos ecotoxicológicos do MCR em organismos aquáticos. A falta de pesquisas utilizando bioensaios dificulta uma avaliação precisa dos riscos ambientais associados a este

fármaco. Embora estudos baseados em modelagem ecológica e métodos preditivos tenham sido conduzidos (Ramos et al., 2025; Choudhury, Ojha, Ray, 2024), investigações adicionais com organismos de diferentes níveis de organização ecológica são necessárias para uma compreensão mais abrangente de seus impactos na biota aquática.

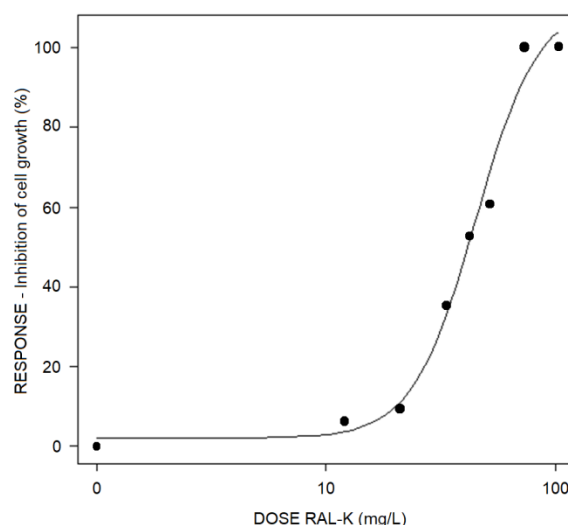
Os resultados do nosso estudo demonstraram respostas distintas entre os modelos biológicos avaliados. A cianobactéria *M. novacekii* apresentou maior sensibilidade ao MCR em comparação a microalga *C. vulgaris*. Os testes de inibição de crescimento indicaram que o MCR causou toxicidade inicial para *M. novacekii*, resultando em uma redução significativa ($p < 0,05$) na taxa de crescimento celular durante os primeiros quatro dias de exposição, com valores estimados de CE_{10} de $22,33 \pm 1,65$ mg/L, CE_{50} de $44,56 \pm 1,77$ mg/L e CE_{90} de $88,90 \pm 9,43$ mg/L. Esses resultados indicam uma resposta dose-dependente, com aumento da inibição do crescimento celular à medida que a concentração do fármaco aumenta.

No entanto, ao longo do experimento (14 dias de exposição), observou-se recuperação parcial do crescimento da cianobactéria. Em contraste, nenhuma toxicidade detectável foi observada em *C. vulgaris* durante os testes, com crescimento mantido em todas as concentrações testadas (<100 mg/L), indicando maior tolerância ao fármaco. Da mesma forma, *A. salina* também apresentou baixa sensibilidade ao MCR, sem imobilização completa observada nas maiores concentrações de exposição testadas (<100 mg/L).

A Figura 2 mostra a curva dose-resposta (inibição de crescimento ao longo do tempo) para *M. novacekii*, que apresentou redução significativa na densidade celular durante os primeiros dias de exposição, seguida por uma fase de adaptação e recuperação parcial nos dias subsequentes, possivelmente associada à ativação de mecanismos metabólicos de defesa contra estresse químico.

Figura 2 - Curva dose-resposta da inibição do crescimento em *M. novacekii* após 4 dias de exposição aguda ao medicamento contendo RAL-K (MCR), em concentrações

variando de 12 a 102 mg/L. O grupo controle negativo consistiu em meio de cultura ASM-1 sem MCR (0,0 mg/L)



Por outro lado, *C. vulgaris* manteve crescimento exponencial em todas as concentrações testadas, indicando que o fármaco não afetou sua taxa de divisão celular. A divergência nos efeitos observados pode estar associada a diferenças estruturais entre as espécies, como variações na composição da parede celular e mecanismos específicos de detoxificação. Uma resposta detalhada à exposição ao MCR nos organismos testes é descrita nas seções a seguir.

Toxicidade em *M. novacekii*:

Nos ensaios de inibição de crescimento, *M. novacekii* apresentou respostas tóxicas agudas ao MCR de forma dose-dependente. A taxa de inibição celular (I%) aumentou progressivamente com concentrações mais elevadas de RAL-K, indicando impacto significativo na viabilidade da cianobactéria, como mostrado na Figura 2. A exposição aguda (4 dias) resultou em valor estimado de CE_{50} de $44,56 \pm 1,77$ mg/L (modelo Weibull), classificando o RAL-K como Categoria de Perigo Agudo 3, de acordo com os critérios estabelecidos pelo *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals – GHS* (GHS, 2023).

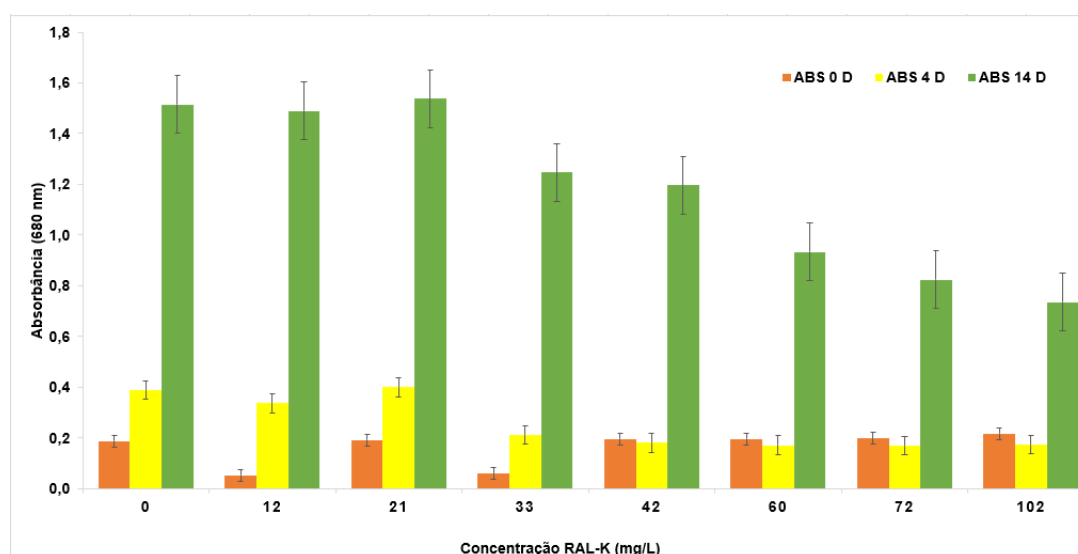
Essa categoria corresponde a substâncias consideradas levemente tóxicas para organismos aquáticos em exposições de curta duração ($10 < CE_{50} \leq 100$ mg/L). Adicionalmente, os valores de CE_{10} e a CE_{90} foram determinadas como $22,33 \pm 1,65$ mg/L e $88,90 \pm 9,43$ mg/L, respectivamente, reforçando ainda mais a relação dose-

resposta. A análise estatística pelo teste de Wilcoxon revelou diferenças significativas entre os grupos ($p < 0,05$), corroborando a confiabilidade dos dados obtidos.

Nas concentrações de 72 mg/L e 102 mg/L, observou-se 100% de inibição do crescimento, sugerindo que concentrações mais altas poderiam ter um efeito algicida nos organismos e suprimir a atividade metabólica. Conforme demonstrado por Xian et al. (2025), cianobactérias podem entrar em estado de latência sob estresse químico, mantendo a viabilidade celular sem divisão ativa. Essa hipótese é corroborada pela recuperação parcial do crescimento na exposição crônica (14 dias).

A dinâmica do crescimento celular de *M. novacekii* foi monitorada ao longo de 14 dias de exposição ao MCR, permitindo a avaliação de potenciais mecanismos de recuperação. A Figura 3 ilustra a evolução do crescimento celular em diferentes concentrações ao longo dos tempos de exposição (0 h, 4 e 14 dias).

Figura 3 - Crescimento celular de *M. novacekii* em diferentes concentrações do medicamento contendo RAL-K (MCR), variando de 12 a 102 mg/L, durante exposições agudas (4 dias) e crônicas (14 dias). O grupo controle negativo consistiu em meio de cultura ASM-1 sem MC (0,0 mg/L).



É importante ressaltar que a toxicidade observada na fase aguda pode estar relacionada não apenas ao RAL-K em sua forma original, mas também à formação de metabólitos secundários com potencial tóxico aumentado, conforme observado por Wroński et al. (2024) em seu estudo, no qual produtos de transformação do RAL, foram mais tóxicos que o RAL para todos os organismos avaliados.

Conforme ilustrado na Figura 3, o tempo de exposição influenciou diretamente a resposta observada em *M. novacekii*, evidenciada pela atividade negativa no crescimento celular durante a exposição aguda (4 dias), e uma recuperação parcial

da toxicidade durante a exposição crônica (14 dias), sugerindo um possível mecanismo adaptativo ao estresse químico causado pelo MCR. Essa redução na toxicidade pode estar relacionada à capacidade da cianobactéria de ativar vias de detoxificação (Wang et al., 2018; Gomes et al., 2022) e a degradação do fármaco no meio, reduzindo sua biodisponibilidade e mitigando os impactos no crescimento celular ao longo do tempo.

Embora este estudo não tenha isolado os excipientes, trabalhos recentes com ARV demonstram que eles podem modular significativamente a toxicidade em organismos aquáticos. Souza-Silva et al. (2025) observaram que excipientes como manitol e povidona podem reduzir a toxicidade do DTG, via formação de complexos, enquanto surfactantes podem aumentar a biodisponibilidade de 3TC. Considerando que o MCR, avaliado neste estudo, contém surfactantes (poloxâmer) e agentes potencialmente complexantes (lactose, hipromelose), é plausível que interações similares tenham ocorrido, enfatizando a necessidade de avaliar formulações completas em estudos ecotoxicológicos (Souza-Silva et al., 2025; Turek et al., 2023; Silva et al., 2014; Jacob et al., 2016).

Como inibidor da integrase viral em humanos, o RAL-K não tem um alvo molecular direto em cianobactérias, mas pode ter induzido estresse oxidativo, levando a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), danificando membranas celulares e pigmentos fotossintéticos como a clorofila-a (evidenciado pela redução de absorbância a 680 nm), além de danos potenciais causados por desequilíbrio osmótico. Para esclarecer os mecanismos específicos de toxicidade do MCR em *M. novacekii*, testes futuros com biomarcadores como catalase e/ou peroxidase são sugeridos.

Os resultados obtidos neste estudo apresentam semelhanças com os dados relatados por Silva et al. (2019) para o ARV TDF, um inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleotídeo (NRTI), que apresentou CE_{50} de 161,01 mg/L para *M. novacekii*, classificando-o como praticamente não tóxico para o ambiente aquático. De maneira semelhante, De Souza et al. (2025) constataram que o entecavir, um antiviral descrito para o tratamento da hepatite B, não apresentou toxicidade para *M. novacekii* ($CE_{50} > 100$ mg/L). No entanto, diferente desses compostos, o MCR demonstrou maior toxicidade aguda, com CE_{50} de 44,56 mg/L, indicando um impacto ambiental potencialmente mais relevante. Essa diferença pode estar relacionada não apenas à estrutura química do RAL-K (características lipofílicas e grupos funcionais)

que podem interagir com componentes da membrana celular, mas também à sua formulação farmacêutica (excipientes + princípio ativo).

Ao utilizar a formulação farmacêutica (Isentress®), e não apenas o ingrediente farmacêutico ativo (IFA) isolado, é possível observar os efeitos ambientais causados pela presença combinada de IFA + excipientes, uma vez que estes também são liberados no ambiente e podem atuar de forma sinérgica ou aditiva. Alguns excipientes podem modular a toxicidade aumentando a permeabilidade celular (Turek et al., 2023) e induzindo estresse oxidativo (Shukla; Trivedi, 2018; Wang et al., 2018) em organismos aquáticos. Esses mecanismos, embora documentados em outros modelos biológicos, sugerem vias para os efeitos agudos observados em *M. novacekii*.

Souza-Silva et al. (2025) destacaram esse aspecto ao comparar o IFA e o MCD, outro inibidor de integrase como o RAL, em diferentes formas. Enquanto o fármaco formulado apresentou CE_{50} entre 19,5 e 27,6 mg/L (classificado como de baixa toxicidade), o IFA isolado foi consideravelmente mais tóxico ($CE_{50} < 2$ mg/L). Esse contraste reforça a importância de avaliar não apenas o IFA, mas o fármaco como um todo, incluindo excipientes e sua forma de apresentação comercial. A combinação de DTG, TDF e 3TC demonstrou alta toxicidade aguda, com CE_{50} de $5,6 \pm 0,6$ mg/L após quatro dias de exposição, classificando-a como tóxica. Esse aumento da toxicidade pode ser atribuído a possíveis efeitos sinérgicos entre os IFA e os excipientes, amplificando os impactos negativos sobre *M. novacekii*, como também observado com o MCR neste estudo.

No presente estudo, utilizou-se o medicamento de referência Isentress® 400 mg, cuja formulação pode conter excipientes com potenciais efeitos moduladores da toxicidade e que, como parte do produto final, também são liberados no meio ambiente. Essas diferenças entre os compostos analisados enfatizam a necessidade de considerar as propriedades físico-químicas individuais dos fármacos ao avaliar seus efeitos ecotoxicológicos, uma vez que a toxicidade não está relacionada apenas à classe terapêutica, mas também à estrutura química, à formulação, ao comportamento ambiental e à resposta dos organismos expostos.

Na cianobactéria *M. novacekii*, a exposição a múltiplos contaminantes pode desencadear respostas biológicas específicas, resultando em impactos ambientais variados. (Wang et al., 2018; Gomes et al., 2022). No ambiente aquático, fármacos coexistem com inúmeras substâncias cujas interações podem levar a efeitos

sinérgicos, antagônicos ou aditivos, amplificando ou atenuando os impactos ecotoxicológicos. Portanto, é essencial que estudos futuros avaliem não apenas a toxicidade isolada de cada composto, mas também seus efeitos combinados e comportamento ambiental, considerando fatores como tempo de exposição, degradação no meio, bioacumulação e presença de excipientes.

Toxicidade em *C. vulgaris*

Nos ensaios de inibição do crescimento com *C. vulgaris*, não foram observados efeitos tóxicos agudos ou crônicos após à exposição ao MCR, nas concentrações testadas. Os valores negativos de inibição do crescimento ou valores positivos, indicando estimulação do crescimento celular (Tabela 1) demonstraram efeito significativo, com aumento de biomassa de até 79% na concentração de 81 mg/L após 4 dias de exposição. No entanto, a exposição crônica apresentou uma redução significativa na estimulação do crescimento, embora tenha permanecido positiva após 14 dias.

Tabela 1 - Taxa de estimulação do crescimento celular (C%) de *C. vulgaris* sob exposição ao medicamento contendo RAL-K (MCR) em diferentes concentrações por 4 e 14 dias. O grupo controle negativo consistiu em meio de cultura BG-11 com nitrogênio e sem MCR (0,0 mg/L)

RAL-K (mg/L)	C% Tempo – 4 d	C% Tempo – 14 d
0,00	0.0 ± 0.2	0.0 ± 0.5
12,00	5.5 ± 2.3	3.9 ± 4.2
21,00	16.1 ± 3.5	3.0 ± 3.9
42,00	33.4 ± 2.3	8.1 ± 1.9
60,00	54.8 ± 1.2	6.4 ± 2.2
81,00	79.0 ± 9.8	9.1 ± 6.2
102,00	58.5 ± 5.3	4.6 ± 5.0

Conforme estabelecido pela ISO 8692:2012 (*Water quality - Freshwater algal growth inhibition test with unicellular green algae*), variações de crescimento de até ± 20% em comparação ao controle são consideradas dentro da variabilidade normal do sistema de teste. No entanto, os valores observados neste estudo (até 79,0%) excederam este limite, indicando um efeito biologicamente relevante.

Embora o MCR não tenha demonstrado toxicidade aparente para *C. vulgaris* em condições isoladas, a estimulação do crescimento algal pode ter implicações

ecológicas consideráveis. O aumento da biomassa fitoplanctônica, por exemplo, poderia promover a ocorrência de florações algais que reduzem o oxigênio dissolvido na água e comprometem a sobrevivência de outros organismos aquáticos. Tais desequilíbrios podem alterar as cadeias tróficas, favorecer espécies oportunistas e impactar a biodiversidade.

A redução na estimulação do crescimento de 58,5% a 102 mg/L para 79,0% a 81 mg/L ao longo de 4 dias de exposição pode sugerir o início de um efeito inibitório em altas concentrações de RAL-K (> 100 mg/L), possivelmente relacionado à saturação dos mecanismos de tolerância celular, esgotamento de recursos, geração de metabólitos tóxicos ou degradação química do composto no meio. Esta hipótese é corroborada pela redução significativa na estimulação do crescimento durante a exposição crônica (14 dias) em todas as concentrações testadas. Tal comportamento pode representar um ponto de inflexão entre estimulação e estresse, o que merece atenção do ponto de vista ecotoxicológico.

A resistência de *C. vulgaris* ao MCR pode estar associada à sua parede celular espessa, que limita a penetração de xenobióticos, e à presença de sistemas enzimáticos detoxificantes, como as citocromo P450 e as glutathione-S-transferases (Expósito et al., 2021; Rajivgandhi et al., 2022; Herath; Ganehenegge, 2023). Esta microalga também possui capacidade reconhecida de biorremediação, removendo metais pesados, surfactantes e diversos fármacos do meio aquático (Kosarev et al., 2022; Coronado-Reyes et al., 2022).

Outro fator potencial para o crescimento observado poderia ser o uso do MCR e/ou seus excipientes como fontes suplementares de carbono ou nitrogênio. A molécula de RAL-K contém grupos funcionais como amidas e anéis heterocíclicos que podem ser metabolizados por *C. vulgaris*. Excipientes na formulação, como lactose e poloxâmeros, também podem ter contribuído como fontes energéticas adicionais (De Jesus Oliveira Santos et al., 2023; Zheng et al., 2019; Melo et al., 2018; Abreu et al., 2012).

Estudos anteriores corroboram esses achados, mostrando que resíduos farmacêuticos podem atuar como estímulos metabólicos para microalgas. Procópio et al. (2021) observaram aumento de 40% na taxa de crescimento e de 5% na eficiência fotossintética de *C. vulgaris* na presença de carbamazepina. Zhang et al. (2019) relataram aumento na produção de clorofila e lipídios em *C. pyrenoidosa* exposta a baixas concentrações de diclofenaco (2–30 mg/L). De forma similar, Ricky, Chiampo

& Shanthakumar (2022) encontraram um aumento de até 46% na biomassa e um aumento de 30% na clorofila-a de *C. vulgaris* exposta a uma concentração de 5 mg/L dos antibióticos ciprofloxacino e amoxicilina. Esses dados reforçam a hipótese de que contaminantes farmacêuticos, mesmo em baixas concentrações, podem modular o metabolismo microalgal, promovendo respostas adaptativas como aumento da biomassa, alteração na composição bioquímica e ativação de mecanismos antioxidantes, como o aumento das enzimas superóxido dismutase e catalase (Zhang et al., 2019).

Os resultados obtidos com o MCR diferem daqueles relatados por Diniz et al. (2022), que observaram efeito inibitório significativo de NVP sobre *C. vulgaris*, com valores de CE_{50} de 24,90 mg/L para o IFA e 19,52 mg/L para a formulação farmacêutica contendo NVP. Esses dados sugerem que, diferentemente do RAL-K, a NVP é classificada como tóxica para microalgas. Essas diferenças podem estar relacionadas aos mecanismos de ação distintos: enquanto a NVP é um inibidor da transcriptase reversa, o RAL atua sobre a integrase do HIV, e as suas propriedades físico-químicas, como o log Kow de 0,4 para RAL-K e 1,8 para NVP, o que afeta sua lipofilicidade e penetração celular (NCBI, 2023; Diniz et al., 2022).

Embora os dados aqui apresentados sugiram que, o MCR analisado isoladamente não represente um risco para *C. vulgaris*, é importante considerar que a exposição ambiental ocorre frequentemente por meio de misturas de fármacos e outros produtos químicos. Estudos mostraram que a toxicidade combinada pode ser maior que a soma dos efeitos individuais, com interações sinérgicas entre ARV (Omotola et al., 2022; Gomes et al., 2022; Souza-Silva et al., 2025). Por exemplo, a combinação de TDF e EFZ resultou em uma redução de até 50% no crescimento e de 40% na eficiência fotossintética de *Raphidocelis subcapitata* com toxicidade 30% superior à soma dos efeitos individuais dos compostos (Gomes et al., 2022). Esses efeitos cumulativos podem causar alterações na estrutura e na funcionalidade das comunidades aquáticas, interferindo na dinâmica competitiva entre espécies e favorecendo a seleção de organismos mais bem adaptados aos estresses ambientais (Godoy et al., 2019; Galus et al., 2013; Richards et al., 2004). Adicionalmente, a bioacumulação de resíduos farmacêuticos ao longo da cadeia alimentar pode representar risco não apenas para organismos aquáticos superiores, como peixes, mas também potenciais implicações para a saúde humana (Zenker et al., 2014; Keerthanan et al., 2021; Khan et al., 2022).

Toxicidade em *Artemia salina*

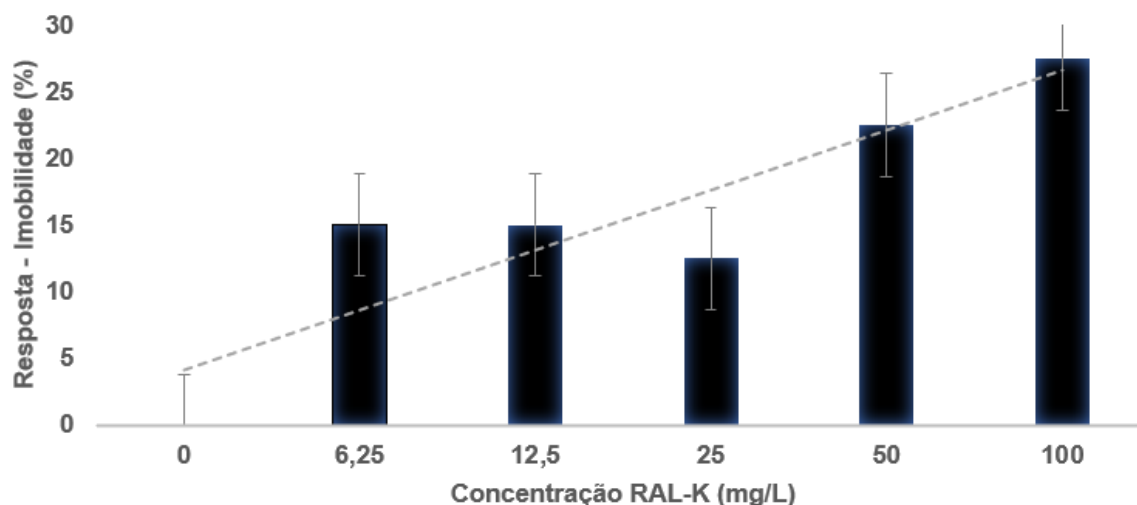
Os resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda com *A. salina* expostas ao MCR, demonstraram que o fármaco não induziu imobilização significativa dos organismos, mesmo nas maiores concentrações testadas (100 mg/L). Em nenhum dos três ensaios realizados foi possível determinar a CE_{50} , uma vez que a imobilização não atingiu 50% dos indivíduos. A maior resposta de imobilização observada foi de $27,5\% \pm 1,26$, na maior concentração testada (100 mg/L). Esse padrão sugere que o MCR apresenta baixa toxicidade aguda para *A. salina*, com valor de CE_{50} superior a 100 mg/L, classificando-o como "praticamente não tóxico" de acordo com os critérios do Sistema Globalmente Harmonizado (GHS) ($CE_{50} > 100$ mg/L) (GHS, 2023).

Os dados experimentais corroboram estudos anteriores sobre a toxicidade de antivirais em *A. salina*. Silva et al. (2019) também não observaram imobilização completa para *A. salina* exposta ao TDF, registrando um valor de CE_{50} de 111,82 mg/L. Minguez et al. (2016) avaliaram 48 fármacos e constataram que 72% deles apresentaram CE_{50} superior a 100 mg/L. Antivirais como aciclovir e abacavir e antibióticos como claritromicina, clindamicina e azitromicina foram classificados como de baixa toxicidade para *A. salina*, evidenciando que esse crustáceo apresenta alta tolerância a diversos compostos farmacêuticos. De Souza et al. (2025) corroboraram ainda mais essa tendência, observando imobilização máxima de aproximadamente 60% em altas concentrações de entecavir (250 mg/L), sem estimar o valor de CE_{50} .

A exposição crescente ao MCR resultou em um aumento progressivo na imobilidade de *A. salina*, contudo, sem uma resposta efetiva máxima que permitisse a determinação precisa da CE_{50} . No entanto, a análise estatística indicou que todas as concentrações testadas apresentaram diferenças significativas em relação ao controle ($p < 0,05$), sugerindo a influência do fármaco sobre os organismos. A Figura 4 ilustra essa tendência, mostrando a variação na imobilidade média entre as concentrações testadas.

Figura 4 - Relação entre a imobilidade média (%) de *A. salina* e a concentração do medicamento contendo RAL-K (MCR) após 48 horas de exposição a concentrações

variando de 6,25 a 100 mg/L. A linha tracejada indica a tendência. O grupo controle negativo consistiu de cultura salina (cloreto de sódio a 3,5%) sem MCR (0,0 mg/L)



Apesar da ausência de toxicidade aguda expressiva, é importante considerar potenciais efeitos subletais e ecotoxicológicos, conforme discutido por Ncube et al. (2018), que enfatizaram a capacidade dos medicamentos antivirais de desencadear impactos indiretos em ecossistemas aquáticos. A presença de antivirais no ambiente pode promover a seleção de cepas microbianas resistentes, alterar a dinâmica trófica e interferir em processos ecológicos sensíveis. Ademais, a interação desses compostos com outros contaminantes pode levar a efeitos combinados que ainda não foram totalmente investigados. Portanto, embora os resultados deste estudo sugiram que o MCR apresenta baixa toxicidade aguda para *A. salina*, é necessário conduzir análises mais aprofundadas sobre os possíveis impactos ambientais deste medicamento.

Para melhor compreender esses efeitos, recomenda-se a realização de estudos complementares, incluindo testes de exposição prolongada para avaliar impactos a longo prazo, investigações sobre alterações metabólicas e fisiológicas em organismos expostos e análises envolvendo outros organismos aquáticos. Essas abordagens podem ajudar a elucidar os riscos ecotoxicológicos dos ARV e fornecer informações valiosas para políticas de monitoramento e gestão ambiental mais eficazes.

Toxicidade da combinação dos medicamentos contendo RAL e DTG:

A exposição à combinação do MCR + MCD não inibiu o crescimento de *C. vulgaris*, impossibilitando a estimativa de valores de CE_{50} para a exposição aguda e

crônica. Pelo contrário, observou-se um aumento significativo na absorbância em todas as concentrações testadas em comparação ao grupo controle (0,0 mg/L), conforme evidenciado pela ANOVA ($p < 0,05$) e pelo teste de Tukey (Tabela 2). Esse comportamento sugere um efeito estimulatório no crescimento da microalga, especialmente após 14 dias de exposição. Fenômeno semelhante foi observado durante a exposição ao RAL isolado (Tabela 1).

Tabela 2 - Efeito da combinação dos medicamentos contendo RAL (MCR) e medicamentos contendo DTG (MCD) no crescimento de *Chlorella vulgaris* em diferentes tempos de exposição. Os valores de absorbância em 695 nm (ABS) representam a média $\pm$ desvio padrão (DP) de uma de uma triplicata. O grupo controle negativo consiste em meio de cultura BG-11 com nitrogênio e sem MCR ou MCD (0,0 mg/L).

RAL-K (mg/L)	ABS (4d) Média $\pm$ DP	Valor p	ABS (14 d) Média $\pm$ DP	Valor p
0,0	0,341 $\pm$ 0,03	–	0,911 $\pm$ 0,06	–
12,0	0,486 $\pm$ 0,04	0,037	1,326 $\pm$ 0,12	0,018
21,0	0,522 $\pm$ 0,05	0,037	1,358 $\pm$ 0,11	0,012
42,0	0,440 $\pm$ 0,04	0,152	1,299 $\pm$ 0,10	0,018
60,0	0,418 $\pm$ 0,06	0,245	1,432 $\pm$ 0,12	0,008
72,0	0,414 $\pm$ 0,05	0,278	1,572 $\pm$ 0,13	0,001
102,0	0,593 $\pm$ 0,07	0,009	1,626 $\pm$ 0,14	0,001

Após 4 dias de exposição, observou-se redução na absorbância nas amostras expostas à combinação de MCR e MCD, sugerindo que, nos estágios iniciais, a combinação dos fármacos pode ter causado um efeito tóxico ou estressante mais acentuado, levando à inibição temporária do crescimento celular em comparação ao RAL isolado.

Embora a combinação de MCR e MCD tenha causado uma possível inibição a curto prazo, *C. vulgaris* demonstrou capacidade de recuperação ao longo do tempo. Isso pode ser devido a processos adaptativos ou compensatórios na microalga, que, após a fase inicial de estresse, superou os efeitos adversos causados pela combinação e restabeleceu sua biomassa. Portanto, a possível redução no crescimento observada durante os primeiros 4 dias parece ser transitória, como sugerido pelos dados de 14 dias, que mostram recuperação e estímulo no crescimento.

Adicionalmente, tanto para o MCR isolado quanto para a combinação de MCR e MCD, as concentrações mais elevadas (72 e 102 mg/L) foram as que mais estimularam o crescimento algal. Esse efeito pode estar relacionado à capacidade de *C. vulgaris* de absorver, metabolizar ou mesmo biodegradar compostos orgânicos complexos, um mecanismo já descrito para outras microalgas em estudos de fitorremediação (Kosarev et al., 2022; Coronado-Reyes et al., 2022; Zhang et al., 2019).

A diferença na resposta observada entre a exposição aguda e crônica à combinação de MCR e MCD, em comparação ao MCR isoladamente, pode estar relacionada não apenas à interação entre os ingredientes ativos, mas também aos excipientes na formulação farmacêutica. Estudos anteriores demonstraram que, em algumas formulações farmacêuticas, a associação entre IFA e excipientes pode ter efeitos sinérgicos na toxicidade em organismos aquáticos.

Por exemplo, Turek et al. (2023) observaram que a formulação comercial de valsartana (valsartana + excipientes) apresentou maior toxicidade para *Aliivibrio fischeri* do que a substância pura. Certos excipientes podem aumentar a toxicidade dos medicamentos, alterando sua solubilidade e biodisponibilidade, tornando-os mais acessíveis para organismos aquáticos. Portanto, é importante considerar os excipientes em avaliações de impacto ambiental, uma vez que suas interações podem resultar em efeitos sinérgicos inesperados (Turek et al., 2023). Ademais, os valores de toxicidade de substâncias isoladas para organismos aquáticos nem sempre correspondem diretamente à toxicidade de formulações farmacêuticas completas (Souza- Silva et al., 2025).

É importante destacar que, embora o aumento da densidade celular possa inicialmente parecer um efeito positivo, isso não exclui o risco ecotoxicológico associado à presença contínua desses fármacos no ambiente aquático (Richards et al., 2004; Godoy et al., 2019), com potenciais impactos em espécies mais sensíveis (Galus et al., 2013). O acúmulo dessas substâncias ou de seus metabólitos pode causar efeitos indiretos, como florescimentos algais desbalanceados (Khan et al., 2022) ou a transferência de contaminantes ao longo da cadeia alimentar (Zenker et al., 2014).

Em contraste com os resultados obtidos para *C. vulgaris*, a exposição de *M. novacekii* à combinação de MCR e MCD resultou em inibição significativa, e dose-dependente, do crescimento ($p < 0,05$), em comparação ao grupo controle (0,0 mg/L),

indicando maior sensibilidade da cianobactéria à associação dos fármacos. Foram observados efeitos agudos (4 dias) e crônicos (14 dias). A CE_{50} estimada para a combinação de MCR e MCD foi de $20,96 \pm 0,95$ mg/L, indicam toxicidade aproximadamente 2,13 vezes superior à observada com MCR isoladamente ($CE_{50} = 44,56 \pm 1,77$ mg/L) (Tabela 3).

Tabela 3 - Comparação dos efeitos do medicamento contendo RAL-K (MCR) isoladamente e da combinação de MCR e MCD sobre a cianobactéria *Microcystis novacekii*, com base nos parâmetros de toxicidade aguda (4 dias de exposição) e recuperação (14 dias de exposição).

Parâmetro	MCR	MCR + MCD
CE_{50} (4 d)	$44,56 \pm 1,77$ mg/L	$20,96 \pm 0,95$
Inibição máxima	100% (72–102 mg/L)	100% (≥ 35 mg/L)
Recuperação (14d)	Parcial	Limitada (≤ 20 mg/L)

Nos primeiros 4 dias, observou-se redução acentuada da absorbância, indicando forte inibição do crescimento celular. A combinação MCR e MCD promoveu toxicidade aguda mais intensa, com inibição significativa ($p < 0,05$) a partir de 20 mg/L, sem recuperação completa após 14 dias. Enquanto o MCR isoladamente permitiu recuperação parcial após 14 dias, a combinação de MCR e MCD manteve inibição significativa mesmo após exposição crônica (≥ 20 mg/L), sugerindo superação da capacidade adaptativa da cianobactéria. Esse efeito pode estar associado à geração de metabólitos mais tóxicos ou à presença de interações sinérgicas entre os compostos (Godoy et al., 2019; Funke; Prasse; Ternes, 2016).

Após 14 dias, *M. novacekii* apresentou discreta recuperação apenas nas menores concentrações (10–15 mg/L), com valores de absorbância superiores ao controle. Entretanto, em concentrações ≥ 20 mg/L, a inibição do crescimento permaneceu significativa ($p < 0,001$), com redução da biomassa em torno de 20 a 35% em relação ao controle.

Esses resultados sugerem que efeitos sinérgicos ou aditivos entre os ingredientes ativos e/ou seus excipientes, intensificaram a toxicidade para *M. novacekii*. O aumento da inibição do crescimento pode refletir potencialização do estresse oxidativo, interferência nos processos fotossintéticos e alterações no metabolismo celular (Souza-Silva et al., 2025; Coronado-Reyes et al., 2022; Cid et al., 2021; Abreu et al., 2012). Adicionalmente, os surfactantes presentes nas

formulações podem ter contribuído para o aumento da absorção e da toxicidade nas cianobactérias (Souza-Silva et al., 2025; Turek et al., 2023).

A dinâmica de toxicidade aditiva observada neste estudo foi semelhante à relatada por Souza-Silva et al. (2025), em que a combinação dos medicamentos ARV contendo DTG e TDF aumentou a toxicidade aguda em *M. novacekii* em aproximadamente 5,76 vezes em relação ao medicamento com DTG isoladamente.

A toxicidade diferencial entre *M. novacekii* e *C. vulgaris* sugere que a combinação de MCR e MCD pode influenciar a composição e estrutura de comunidades fitoplanctônicas, favorecendo microalgas em detrimento de cianobactérias (Bouzas-Monroy et al., 2022; Coronado-Reyes et al., 2022; Cid et al., 2021). Esse desequilíbrio pode afetar a cadeia trófica, uma vez que cianobactérias são base alimentar para o zooplâncton (Wetzel, 2001). Alterações nesse nível trófico inicial podem comprometer a estabilidade ecológica de todo o ecossistema aquático. Estudos adicionais são necessários para avaliar a bioacumulação desses fármacos e seus efeitos a longo prazo.

Na ecotoxicologia, é fundamental considerar que substâncias aparentemente seguras quando avaliadas isoladamente, podem apresentar efeitos adversos significativos quando combinadas ou liberadas em larga escala no meio ambiente. Assim, os resultados deste estudo reforçam a importância da avaliação dos efeitos combinados de fármacos, contribuindo para futuras pesquisas sobre impactos ambientais de poluentes emergentes e para a definição de limites seguros de descarte, além do desenvolvimento de estratégias de mitigação ambiental eficazes.

Toxicidade de Excipientes Farmacêuticos:

Os excipientes são substâncias adicionadas às formulações farmacêuticas para garantir a estabilidade do princípio ativo, facilitar sua administração, absorção e eficácia terapêutica. Embora tradicionalmente considerados inertes e atóxicos (Bayne et al., 2025), estudos recentes demonstram que esses componentes podem modificar as propriedades físico-químicas dos fármacos, influenciando sua dissolução, persistência e interação com organismos aquáticos (Silva et al., 2014; Jacob et al., 2016; Souza-Silva et al., 2025).

A influência dos excipientes na ecotoxicidade dos fármacos foi evidenciada em alguns estudos. Silva et al. (2014) observaram que a fluoxetina formulada foi até 10

vezes mais tóxica para *C. vulgaris* do que o princípio ativo isolado, destacando o papel dos excipientes na amplificação da toxicidade. De forma semelhante, Jacob et al. (2016) analisaram diferentes formulações comerciais de nimesulida e constataram que as versões genéricas apresentaram maior toxicidade, atribuída à presença de excipientes específicos, uma vez que o IFA isolado apresenta baixa solubilidade. Esses achados foram reforçados pelos mesmos autores ao avaliarem formulações genéricas de hidroclorotiazida, onde apenas a formulação contendo lauril sulfato de sódio, amidoglicolato de sódio, lactose, celulose microcristalina e dióxido de silício apresentou toxicidade significativa, sugerindo que os excipientes, e não o ingrediente ativo, foram responsáveis pelos efeitos adversos (Jacob et al., 2016).

A Tabela 4 lista apenas os excipientes hidrossolúveis presentes na formulação do MCR (Isentress® 400 mg), destacando seus potenciais impactos ecotoxicológicos em organismos aquáticos, conforme evidenciado pela literatura. Excipientes insolúveis, não foram incluídos nesta análise, pois foram retidos durante o processo de filtração na preparação da substância em teste.

Tabela 4 - Excipientes do medicamento contendo raltegravir potássico (MCR) Isentress® (solúveis) e sua toxicidade em organismos aquáticos.

Excipiente	Fórmula molecular	Função	Organismo Aquático	Ensaio	Resultado	Categoria de Toxicidade	Referência
Lactose monoidratada	C ₁₂ H ₂₄ O ₁₂	Diluyente	<i>Aliivibrio fischeri</i>	Microtox®	CE ₅₀ 30 min = 16.363 mg/L	Praticamente não tóxico	Turek et al., 2023
Hipromelose ¹	C ₅₆ H ₁₀₈ O ₃₀	Agente de revestimento e ligante	-	-	-	-	NCBI, 2025.
Poloxâmer ¹	C ₅ H ₁₀ O ₂	Surfactante e solubilizante	-	-	-	Toxicidade aguda (Acute Tox. 4 (21.3%)) ²	ECHA, 2025.
Álcool polivinílico ¹	(CH ₂ CHOH) _n	Agente formador de filme				Potencialmente perigoso para o meio ambiente, especialmente peixes. ³	ILO; WHO, 2025
Macrogol	(C ₂ H ₆ O ₂)	Solubilizante e plastificante	<i>Daphnia magna</i>	Teste de toxicidade aguda	CL ₅₀ (48h) > 100 mg/L	Baixa toxicidade	Schupp et al., 2018

Legenda: 1. Dados ecotoxicológicos em organismos aquáticos não disponíveis. 2. Categoria de toxicidade classificada pela Agência Europeia dos Produtos Químicos (ECHA). 3. Cartão internacional de Segurança Química (ICSCs) elaborado pela Organização Internacional do Trabalho e Organização Mundial da Saúde.

A escassez de dados ecotoxicológicos sobre excipientes farmacêuticos dificulta uma avaliação abrangente de seus impactos ambientais. Dentre os excipientes hidrossolúveis presentes no MCR testado, o poloxâmer e o álcool polivinílico apresentaram o maior potencial tóxico devido às suas propriedades físico-químicas distintas. O poloxâmer, um surfactante anfifílico amplamente utilizado em formulações farmacêuticas, pode causar efeitos adversos mesmo em exposições de curta duração, devido à sua capacidade de desestabilizar membranas celulares em organismos aquáticos e à sua persistência ambiental. Essas características justificam sua classificação como Categoria 4 em toxicidade aguda pela *European Chemicals Agency* (ECHA, 2025).

O álcool polivinílico, além de atuar como agente formador de filme, apresenta cadeias poliméricas que podem interferir em processos fisiológicos de organismos superiores e formar complexos sinérgicos com outros contaminantes. É considerado potencialmente perigoso para o meio ambiente, especialmente para peixes, de acordo com a *International Labour Organization* (ILO) e a *World Health Organization* (WHO) (ILO; WHO, 2025). Esses excipientes podem alterar as propriedades físico-químicas do fármaco, aumentando sua solubilidade e facilitando a absorção pelas células, o que pode ter contribuído para a toxicidade aguda observada em *M. novacekii*.

Embora muitos excipientes sejam considerados seguros, conservantes, surfactantes e plastificantes podem induzir efeitos adversos em organismos aquáticos, quando presentes em concentrações ambientalmente relevantes (10 mg/L-100 mg/L) ou em combinação com outros compostos. Esse efeito sinérgico pode aumentar a toxicidade de fármacos no ambiente aquático, tornando-se um fator crítico a ser considerado em avaliações de risco ambiental (Turek et al., 2023).

A influência dos excipientes na toxicidade dos fármacos também foi evidenciada em estudos com ARV. Diniz et al. (2022) observaram que a NVP formulada apresentou maior toxicidade para *C. vulgaris* ($CE_{50} = 19,52$ mg/L) em comparação ao IFA isolado ($CE_{50} = 24,90$ mg/L), sugerindo que os excipientes contribuíram para o aumento da toxicidade.

Silva-Souza et al. (2025) avaliaram a toxicidade dos ARV TDF, 3TC e DTG, bem como seus excipientes em *M. novacekii*. A formulação comercial de 3TC foi mais tóxica (CE_{50} de $60,3 \pm 2,7$ mg/L em 4 dias) do que o IFA isolado ($CE_{50} > 400$ mg/L), sugerindo que excipientes como a celulose microcristalina poderiam aumentar a absorção e a toxicidade do fármaco. Por outro lado, a formulação de DTG apresentou

menor toxicidade ($CE_{50} = 27,6 \pm 5,4$ mg/L em 4 dias) em comparação ao IFA isolado (CE_{50} de $1,7 \pm 0,3$ mg/L), indicando que excipientes como manitol e povidona poderiam reduzir a biodisponibilidade e, conseqüentemente, a toxicidade do DTG. A combinação de TDF e 3TC em formulações comerciais apresentou maior toxicidade ($CE_{50} = 5,6 \pm 0,3$ mg/L em 4 dias) do que os IFA isolados, possivelmente devido à presença de lauril sulfato de sódio, um excipiente com propriedades bacteriostáticas que pode potencializar os efeitos tóxicos.

Estes resultados demonstraram que os excipientes presentes nas formulações comerciais desempenham um papel importante na modulação da toxicidade desses fármacos, podendo tanto aumentar ou reduzir seus efeitos ecotoxicológicos, destacando a importância de se considerar o impacto ambiental dessas interações.

Avaliação de risco ambiental:

A concentração de RAL em corpos d'água foi relatada na faixa de ng/L, com valores estimados ou detectados em diferentes países (Tabela 5). No Brasil, Portugal e África do Sul, as concentrações variaram entre 40 a 17.000 ng/L, obtidas por meio de modelagem preditiva ou análises químicas.

Tabela 5 - Concentrações de raltegravir (RAL) relatadas em corpos d'água, obtidas a partir de diferentes estudos, utilizando métodos preditivos e analíticos.

RAL (ng/L)	Método de Quantificação	Local	Matriz Aquática	Referência
40,0	PEC ¹	Alentejo, Portugal	Água superficial	Almeida et al., 2023
130,0	PEC ¹	Algarve, Portugal	Água superficial	Almeida et al., 2023
190,0	PEC ¹	Centro, Portugal	Água superficial	Almeida et al., 2023
270,0	PEC ¹	Lisboa/Vale do Tejo, Portugal	Água superficial	Almeida et al., 2023
210,0	PEC ¹	Norte, Portugal	Água superficial	Almeida et al., 2023
490,0	PEC ¹	Cubatão, São Paulo, Brasil	ETE ³	Marzabal et al., 2022
61-17.000	LC-MS/MS ²	KwaZulu-Natal, África do Sul	ITE ⁴	Abafe et al., 2018

Legenda: 1 PEC: *Predicted Environmental Concentration* – valores modelados; 2 LC-MS/MS: *Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry*: técnica analítica; 3

ETE: Estação de Tratamento de Esgoto; 4 ITE: Influyente de Estação de Tratamento de Esgoto (Almeida et al., 2023; Marzabal et al., 2022; Abafe et al., 2018).

A partir dos dados experimentais obtidos para *M. novacekii* neste estudo ($CE_{50} = 44,56 \mu\text{g/L}$), a PNEC foi calculada em $0,04456 \mu\text{g/L}$, adotando-se fator de avaliação de 1.000. Os valores de RQ variaram de 0,90 (risco médio) a 381,51 (risco alto), conforme a localidade e a concentração ambiental. Esses resultados indicam risco ecológico significativo em cenários reais de exposição, especialmente na África do Sul e no Brasil.

Além da toxicidade observada, a elevada excreção do RAL, aproximadamente 83% da dose administrada, com 9% excretado como fármaco inalterado na urina, contribui para sua entrada contínua no meio ambiente. Em 2024, com base na distribuição de medicamentos pelo SUS, estima-se que até 313 kg de RAL tenham sido excretados inalterados via urina no Brasil, representando uma fonte significativa de contaminação ambiental.

Embora detectado com menos frequência em comparação a outros ARV (Abafe et al., 2018; Rimayi, 2018; K'Oreje et al., 2016), o RAL apresenta características preocupantes, como alta persistência, baixa biodegradabilidade e toxicidade para organismos aquáticos (Choudhury et al., 2024), o que reforça a necessidade de monitoramento contínuo e inclusão deste fármaco em diretrizes regulatórias ambientais. A microalga tolerou mais o fármaco, sendo o organismo mais resistente.

CONCLUSÃO

Este estudo investigou os efeitos ecotoxicológicos do fármaco RAL-K em diferentes organismos aquáticos. Os resultados mostraram que *M. novacekii* foi o organismo mais sensível à exposição ao MCR, exibindo inibição significativa do crescimento celular, especialmente quando combinado com DTG, o que intensificou a toxicidade. Por outro lado *C. vulgaris* e *A. salina* não apresentaram efeitos tóxicos significativos, com a microalga inclusive apresentando crescimento estimulado. Apesar dos efeitos agudos mais evidentes em *M. novacekii*, o estudo destacou o risco potencial para outros organismos aquáticos, sobretudo em exposições crônicas, em ambientes complexos ou com múltiplos contaminantes.

A combinação de MCR e MCD aumentou a toxicidade, sugerindo efeitos sinérgicos, enfatizando a importância de avaliar não apenas fármacos isolados, mas também suas formulações comerciais. A avaliação de risco ambiental indicou alto

risco ecológico em todos os cenários estudados (Portugal, Brasil e África do Sul), mesmo considerando concentrações de RAL no ambiente em níveis baixos (ng/L). A estabilidade química do RAL e a remoção incompleta no tratamento de esgoto, sugerem a possibilidade de persistência e bioacumulação deste fármaco no ambiente aquático. Adicionalmente, o estudo enfatizou a importância de considerar a estrutura molecular do RAL e dos excipientes na formulação farmacêutica, pois podem influenciar a biodisponibilidade e a toxicidade do fármaco. A ausência de toxicidade em alguns organismos não significa que o RAL seja seguro para o ambiente aquático. A crescente presença de ARV no meio ambiente, aliada à falta de saneamento básico, pode ameaçar a biodiversidade e a saúde humana.

A estrutura molecular do RAL e os excipientes presentes na formulação farmacêutica podem influenciar significativamente sua biodisponibilidade e toxicidade, devendo ser considerados em estudos futuros. Embora tradicionalmente considerados inertes, diversos excipientes demonstraram potencial de intensificar ou modular os efeitos tóxicos de fármacos em organismos não-alvo. Portanto, a ausência de toxicidade observada em *C. vulgaris* e *A. salina* não é suficiente para considerar o RAL ambientalmente seguro. A contínua introdução de ARV no ambiente, associada à deficiência de saneamento básico, pode comprometer a biodiversidade, a integridade dos ecossistemas aquáticos e, eventualmente, a saúde humana.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Agradecemos a eles pelo financiamento que tornou este trabalho possível. Reconhecemos a importância do investimento contínuo em pesquisa científica para a preservação ambiental e a saúde pública, e agradecemos a confiança e incentivo em nosso trabalho.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS:

- ABAFE, A. O. et al. LC-MS/MS determination of antiretroviral drugs in influents and effluents from wastewater treatment plants in KwaZulu-Natal, South Africa. **Chemosphere**, v. 200, p. 660-670, 2018.
- ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 16530: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com Artemia sp (Crustacea, Brachiopoda)**. 24 p. Rio de Janeiro, 2021.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12648: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae)**. 35p. Rio de Janeiro, 2023.
- ABREU, A. P. et al. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using industrial dairy waste as organic carbon source. **Bioresource technology**, v. 118, p. 61–66, 2012.
- ADEOLA, A. O.; FORBES, P. B. C. Antiretroviral Drugs in African Surface Waters: prevalence, analysis, and potential remediation. **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 41, n. 2, p. 247-262, 2021.
- ALMEIDA, A. et al. Predicted environmental risk assessment of antimicrobials with increased consumption in Portugal during the COVID-19 pandemic; The groundwork for the forthcoming water quality survey. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 4, p. 652, 2023.
- ALMEIDA, L. C. et al. Chronic toxicity and environmental risk assessment of antivirals in *Ceriodaphnia dubia* and *Raphidocelis subcapitata*. **Water Science and Technology**, v. 84, n. 7, p. 1623-1634, 2021.
- BABICH, R. et al. Mitochondrial response and resilience to anthropogenic chemicals during embryonic development. **Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP**, v. 233, n. 108759, p. 108759, 2020.
- BAYNE, A.-C. V. et al. Vitamins as excipients in pharmaceutical products. **European journal of pharmaceutical sciences: official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences**, v. 206, n. 107020, p. 107020, 2025.
- BHAVYASRI, K. et al. Development and Validation of Forced Degradation Studies of Raltegravir using RP-HPLC and Characterization of Degradants by LC-MS/MS. **J. Pharm. Sci. & Res.**, 2015, Vol. 7(9), p. 685-689.
- BOUZAS-MONROY, A. et al. Assessment of the potential ecotoxicological effects of pharmaceuticals in the world's rivers. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 41, n. 8, p. 2008–2020, 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS. **Relatório de Recomendação nº 288: Raltegravir para primeira linha de tratamento de HIV. 2017**. Brasília, DF, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para prevenção da transmissão vertical do HIV, sífilis e hepatites virais**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Portaria SECTICS/MS nº 38, de 3 de julho de 2023. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 5 jul. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de HIV, Aids, Tuberculose, Hepatites Virais e Infecções Sexualmente Transmissíveis (DATHI/SVSA/MS). **Painel Integrado de Monitoramento do Cuidado do HIV e da Aids**. 2024. Disponível em: <http://mediacenter.aids.gov.br/Transparencia_Ativa/Banco_PIMC_2024.zip>. Acesso em: 19 mar. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de HIV/AIDS, Tuberculose, Hepatites Virais e Infecções Sexualmente Transmissíveis (DATHI/SVSA/MS). **Solicitação de Acesso à Informação. Plataforma "Fala.BR". Protocolo NUP nº 25072.006646/2025-44. Formulário: resposta ao cidadão**. Recebido em 17/03/2025, 10:52.

BRASIL. Portaria GM/MS nº 888, de 4 de fevereiro de 2021. Estabelece os procedimentos para o controle e a vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 5 fev. 2021.

CAMPOS, M. M. C. et al. Evaluation of the capacity of the cyanobacterium *Microcystis novaceki* to remove atrazine from a culture medium. **Journal of environmental science and health**. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes, v. 48, n. 2, p. 101–107, 2013.

CHAGAS DOS SANTOS, I. F. et al. Mutations associated with viral resistance to integrase in individuals initiating dolutegravir-containing antiretroviral therapy: retrospective cohort, Brazil 2017-2019. **AIDS care**, p. 1–11, 2025.

CHMP – COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR HUMAN USE. **Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use**. London: European Medicines Agency, 2006. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/environmental-risk-assessment-medicinal-products-human-use-scientific-guideline>. Acesso em: 30 jan 2024.

CHOUDHURY, A.; OJHA, P. K.; RAY, S. Hazards of antiviral contamination in water: Dissemination, fate, risk and their impact on fish. **Journal of hazardous materials**, v. 476, n. 135087, p. 135087, 2024.

CID, R. S. et al. Toxicity of antiretrovirals on the sea urchin *Echinometra lucunter* and its predicted environmental concentration in seawater from Santos Bay (Brazilian coastal zone). **Resources**, v. 10, n. 11, p. 114, 2021.

CORONADO-REYES, J. A. et al. *Chlorella vulgaris*, a microalgae important to be used in Biotechnology: a review. **Food Science and Technology**, v. 42, 2022.

DE JESUS OLIVEIRA SANTOS, M. et al. Blue technology for a sustainable pharmaceutical industry: Microalgae for bioremediation and pharmaceutical production. **Algal research**, v. 69, n. 102931, p. 102931, 2023.

DE OLIVEIRA, Valberto Barbosa et al. Impactos ambientais e toxicológicos pela contaminação de fármacos principalmente antibióticos em ambientes aquáticos: revisão da literatura. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, n. 7, p. 838-850, 2023.

DE SOUZA, C. R. et al. Ecotoxicity of Entecavir in *Aliivibrio fischeri*, *Microcystis novacekii*, *Artemia salina*, and *Biomphalaria glabrata*. **Journal of chemical health and safety**, 2025.

DINIZ, J. S. et al. The toxic effects of the antiretroviral nevirapine and a nevirapine-based drug for aquatic organisms. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. 19211225014, 2022.

EACS. European AIDS Clinical Society. **Guidelines Version 12.1**. Bruxelas: EACS, 2025. Disponível em: <https://www.eacsociety.org/guidelines/eacs-guidelines/>. Acesso em: 29 jan. 2025.

ECHA. EUROPEAN CHEMICALS AGENCY. Poloxamer (EC: 923-642-1), 2025. Disponível em: <https://echa.europa.eu/information-on-chemicals/cl-inventory-database/-/discli/details/78630>. Acesso em: 12 jan. 2025.

EMA - European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use. **Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use**. London, 21 March 2024. Disponível em: <<https://www.ema.europa.eu/en/environmental-risk-assessment-medicinal-products-human-use-scientific-guideline>>. Acesso: 20 jun. 24.

EROFEEVA, E. A. Environmental hormesis: From cell to ecosystem. **Current opinion in environmental science & health**, v. 29, n. 100378, p. 100378, 2022.

EXPÓSITO, N. et al. Performance of *Chlorella vulgaris* exposed to heavy metal mixtures: Linking measured endpoints and mechanisms. **International journal of environmental research and public health**, v. 18, n. 3, p. 1037, 2021.

FDA. Food and Drug Administration. **Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review: Isentress (Raltegravir Potassium), NDA 203045**. Silver Spring: FDA, 2011. Disponível em: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/203045Orig1s000ClinPharmR.pdf. Acesso em: 8 jan. 2024.

FDA. U.S. Department of Health and Human Services. Center for Drug Evaluation and Research. Center for Biologics Evaluation and Research. **Guidance for Industry**. Washington, DC: U.S. Food and Drug Administration, 2011b.

FUNKE, J.; PRASSE, C.; TERNES, T. A. Identification of transformation products of antiviral drugs formed during biological wastewater treatment and their occurrence in the urban water cycle. **Water research**, v. 98, p. 75–83, 2016.

GALUS, M. et al. Chronic effects of exposure to a pharmaceutical mixture and municipal wastewater in zebrafish. **Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)**, v. 132–133, p. 212–222, 2013.

GANDHI, R. T. et al. Antiretroviral drugs for treatment and prevention of HIV infection in adults: 2022 Recommendations of the international antiviral society-USA panel. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v. 329, n. 1, p. 63, 2023.

GAO, Q. et al. Investigations on the influence of energy source on time-dependent hormesis: A case study of sulfadoxine to *Aliivibrio fischeri* in different cultivation systems. **The Science of the total environment**, v. 775, n. 145877, p. 145877, 2021.

GHS. United-Nations. *Globally Harmonized System of Classification and Labelling os Chemicals (GHS)*, 10th ed.; **United Nations Publications**: New York, NY, USA; Geneva, Switzerland, 2023

GODOY, A. A. et al. Single and mixture toxicity of four pharmaceuticals of environmental concern to aquatic organisms, including a behavioral assessment. **Chemosphere**, v. 235, p. 373–382, 2019.

GODOY, A. A. & KUMMROW, F. What do we know about the ecotoxicology of pharmaceutical and personal care product mixtures? A critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 47, n. 16, p. 1453–1496, 2017.

GOMES, M. P. et al. Do anti-HIV drugs pose a threat to photosynthetic microorganisms? **Chemosphere**, v. 307, n. Pt 2, p. 135796, 2022.

HERATH, C. H.; GANEHENEGE, M. Y. U. **Growth, biomass production, pollutant removal capacity of *Chlorella vulgaris* cultivated in water polluted with nutrients (PO₄³⁻ and NO₃⁻) and heavy metal ions (Cd²⁺ and Pb²⁺); A strategy for bioremediation, CO₂ utilization and simultaneous biodiesel productivity**. 2023. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-2898090/v1>>.

HSRC. HUMAN SCIENCES RESEARCH COUNCIL. *KwaZulu-Natal's disparate HIV prevalence and pervasive HIV risk behaviour*. 13 dez. 2024. Disponível em: <https://www.hsrc.ac.za/>. Acesso em: 4 jan. 2025.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Demográfico 2022**. Rio de Janeiro: IBGE, 2022.

ILO. INTERNATIONAL LABOUR ORGANIZATION; WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *International Chemical Safety Cards (ICSC) – Polyvinyl*

Alcohol (ICSC 1489). Disponível em: https://chemicalsafety.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_version=2&p_card_id=1489

ISO. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *ISO 8692:2012 – Water quality – Freshwater algal growth inhibition test with unicellular green algae*. Geneva: ISO, 2012.

JACOB, R. S. et al. A toxicity assessment of 30 pharmaceuticals using *Aliivibrio fischeri*: a comparison of the acute effects of different formulations. **Environmental technology**, v. 37, n. 21, p. 2760–2767, 2016.

KAR, S. et al. Ecotoxicological assessment of pharmaceuticals and personal care products using predictive toxicology approaches. **Green Chemistry**, v. 22, n. 5, p. 1458–1516, 2020.

KEERTHANAN, S. et al. Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) in the environment: Plant uptake, translocation, bioaccumulation, and human health risks. **Critical reviews in environmental science and technology**, v. 51, n. 12, p. 1221–1258, 2021.

KHAN, A. H. et al. Impact, disease outbreak and the eco-hazards associated with pharmaceutical residues: a Critical review. **International journal of environmental science and technology: IJEST**, v. 19, n. 1, p. 677–688, 2022.

KHAN, F. M.; GUPTA, R. *Escherichia coli* (E. coli) as an Indicator of Fecal Contamination in Groundwater: A Review. In: **Sustainable Development of Water and Environment**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 225–235.

K'OREJE, K. O. et al. Occurrence patterns of pharmaceutical residues in wastewater, surface water and groundwater of Nairobi and Kisumu city, Kenya. **Chemosphere**, v. 149, p. 238–244, 2016.

KOSAREV, A. V. et al. **Possibilities of using Chlorella microalgae to assess the hygienic safety of drinking water sources**. AIP Conference Proceedings. Anais...AIP Publishing, 2022.

KUDU, I.; PILLAY, V.; MOODLEY, B. Antiretrovirals (ARVs) in the environment. In: **Emerging Freshwater Pollutants**. p. 227–239. cap 13. 2022. doi: 10.1016/b978-0-12-822850-0.00006-5

LÓPEZ-DOVAL, J. C. et al. Nutrients, emerging pollutants and pesticides in a tropical urban reservoir: Spatial distributions and risk assessment. **The Science of the total environment**, v. 575, p. 1307–1324, 2017.

MARZABAL, A. L. DE F. et al. Medicamentos antirretrovirais: concentração ambiental estimada e avaliação de risco ecológico em Estações de Tratamento de Esgotos de Cubatão, São Paulo, Brasil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e52111427595, 2022.

MELO, R. G. DE et al. *Chlorella vulgaris* mixotrophic growth enhanced biomass productivity and reduced toxicity from agro-industrial by-products. **Chemosphere**, v. 204, p. 344–350, 2018.

MINGUEZ, L. et al. Toxicities of 48 pharmaceuticals and their freshwater and marine environmental assessment in northwestern France. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 23(6): p. 4992 - 5001, 2016.

MLUNGUZA, N.Y. et al. Determination of selected antiretroviral drugs in wastewater, surface water and aquatic plants using hollow fibre liquid phase microextraction and liquid chromatography - tandem mass spectrometry. **Journal Of Hazardous Materials**. v. 382: p. 121067, 2020.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química nova**, 2017.

MORIN-CRINI, N. et al. Worldwide cases of water pollution by emerging contaminants: a review. **Environmental chemistry letters**, v. 20, n. 4, p. 2311–2338, 2022.

MSD. MERCK SHARP & DOHME FARMACÊUTICA LTDA. **Isentress: bula do profissional de saúde**. São Paulo: MSD, 2023.

MUNZHELELE, E. P. et al. Pharmaceutical contaminants in wastewater and receiving water bodies of South Africa: A review of sources, pathways, occurrence, effects, and geographical distribution. **Water**, v. 16, n. 6, p. 796, 2024.

NAGHAVI, MOHSEN et al. "Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050." **The Lancet**, vol. 404, no. 10459, 2024, pp. 1199-1226.

NAKAMURA, T. et. al. Conversion of raltegravir carrying a 1,3,4-oxadiazole ring to a hydrolysis product upon pH changes decreases its antiviral activity. **PNAS Nexus**, 2023.

NCBI. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Hydroxypropylmethylcellulose. **PubChem**, 2025. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/57503849>. Acesso em: 14 jan. 2025.

NCBI. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Raltegravir. **PubChem**, 2023. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54671008>>. Acesso em: 14 jan 2025.

NCUBE, S. et al. Environmental fate and ecotoxicological effects of antiretrovirals: a current global status and future perspectives. **Water Research**. v. 145: p. 231-247, 2018.

NIBAMUREKE, U.M.C. et al. Nevirapine in African surface waters induces liver histopathology in *Oreochromis mossambicus*: A laboratory exposure study, **African Journal of Aquatic Science**, v. 44:1, p. 77-88, 2019.

NIELSEN, M. E.; ROSLEV, P. Behavioral responses and starvation survival of *Daphnia magna* exposed to fluoxetine and propranolol. **Chemosphere**, v. 211, p. 978–985, 2018.

OECD – ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Guidelines for testing chemicals freshwater alga and cyanobacteria growth inhibition test. 201. Paris: **OECD Publishing**, 2011.

OMOTOLA, E. O. et al. **Ecotoxicological assays of selected and potentiated antiretroviral and antibiotics**. 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-1204100/v1>>.

OMOTOLA, Elizabeth Oyinkansola et al. Environmental Risk Characterization of an Antiretroviral (ARV) Lamivudine in Ecosystems. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 2021. doi: 10.3390/IJERPH18168358.

PATEL, M. et al. Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: Chemistry, occurrence, effects, and removal methods. **Chemical reviews**, v. 119, n. 6, p. 3510–3673, 2019.

PROCOPIO, Z. S. D. et al. Multifactorial Evaluation of Atenolol, Caffeine, Carbamazepine and Ibuprofen on *Raphidocelis subcapitata* and *Chlorella vulgaris*. **Biology**, v. 10, n. 9, p. 926, 2021.

RAJIVGANDHI, G. et al. Green microalgal strain *Chlorella vulgaris* isolated from industrial wastewater with remediation capacity. **Environmental technology & innovation**, v. 28, n. 102597, p. 102597, 2022.

RAMOS, L. T. et al. Predicted environmental concentration (PEC), environmental risk assessment (ERA) and prioritization of antiretroviral drugs (ARVs) in seawater from Guarujá (Brazilian coastal zone). **Marine environmental research**, v. 204, n. 106964, p. 106964, 2025.

RICHARDS, S. M. et al. Effects of pharmaceutical mixtures in aquatic microcosms. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 23, n. 4, p. 1035–1042, 2004.

RICKY, R.; CHIAMPO, F.; SHANTHAKUMAR, S. Efficacy of ciprofloxacin and amoxicillin removal and the effect on the biochemical composition of *Chlorella vulgaris*. **Bioengineering (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 4, p. 134, 2022.

RIMAYI, Cornelius et al. Contaminants of emerging concern in the Hartbeespoort Dam catchment and the uMngeni River estuary 2016 pollution incident, South Africa. **Science of the Total Environment**, v. 627, p. 1008-1017, 2018.

RITZ, C. et al. Dose-response analysis using R. **PloS one**, v. 10, n. 12, p. e0146021, 2015.

SCHUPP, T. et al. A review of the environmental degradation, ecotoxicity, and bioaccumulation potential of the low molecular weight polyether polyol substances. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, v. 244, p. 53–111, 2018.

SHUKLA, A.; TRIVEDI, S. P. Anionic surfactant, linear alkyl benzene sulphonate induced oxidative stress and hepatic impairments in fish *Channa punctatus*. **Proceedings of the Zoological Society**, v. 71, n. 4, p. 382–389, 2018.

SILVA, A. et al. Impact of excipients in the chronic toxicity of fluoxetine on the alga *Chlorella vulgaris*. **Environmental technology**, v. 35, n. 21–24, p. 3124–3129, 2014.

SILVA, S. R. et al. Toxicity for Aquatic Organisms of Antiretroviral Tenofovir Disoproxil. **Journal of environmental protection**, v. 10, n. 12, p. 1565–1577, 2019.

SOUZA, C. R. DE et al. Ecotoxicological studies of direct and indirect genotoxicity with *Artemia*: a integrative review. **Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering**, v. 59, n. 6, p. 305–320, 2024.

SOUZA, C. R. et al. Environmental elimination estimate and literature review of ecotoxicological aspects of the main widely used antiretrovirals in Brazil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 10, p. e368111032975, 2022.

SOUZA-SILVA, G. et al. Toxicity of the antiretrovirals tenofovir disoproxil fumarate, lamivudine, and dolutegravir on *Cyanobacterium Microcystis novacekii*. **Water**, v. 17, n. 6, p. 815, 2025.

SOUZA-SILVA, G. et al. Toxicological evaluation of antiretroviral Tenofovir Disoproxil Fumarate on the mollusk *Biomphalaria glabrata* and its hemocytes. **Science of the Total Environment**. v. 891: p. 164484, 2023.

TAHERAN, M. et al. Emerging contaminants: Here today, there tomorrow! **Environmental Nanotechnology Monitoring & Management**, v. 10, p. 122–126, 2018.

TUREK, M. et al. Can pharmaceutical excipients threaten the aquatic environment? A risk assessment based on the Microtox® biotest. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 28, n. 18, 2023.

UNAIDS. **Fact Sheet 2024**. Geneva: UNAIDS, 2024.

UNITED NATIONS. GHS. **Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals**. 10th Revised Edition, United Nations, New York and Geneva, 2023.

UNITED NATIONS. **Progress on household drinking water, sanitation and hygiene 2000-2023: Special focus on achieving universal access to safely managed services**. Geneva: World Health Organization and United Nations Children's Fund (UNICEF), 2023.

WALLACE, V. J. et al. Bacteria exposed to antiviral drugs develop antibiotic cross-resistance and unique resistance profiles. **Communications biology**, v. 6, n. 1, 2023.

WANG, Y. et al. Effects of yttrium and phosphorus on growth and physiological characteristics of *Microcystis aeruginosa*. **Journal of Rare Earths**, v. 36, n. 7, p. 781–788, 2018.

WETZEL, R. G. *Limnology: lake and river ecosystems*. 3rd ed. San Diego: Academic Press, 2001.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Essential Medicines List**. 20th ed. Geneva, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/groups/expert-committee-on-selection-and-use-of-essential-medicines/essential-medicines-lists>.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global guidance on criteria and processes for validation: elimination of mother-to-child transmission of HIV, syphilis and hepatitis B virus**. 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/en/documents/global-guidance-criteria-and-processes-validation-elimination-motherchild-transmission>.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION .**Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first and second addenda**. Geneva: World Health Organization, 2022.

WOOD, T.P. et al. The Occurrence of Anti-Retroviral Compounds Used for HIV Treatment in South African Surface Water. **Environmental Pollution**. v. 199, p. 235–243, 2015.

WROŃSKI, M. et al. Electrochemical removal of antiretroviral drug - raltegravir from aquatic media: Multivariate optimization, degradation studies and transformation products characterization. **Journal of environmental management**, v. 370, n. 122584, p. 122584, 2024.

XIAN, X. et al. Cyanobacteria in late lag and exponential phases suit different pre-chlorination and coagulation strategies. **Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)**, v. 366, n. 125427, p. 125427, 2025.

XIAO, M.; LI, M.; REYNOLDS, C. S. Colony formation in the cyanobacterium *Microcystis*. Biological reviews of the **Cambridge Philosophical Society**, v. 93, n. 3, p. 1399–1420, 2018.

ZENKER, A. et al. Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. **Journal of environmental management**, v. 133, p. 378–387, 2014.

ZHANG, Y. et al. The influence of four pharmaceuticals on *Chlorella pyrenoidosa* culture. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1624, 2019.

ZHENG, H. et al. Cultivation of *Chlorella vulgaris* in manure-free piggery wastewater with high-strength ammonium for nutrients removal and biomass production: Effect of ammonium concentration, carbon/nitrogen ratio and pH. **Bioresource technology**, v. 273, p. 203–211, 2019.

CAPÍTULO 3

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A formulação farmacêutica contendo raltegravir potássico (MCR) (isentress®), utilizada neste estudo, apresentou toxicidade aguda, com efeitos significativos na inibição do crescimento celular da cianobactéria *M. novacekii*. Os resultados sugerem que os efeitos tóxicos do RAL podem estar relacionados à sua estrutura molecular e aos excipientes presentes na formulação. Embora *C. vulgaris* e *A. salina* tenham apresentado maior tolerância, com crescimento exponencial observado na microalga, os dados evidenciam respostas espécie-específicos e ressaltam a importância da utilização de diferentes modelos biológicos em estudos ecotoxicológicos.

A toxicidade do MCR foi aproximadamente 2,13 vezes maior quando combinado com MCD, em relação ao MCR isolado sobre *M. novacekii*, indicando um possível efeito sinérgico entre os compostos. Este fenômeno destaca a importância de se avaliarem combinações de ARV, uma vez que, tais associações refletem situações reais de descarte e de presença simultânea no ambiente. Adicionalmente, os excipientes presentes nas formulações farmacêuticas também podem modular a toxicidade dos fármacos, reforçando a complexidade dessas interações.

Embora o MCR tenha demonstrado maior toxicidade apenas para a cianobactéria, a avaliação de risco ambiental indicou que o RAL, mesmo apresentando baixa toxicidade para *C. vulgaris* e *A. salina*, pode ser classificado como de alto risco ambiental nos cenários avaliados. Esses resultados evidenciam a necessidade do uso racional de medicamentos, do descarte adequado, do monitoramento ambiental contínuo e da inclusão dos fármacos como contaminantes prioritários nas regulamentações ambientais brasileiras, além da urgência por melhorias nos sistemas de tratamento de efluentes.

Além dos efeitos ecotoxicológicos diretos, os ARV têm sido associados ao aumento da resistência microbiana, evidenciando um risco adicional à saúde pública e à eficácia de tratamentos médicos essenciais. Essa dinâmica preocupa não apenas pela possibilidade de comprometimento do tratamento de infecções humanas e animais, mas também pelo potencial de disseminação de genes de resistência em ambientes aquáticos, especialmente em regiões com infraestrutura sanitária deficiente.

Sob a perspectiva da Saúde Única, a presença contínua e crescente de ARV no meio ambiente exige ações coordenadas e estratégicas. A contaminação de águas superficiais pode impactar diretamente a fauna aquática, a cadeia alimentar e, consequentemente, a saúde humana, sobretudo em populações que dependem desses recursos naturais para consumo e subsistência.

Portanto, os achados deste trabalho contribuem para a ampliação do conhecimento científico sobre os impactos ambientais de ARV, além de fornecer subsídios para decisões regulatórias, estratégias de (eco)farmacovigilância e medidas de sustentabilidade ambiental, frente a crescente medicalização da sociedade. Investigações futuras devem considerar ensaios crônicos, abordagens multiespécies e investigações moleculares, a fim de subsidiar políticas que protejam os ecossistemas e a saúde coletiva.

A ciência desempenha papel fundamental na construção de políticas públicas e na gestão ambiental e sanitária. Estudos como este são fundamentais para a promoção de um futuro mais seguro, sustentável e alinhado aos princípios de Saúde Única.

REFERÊNCIAS

- ABAFE, Ovokeroye A. et al. LC-MS/MS determination of antiretroviral drugs in influents and effluents from wastewater treatment plants in KwaZulu-Natal, South Africa. **Chemosphere**, v. 200, p. 660-670, 2018.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12648: Ecotoxicologia aquática** – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). 35p. Rio de Janeiro, 2018.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 16530: Ecotoxicologia aquática** - Toxicidade aguda - Método de teste com *Artemia* sp (Crustacea, Brachiopoda). Associação Brasileira de Normas Técnicas, p. 1–24, 2021.
- ADEOLA, A. O.; FORBES, P. B. C. Antiretroviral Drugs in African Surface Waters: prevalence, analysis, and potential remediation. **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 41, n. 2, p. 247-262, 2021.
- ALMEIDA, A. et al. Predicted environmental risk assessment of antimicrobials with increased consumption in Portugal during the COVID-19 pandemic; The groundwork for the forthcoming water quality survey. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 4, p. 652, 2023.
- AMINOT, Yann et al. Inputs and seasonal removal of pharmaceuticals in the estuarine Garonne River. **Marine Chemistry**, v. 185, p. 3-11, 2016.
- ATES, M. et al. Evaluation of alpha and gamma aluminum oxide nanoparticle accumulation, toxicity, and depuration in *Artemia salina* larvae: Al₂O₃NP and *Artemia Salina* Larvae. **Environmental toxicology**, v. 30, n. 1, p. 109–118, 2015.
- AZRA, M. N. et al. Trends and new developments in *Artemia* research. **Animals: an open access journal from MDPI**, v. 12, n. 18, p. 2321, 2022.
- BERTAGNOLIO, S. et al. Clinical impact of pretreatment human immunodeficiency virus drug resistance in people initiating nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor–containing antiretroviral therapy: A systematic review and meta-analysis. **The journal of infectious diseases**, v. 224, n. 3, p. 377–388, 2021.
- BERTOLETTI, Eduardo. Controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no estado de São Paulo. 2.ed. São Paulo: **CETESB**, 2008.
- BHAVYASRI, K. et. Al. Development and Validation of Forced Degradation Studies of Raltegravir using RP-HPLC and Characterization of Degradants by LC-MS/MS. **J. Pharm. Sci. & Res.**, 2015, Vol. 7(9), p. 685-689.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Pharmaceutical drugs in the environment. **Quimica nova**, v. 26, n. 4, p. 523–530, 2003.
- BLONK, M. I. et al. Raltegravir in HIV-1-infected pregnant women: Pharmacokinetics, safety, and efficacy. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 61, n. 5, p. 809–816, 2015.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de HIV/AIDS, Tuberculose, Hepatites Virais e Infecções Sexualmente Transmissíveis. **Boletim Epidemiológico de HIV/Aids**, número especial, 2024.

BRASIL. Decreto nº 10.388, de 5 de junho de 2020. Regulamenta o art. 33 da Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010, que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos, para dispor sobre a logística reversa de medicamentos domiciliares vencidos ou em desuso, industrializados e manipulados, destinados ao consumo humano, de uso ambulatorio, e os seus resíduos, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 8 jun. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS. **Relatório de Recomendação nº 288: Raltegravir para primeira linha de tratamento de HIV. 2017**. Brasília, DF, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Portaria SECTICS/MS nº 38, de 3 de julho de 2023. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 5 jul. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Complexo da Saúde. **Relatório nº 401: Raltegravir 100 mg granulado para profilaxia da transmissão vertical do HIV em crianças com alto risco de exposição ao HIV**. Junho de 2023b. Disponível em: https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/relatorios/2023/20230321_resoc_401_raltegravir_hiv_cp-12.pdf. Acesso em: 8 jan. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Complexo da Saúde. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde. **Relatório de Recomendação: Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos**. Módulo 1: Tratamento. n. 853. 2023c

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Complexo da Saúde. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde. **Relatório de Recomendação: Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos**. Módulo 1: Tratamento. n. 853. 2023d

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente Departamento de HIV/AIDS, Tuberculose, Hepatites Virais e Infecções Sexualmente Transmissíveis (DATHI/SVSA/MS). **Solicitação de Acesso à Informação. Plataforma "Fala.BR". Protocolo NUP nº 25072.032822/2024-12. Formulário: resposta ao cidadão**. Disponível em: <saude.gov.br>. Recebido em 18/06/2024b, 16:37.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. **Ofício circular nº 47/2019/CGHAV/DCCI/SVS/MS**. Brasília, DF, 6 dez. 2019.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento - SNS. **Panorama do Saneamento Básico no Brasil 2021**. Brasília, DF, 2021.

BRIERLEY, A. S. Plankton. **Current biology: CB**, v. 27, n. 11, p. R478–R483, 2017.

CAMPBELL, P. G. C. et al. Ecotoxicology. [s.l.] **Cambridge University Press**, 2022.

CAMPOS, M. M. C. et al. Evaluation of the capacity of the cyanobacterium *Microcystis novaceki* to remove atrazine from a culture medium. **Journal of environmental science and health**. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes, v. 48, n. 2, p. 101–107, 2013.

CHARPENTIER, C. et al. Future of antiretroviral drugs and evolution of HIV-1 drug resistance. **Viruses**, v. 15, n. 2, p. 540, 2023.

CID, R. S. et al. Toxicity of antiretrovirals on the sea urchin *Echinometra lucunter* and its predicted environmental concentration in seawater from Santos Bay (Brazilian coastal zone). **Resources**, v. 10, n. 11, p. 114, 2021.

CONNON, R. E.; GEIST, J.; WERNER, I. Effect-based tools for monitoring and predicting the ecotoxicological effects of chemicals in the aquatic environment. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 9, p. 12741–12771, 2012.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 mar. 2005.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 maio 2011.

CORONADO-REYES, J. A. et al. *Chlorella vulgaris*, a microalgae important to be used in Biotechnology: a review. **Food Science and Technology**, v. 42, 2022.

COSTA, R. C. et al. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Quim. Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

DE SOUZA, C. R. et al. Ecotoxicity of Entecavir in *Aliivibrio fischeri*, *Microcystis novacekii*, *Artemia salina*, and *Biomphalaria glabrata*. **Journal of chemical health and safety**, 2025.

DINIZ, J. S. et al. The toxic effects of the antiretroviral nevirapine and a nevirapine-based drug for aquatic organisms. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. 19211225014, 2022.

DRUGBANK. Raltegravir. **DrugBank**, 2025. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB06817>. Acesso em: 04 mar. 2024.

EI-BESTAWY, E. A.; AB EI-SALAM, A. L.; MANSY, A. E. R. Potencial use of environmental cyanobacterial species in bioremediation of lindane-contaminated effluents. **International Biodeterioration& Biodegradation, Barking**, v. 59, p. 180-192, Apr. 2007.

EMA - European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use. **Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use**. London, 21 March 2024. Disponível em: <<https://www.ema.europa.eu/en/environmental-risk-assessment-medicinal-products-human-use-scientific-guideline>>. Acesso: 20 jun. 24.

ESCHER, M.A.S. et al. Problemática Ambiental Da Contaminação Dos Recursos Hídricos Por Fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais (Online)**, n. 51, p. 141–148, 2019.

EXPÓSITO, N. et al. Performance of *Chlorella vulgaris* exposed to heavy metal mixtures: Linking measured endpoints and mechanisms. **International journal of environmental research and public health**, v. 18, n. 3, p. 1037, 2021.

FAYAZ, T. K. S. et al. Structural analysis of anti-retroviral drug raltegravir and its potential impurity C: investigation of solubility and stability. **CrystEngComm**, v. 26, n. 4, p. 517–531, 2024.

FDA. U. S. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Environmental Assessment of Human **Drug and Biologics Applications**. Washington, July 1998. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidancedocuments/environmental-assessment-human-drug-and-biologics-applications>. Acesso em: 8 maio 2024.

FDA. U.S. Department of Health and Human Services. Center for Drug Evaluation and Research. Center for Biologics Evaluation and Research. **Guidance for Industry**. Washington, DC: U.S. Food and Drug Administration, 2011.

FERNÁNDEZ, L.P. et al. Bioaccumulation of abacavir and efavirenz in *Rhinella arenarum* tadpoles after exposure to environmentally relevant concentrations. **Chemosphere**. v. 301: p. 134631, 2022.

FERREIRA, B. E. G.; DIAS JÚNIOR, W. Ensaio de toxicidade com artemia salina expostas ao glifosato, mancozebe, fipronil e suas misturas. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, n. 11, p. 1626–1653, 2023.

FERREIRA, F. A. G. et al. Arsenic tolerance of *Microcystis novacekii* (Komárek-Compère, 1974) and its arsenic decontamination potential. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 61, n. 0, 2018.

FERREIRA, F. A. G. **Toxicidade e remoção de arsênio pela cianobactéria *Microcystis novacekii***. [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2013.

FIORANTE, I. A. **Biodegradação/bioacumulação de fármacos pela cianobactéria *Microcystis novacekii* coletada no Parque Estadual do Rio Doce-MG**. [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2013.

FUNKE, Jan; PRASSE, Carsten; TERNES, Thomas A. Identification of transformation products of antiviral drugs formed during biological wastewater treatment and their occurrence in the urban water cycle. **Water research**, v. 98, p. 75-83, 2016.

GAJARDO, G. M.; BEARDMORE, J. A. The brine shrimp artemia: adapted to critical life conditions. **Frontiers in physiology**, v. 3, p. 185, 2012.

GANDHI, R. T. et al. Antiretroviral drugs for treatment and prevention of HIV infection in adults: 2022 Recommendations of the international antiviral society-USA panel. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v. 329, n. 1, p. 63, 2023.

GAZOLA, L. *Análise das legislações estaduais brasileiras sob ensaios ecotoxicológicos como ferramenta no controle de lançamento de efluentes industriais*. 2020. 103 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020

GIEBUŁTOWICZ, J.; NAŁĘCZ-JAWECKI, G. Occurrence of immunosuppressive drugs and their metabolites in the sewage-impacted Vistula and Utrata Rivers and in tap water from the Warsaw region (Poland). **Chemosphere**, v. 148, p. 137–147, 2016.

GODOY, A.A. & KUMMROW, F. What do we know about the ecotoxicology of pharmaceutical and personal care product mixtures? A critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 47, n. 16, p. 1453–1496, 2017.

GOMES, M.P. et al. Do anti-HIV drugs pose a threat to photosynthetic microorganisms? **Chemosphere**, v. 307(2): p. 135796, 2022.

GONZÁLEZ-PLEITER, M. et al. Toxicity of five antibiotics and their mixtures towards photosynthetic aquatic organisms: implications for environmental risk assessment. **Water Research**, v. 47, n. 6, p. 2050-2064, 2013.

HASSAN, M. et al. Biomonitoring detoxification efficiency of an algal-bacterial microcosm system for treatment of coking wastewater: Harmonization between *Chlorella vulgaris* microalgae and wastewater microbiome. **Science of the Total Environment**, v. 677, p. 120–130, 2019.

HASSAN, S. H. A. et al. Toxicity assessment using different bioassays and microbial biosensors. **Environment international**, v. 92–93, p. 106–118, 2016.

HERATH, C. H.; GANEHENEGE, M. Y. U. **Growth, biomass production, pollutant removal capacity of *Chlorella vulgaris* cultivated in water polluted with nutrients (PO₄³⁻ and NO₃⁻) and heavy metal ions (Cd²⁺ and Pb²⁺); A strategy for bioremediation, CO₂ utilization and simultaneous biodiesel productivity**. 2023. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-2898090/v1>>.

HODGSON, E. **Introduction to toxicology. A Textbook of Modern Toxicology** Wiley, 30 Jan. 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/0471646776.ch1>>

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Demográfico 2022**. Rio de Janeiro: IBGE, 2022.

JEYAVANI, J. et al. Toxicity evaluation of polypropylene microplastic on marine microcrustacean *Artemia salina*: An analysis of implications and vulnerability. **Chemosphere**, v. 296, n. 133990, p. 133990, 2022.

KALČÍKOVÁ, G. et al. *Artemia salina* acute immobilization test: a possible tool for aquatic ecotoxicity assessment. **Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research**, v. 66, n. 4, p. 903–908, 2012.

KAR, S. et al. Ecotoxicological assessment of pharmaceuticals and personal care products using predictive toxicology approaches. **Green Chemistry**, v. 22, p. 1458–1516, 2020.

KHAN, A. H. A.; BARROS, R. Pharmaceuticals in water: Risks to aquatic life and remediation strategies. **Hydrobiology**, v. 2, n. 2, p. 395–409, 2023.

K'OREJE, K. O. et al. Occurrence patterns of pharmaceutical residues in wastewater, surface water and groundwater of Nairobi and Kisumu city, Kenya. **Chemosphere**, v. 149, p. 238-244, 2016.

KUDU, I. et al. Antiretrovirals (ARVs) in the environment. In: **Emerging Freshwater Pollutants**. [s.l.] Elsevier, 2022. p. 227–239.

LE, V. G. et al. Ecotoxicological response of algae to contaminants in aquatic environments: a review. **Environmental chemistry letters**, v. 22, n. 2, p. 919–939, 2024.

LIEDTKE, M. D. et al. Long-term efficacy and safety of raltegravir in the management of HIV infection. **Infection and drug resistance**, v. 7, p. 73–84, 2014.

LO NOSTRO, P. et al. Specific anion effects in *Artemia salina*. **Chemosphere**, v. 135, p. 335–340, set. 2015.

MAHAYE, N.; NDEKE MUSEE. Effects of two antiretroviral drugs on the crustacean *Daphnia magna* in river water. **Toxics**, v. 10, n. 8, p. 423, 2022.

MAHMOOD, A.R. et al. Detection of Antibiotics in Drinking Water Treatment Plants in Baghdad City, Iraq. **Advances in Public Health**, v. 2019, n. 10, 2019.

MARZABAL, A. L. DE F. et al. Medicamentos antirretrovirais: concentração ambiental estimada e avaliação de risco ecológico em Estações de Tratamento de Esgotos de Cubatão, São Paulo, Brasil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e52111427595, 2022.

MCCARTY, L. S.; BORGERT, C. J.; BURGOON, L. D. Evaluation of the inherent toxicity concept in environmental toxicology and risk assessment. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 39, n. 12, p. 2351–2360, 2020.

MELO S. A. S., TROVO A. G., BAUTITZ I. R., NOGUEIRA R. F. P. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. **Quím Nova**, v.32, n.1, p.188-197, 2009.

MELVIN, S. D.; WILSON, S. P. The utility of behavioral studies for aquatic toxicology testing: A meta-analysis. **Chemosphere**, v. 93, n. 10, p. 2217–2223, 2013.

MINGUEZ, Laetitia et al. Toxicities of 48 pharmaceuticals and their freshwater and marine environmental assessment in northwestern France. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 4992-5001, 2016.

MLUNGUZA, N.Y. et al. Determination of selected antiretroviral drugs in wastewater, surface water and aquatic plants using hollow fibre liquid phase microextraction and liquid chromatography - tandem mass spectrometry. **Journal Of Hazardous Materials**. v. 382: p. 121067, 2020.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química nova**, 2017.

MSD. MERCK SHARP & DOHME Farmacêutica Ltda. **Isentress: bula do profissional de saúde**. São Paulo, 2023.

MUNZHELELE, E. P. et al. Pharmaceutical contaminants in wastewater and receiving water bodies of South Africa: A review of sources, pathways, occurrence, effects, and geographical distribution. **Water**, v. 16, n. 6, p. 796, 2024.

MURRAY, Christopher JL et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629-655, 2022.

NAKAMURA, T. et. al. Conversion of raltegravir carrying a 1,3,4-oxadiazole ring to a hydrolysis product upon pH changes decreases its antiviral activity. **PNAS Nexus**, 2023.

NANNOU, C. et al. Antiviral drugs in aquatic environment and wastewater treatment plants: A review on occurrence, fate, removal and ecotoxicity. **Science of the Total Environment**, v. 699, p. 134322, 2020.

NCBI. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Raltegravir. PubChem, 2023. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54671008> Acesso em: 14 jan. 2024

NCUBE, S. et al. Environmental fate and ecotoxicological effects of antiretrovirals: a current global status and future perspectives. **Water Research**. v. 145: p. 231-247, 2018.

NGUMBA, E. et al. Occurrence of selected antibiotics and antiretroviral drugs in Nairobi River Basin, Kenya. **Science of The Total Environment**, 539, 206–213, 2016.

NIBAMUREKE, U. M. C.; WAGENAAR, G. M. Histopathological changes in *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) ovaries after a chronic exposure to a mixture of the HIV drug nevirapine and the antibiotics sulfamethoxazole and trimethoprim. **Chemosphere**, v. 274, n. 129900, p. 129900, 2021.

NTUNGWE, N. E. et al. Artemia species: **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, n. 24, p. 2892–2908, 2020.

NUNES, B. S. et al. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. **Environmental Pollution**, v. 144, n. 2, p. 453–462, 2006.

OECD. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guidelines for testing chemicals freshwater alga and cyanobacteria growth inhibition test. 201.** Paris: OECD Publishing, 2011.

OECD. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Chemical Safety and Biosafety Progress Report No. 45**, February 2024. Paris: OECD Publishing, 2024. Disponível em: www.oecd.org/chemicalsafety/ Acesso em: 20 abr. 2024

OLKER, J.H. et al. The ECOTOXicology Knowledgebase: a curated database of ecologically relevant toxicity tests to support environmental research and risk assessment. **Environmental Toxicology And Chemistry**. v. 41, n. 6, p. 1520-1539, 2022.

OMOTOLA, E. O. et al. **Ecotoxicological assays of selected and potentiated antiretroviral and antibiotics.** 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-1204100/v1>>.

OMOTOLA, E. O. et al. Environmental risk characterization of an antiretroviral (ARV) lamivudine in ecosystems. **International journal of environmental research and public health**, v. 18, n. 16, p. 8358, 2021.

PATEL, M. et al. Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: Chemistry, occurrence, effects, and removal methods. **Chemical reviews**, v. 119, n. 6, p. 3510–3673, 2019.

POMPÊO, M. et al. **Aspectos da ecotoxicidade em ambientes aquáticos**. São Paulo: Instituto Biociências, Universidade de São Paulo, p. 274, 2022.

PRASSE, C.; TERNES, T. A. Application of orbitrap mass spectrometry for the identification of transformation products of trace organic contaminants formed in the environment. In: **Comprehensive Analytical Chemistry**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 263–282.

QVIA. **Global Use of Medicines: Outlook to 2024**. Durham, NC: IQVIA Institute for Human Data Science, 2023. 100 p.

RAJABI, S. et al. Artemia salina as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **Daru: journal of Faculty of Pharmacy**, Tehran University of Medical Sciences, v. 23, p. 20, 2015.

RAJIVGANDHI, G. et al. Green microalgal strain Chlorella vulgaris isolated from industrial wastewater with remediation capacity. **Environmental technology & innovation**, v. 28, n. 102597, p. 102597, 2022.

RAMOS, Leonardo Teixeira et al. Predicted environmental concentration (PEC), environmental risk assessment (ERA) and prioritization of antiretroviral drugs (ARVs) in seawater from Guarujá (Brazilian coastal zone). **Marine Environmental Research**, p. 106964, 2025.

RIBEIRO, R. F. L. et al. Evaluation of the potential of microalgae Microcystis novacekii in the removal of Pb²⁺ from an aqueous medium. **Journal of hazardous materials**, v. 179, n. 1–3, p. 947–953, 2010.

RIMAYI, Cornelius et al. Contaminants of emerging concern in the Hartbeespoort Dam catchment and the uMngeni River estuary 2016 pollution incident, South Africa. **Science of the Total Environment**, v. 627, p. 1008-1017, 2018.

ROBSON, L.; BARNHOORN, I. E. J.; WAGENAAR, G. M. The potential effects of efavirenz on Oreochromis mossambicus after acute exposure. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 56, p. 225–232, 2017.

SCARSI, K. K. et al. HIV-1 integrase inhibitors: A comparative review of efficacy and safety. **Drugs**, v. 80, n. 16, p. 1649–1676, 2020.

SILVA, S. R. et al. Toxicity for Aquatic Organisms of Antiretroviral Tenofovir Disoproxil. **Journal Of Environmental Protection**, v. 10, n. 12, p. 1565-1577, 2019.

SINGLA, A.; SANKAR, K. M.; SINGH, Y. Ecotoxicology: Methods and risks. In: Handbook of Nanomaterials and Nanocomposites for Energy and Environmental Applications. Cham: **Springer International Publishing**, 2021. p. 3373–3391.

SOLOVCHENKO, A.E; et al. Approaches to rapid screening of pharmaceutical xenobiotic effects on microalgae via monitoring of photosynthetic apparatus condition. **Journal of Applied Phycology**, v. 34. p. 1-9, 2022.

SOUZA, C. R. et al. Environmental elimination estimate and literature review of ecotoxicological aspects of the main widely used antiretrovirals in Brazil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 10, p. e368111032975, 2022.

SOUZA-SILVA, G. et al. Toxicity of the antiretrovirals tenofovir disoproxil fumarate, lamivudine, and dolutegravir on Cyanobacterium Microcystis novacekii. **Water**, v. 17, n. 6, p. 815, 2025.

SOUZA-SILVA, G. et al. Toxicological evaluation of antiretroviral Tenofovir Disoproxil Fumarate on the mollusk Biomphalaria glabrata and its hemocytes. **Science of the Total Environment**. v. 891: p. 164484, 2023.

SOUZA-SILVA, G. et al. **Using the freshwater snail Biomphalaria glabrata (Say, 1818) as a biological model for ecotoxicology studies: a systematic review**. 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-2058359/v1>>.

TANG, Z. et al. Ecological risk assessment of aquatic organisms induced by heavy metals in the estuarine waters of the Pearl River. **Scientific Reports**. v. 13: p. 1-12, 2023.

TARAZONA, J. V. Ecotoxicology. In: **Encyclopedia of Toxicology**. [s.l.] Elsevier, 2023. p. 13–18.

UN. UNITED NATIONS. **Progress on household drinking water, sanitation and hygiene 2000-2023: Special focus on achieving universal access to safely managed services**. Geneva: World Health Organization and United Nations Children's Fund (UNICEF), 2023.

UNAIDS. Fact Sheet 2024. Geneva: UNAIDS, 2024. Disponível em: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_en.pdf?utm_source=chatgpt.com. Acesso em 15 jan. 2025.

UNAIDS. **Global AIDS update 2016**. Geneva: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS, 2016.

UNECE. UNITED NATIONS ECONOMIC COMMISSION FOR EUROPE. **GHS (Rev.10)** (2023). Disponível em: <https://unece.org/transport/dangerous-goods/ghs-rev10-2023>. Acesso em: 10 mar. 2024.

UNITED NATIONS. GHS. **Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals**. 10th Revised Edition, United Nations, New York and Geneva, 2023.

VIGHI, M.; VILLA, S. Ecotoxicology: The challenges for the 21st century. **Toxics**, v. 1, n. 1, p. 18–35, 2013.

WALLACE, V. J. et al. Bacteria exposed to antiviral drugs develop antibiotic cross-resistance and unique resistance profiles. **Communications biology**, v. 6, n. 1, 2023.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. (2023). **Epidemiological Fact Sheet: Global and WHO regional HIV statistics, 2023**. WHO Global HIV, Hepatitis and STIs Programmes. <https://cdn.who.int/media/docs/default-source/hq-hiv-hepatitis-and-stis-library/j0294-who-hiv-epi-factsheet-v7.pdf>

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Essential Medicines List. 20th ed.** Geneva, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/groups/expert-committee-on-selection-and-use-of-essential-medicines/essential-medicines-lists>.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global guidance on criteria and processes for validation: elimination of mother-to-child transmission of HIV, syphilis and hepatitis B virus.** 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/en/documents/global-guidance-criteria-and-processes-validation-elimination-motherchild-transmission>. WOOD, T.P. et al. The Occurrence of Anti-Retroviral Compounds Used for HIV Treatment in South African Surface Water. *Environmental Pollution*. v. 199, p. 235–243, 2015.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **HIV statistics, globally and by WHO region, 2024.** Disponível em: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/hq-hiv-hepatitis-and-stis-library/j0482-who-ias-hiv-statistics_aw-1_final_ys.pdf?sfvrsn=61d39578_3who

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Update of recommendations on first- and second-line antiretroviral regimens.** Geneva: World Health Organization, 2019.

WILKINSON, J. L. et al. Pharmaceutical pollution of the world's rivers. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 119, n. 8, p. e2113947119, 2022b.

WOOD, T.P. et al. The Occurrence of Anti-Retroviral Compounds Used for HIV Treatment in South African Surface Water. **Environmental Pollution**. v. 199, p. 235–243, 2015.

XIAO, M.; LI, M.; REYNOLDS, C. S. Colony formation in the cyanobacterium *Microcystis*. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, v. 93, n. 3, p. 1399–1420, 2018.

YUSOF, A. M. et al. Assessment of aquatic toxicology dataset using MLR. The 5th Innovation and Analytics Conference & Exhibition (IACE 2021). **Anais...AIP Publishing**, 2021.

ANEXO A - Artigo Científico Publicado

Artigo publicado na revista *International Journal of Biological and Natural Sciences*, como parte dos resultados desta dissertação. Abaixo, apresenta-se a primeira página para referência. A versão completa está disponível em: <https://doi.org/10.22533/at.ed.813532508057>.

v. 5, n. 3, 2025

International Journal of Biological and Natural Sciences

Acceptance date: 29/05/2025

ECOTOXICITY OF THE ANTIRETROVIRAL RALTEGRAVIR ON MICROCYSTIS NOVACEKII, CHLORELLA VULGARIS, AND ARTEMIA SALINA

Laíse Taciane Rodrigues Jardim

Department of Social Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte MG, Brazil

Gabriel Souza-Silva

Department of Social Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte MG, Brazil

Matheus Miranda

Department of Social Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte MG, Brazil

Cléssius Ribeiro de Souza

Department of Social Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte MG, Brazil

Kenia Pedrosa Nunes

Department of Biomedical Engineering and Science, Florida Institute of Technology, Melbourne, FL 32901, USA

Marcos Paulo Gomes Mol

Research and Development Department, Ezequiel Dias Foundation, Belo Horizonte 30510-010, MG, Brazil



All content in this book is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).

Cíntia Aparecida de Jesus Pereira

Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte 31270-901, MG, Brazil

Micheline Rosa Silveira

Department of Social Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte 31270-901, MG, Brazil

Abstract: Raltegravir (RAL), an antiretroviral (ARV) used in HIV treatment, has been detected in aquatic environments, although its ecotoxicological effects are still poorly understood. The aim of this study was to assess the toxicity of the RAL-K (MCR) formulation, both alone and in combination with a dolutegravir-containing medication (MCD), on the aquatic organisms *Microcystis novacekii*, *Chlorella vulgaris*, and *Artemia salina*, as well as estimate the associated environmental risk. The assays followed ABNT NBR 12648 (2018) and NBR 16530 (2021) standards, with exposures ranging from 6 to 102 mg/L. As a result, the species *M. novacekii* exhibited the highest sensitivity among the tested organisms, with an EC₅₀ of 44.56 ± 1.77 mg/L, being classified as “slightly toxic” (category 3 – GHS). The combination of MCR + MCD intensified the effects, reducing the EC₅₀ to 20.96 ± 0.95 mg/L. In contrast, the microalga *C. vulgaris* exhibited stimulated cell growth, while *A. salina* did not experience significant acute effects (EC₅₀ > 100 mg/L). The ecological risk assessment indicated high risk in all simulated scenarios: Brazil (RQ = 11.0), Portugal (RQ = 6.06), and South Africa (RQ = 381.51). The results suggest that although RAL is classified as slightly toxic to the tested organisms, its environmental concentration could negatively affect aquatic organisms. Additionally, its combined presence with other ARVs could exacerbate these impacts, highlighting the need for environmental monitoring and improvements in effluent treatment systems.

Keywords: Environmental health; Pharmaceutical contamination; Synergistic effect; Environmental risk; Aquatic organisms.