

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANEAMENTO, MEIO AMBIENTE E
RECURSOS HÍDRICOS

**Avaliação do risco ecotoxicológico individual e da mistura
de fármacos detectados em ambientes aquáticos**

Eduarda Oliveira Reis

BELO HORIZONTE

2021

Eduarda Oliveira Reis

**Avaliação do risco ecotoxicológico individual e da mistura
de fármacos detectados em ambientes aquáticos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito à obtenção do título de doutora em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de Concentração: Meio Ambiente

Linha de Pesquisa: Caracterização, prevenção e controle da poluição

Orientadora: Liséte Celina Lange

Co-orientadora: Lucilaine V. S. Santos

BELO HORIZONTE

ESCOLA DE ENGENHARIA DA UFMG

2021

R375a

Reis, Eduarda Oliveira.

Avaliação do risco ecotoxicológico individual e da mistura de fármacos detectados em ambientes aquáticos [recurso eletrônico] / Eduarda Oliveira Reis. – 2021.

1 recurso online (133 f.: il., color.) : pdf.

Orientadora: Liséte Celina Lange.

Coorientadora: Lucilaine Valéria de Souza Santos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.

Apêndice: f. 101-113.

Bibliografia: f. 114-133.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Engenharia sanitária - Teses. 2. Água – Qualidade – Teses. 3. Água potável - contaminação – Teses. 4. Tecnologia Ambiental - Teses. I. Lange, Liséte Celina. II. Santos, Lucilaine Valéria de Souza. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. IV. Título.

CDU: 628(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
[ESCOLA DE ENGENHARIA]
COLEGIADO DO CURSO DE GRADUAÇÃO / PÓS-GRADUAÇÃO EM [SANEAMENTO, MEIO AMBIENTE E RECURSOS
HÍDRICOS]

FOLHA DE APROVAÇÃO

["Avaliação do risco ecotoxicológico individual e da mistura de fármacos detectados em ambientes aquáticos"]

[EDUARDA OLIVEIRA REIS]

Tese de Doutorado] defendida e aprovada, no dia [01 de dezembro de 2021], pela Banca Examinadora designada pelo [Colegiado do Programa de Pós-Graduação **EM SANEAMENTO, MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS**] da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

[Prof. Dr. Juliano José Corbi] - **Membro Externo**]

[USP]

[Prof^a. Dr^a. Daniele Maia Bila] - **Membro Externo**]

[UERJ]

[Prof^a. Dr^a. Miriam Cristina Santos Amaral Moravia] - **Membro Interno**]

[UFMG]

[Prof. Dr. Eduardo Coutinho de Paula] - **Membro Interno**]

[UFMG]

[Prof^a. Dr^a. Lucilaine Valéria de Souza Santos - **Coorientadora**]

[PUC Minas]

[Prof^a. Dr^a. Lisete Celina Lange - **Orientadora**]

[UFMG]

APROVADA PELO COLEGIADO DO PPG SMARH

Sonaly Cristina Rezende Borges de Lima - Coordenadora

Belo Horizonte, 01 de dezembro de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Lucilaine Valéria de Souza Santos, Usuário Externo**, em 01/12/2021, às 16:56, 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 **Lisete Celina Lange, Professora do Magistério Superior**, em 01/12/2021, às 17:07, 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 **Eduardo Coutinho de Paula, Professor do Magistério Superior**, em 01/12/2021, às 17:22, 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 **Daniele Maia Bila, Usuária Externa**, em 02/12/2021, às 08:25, 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 **Miriam Cristina Santos Amaral Moravia, Professora do Magistério Superior**, em 21/12/2021, às 07:19, 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 **Juliano José Corbi, Usuário Externo**, em 01/02/2022, às 00:15, 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 **1115894** e o código CRC **5DD77CBE**.

AGRADECIMENTOS

Ao final dessa jornada, eu não conseguiria expressar o quanto sou grata a Deus por ser a minha força. Obrigada por colocar oportunidades e pessoas tão especiais na minha vida.

Às minhas orientadoras, Liséte e Lucilaine, pelo empenho e amizade ao longo desses anos. Obrigada por confiarem em mim, entendendo os momentos em que eu precisei priorizar o meu trabalho.

Aos meus pais, Marcos e Fátima, às minhas irmãs, Bia e Júlia, e ao meu marido Rafael. Obrigada por me apoiarem desde o início da realização desse sonho, pelo incentivo e apoio em todos os momentos. Amo vocês.

À Universidade Federal de Viçosa pela parceria. Em especial agradeço à professora Ann, a qual eu tenho um profundo carinho e admiração, pela disponibilidade de sempre. Agradeço também aos funcionários do LESA, Priscila e Marcelo, pela recepção e cuidado.

Aos meus amigos que, mesmo à distância, compartilham comigo todas as dificuldades e vitórias dessa trajetória acadêmica. Agradeço em especial à Gemina, ao Alexandre e à Aninha que, de formas diferentes, foram fundamentais para a realização dos ensaios ecotoxicológicos.

À Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade. Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos pelo conhecimento transmitido, apoio e disponibilidade.

Ao Instituto Federal Baiano e ao Instituto Federal do Sul de Minas Gerais, pelo apoio e por disponibilizarem as horas necessárias para a realização deste trabalho.

À FUNASA, pelo financiamento do projeto.

Por fim, agradeço às professoras Miriam Amaral e Daniela Bila, e aos professores Juliano Corbi e Eduardo Coutinho por terem gentilmente aceitado o convite de participação da banca.

RESUMO

A ocorrência de fármacos em ambientes aquáticos e na água para consumo humano tem preocupado a comunidade científica em relação aos possíveis efeitos ao meio ambiente e à saúde pública. Apesar disso, ainda são escassos dados ecotoxicológicos consistentes para esses compostos, principalmente relacionados aos efeitos crônicos. Adicionalmente, grande parte dos estudos concentram-se na avaliação do risco individual dos compostos e, apenas recentemente, são observados esforços para avaliar os efeitos da combinação desses fármacos. Pelo exposto, o objetivo desta tese foi avaliar e modelar o risco ecotoxicológico individual e da mistura de fármacos frequentemente detectados em ambientes aquáticos. Buscando facilitar a apreciação dos dados, a tese foi dividida em capítulos. O desenvolvimento dos capítulos II e III consistiu em selecionar, por meio de uma avaliação preliminar do risco ecotoxicológico e à saúde humana dos fármacos detectados na Região Metropolitana de Belo Horizonte (RMBH), cinco fármacos para a realização de ensaios ecotoxicológicos. Já no capítulo IV, os fármacos selecionados – atorvastatina, valerato de betametasona, loratadina, fenofibrato e prednisona - foram submetidos às análises de toxicidade aguda e crônica com o organismo *Ceriodaphnia dubia*. Além disso, as misturas binárias entre os fármacos escolhidos tiveram a toxicidade aguda estudada, com o objetivo de avaliar a previsibilidade dos modelos de Adição de Concentração e Ação Independente, além de avaliar as possíveis interações nas misturas binárias pelo modelo Índice de Combinação. A partir de tal análise, buscou-se avaliar possíveis efeitos sinérgicos e antagônicos. Os demais capítulos objetivaram introduzir e encerrar a tese, respectivamente, em uma abordagem integradora. Através deste trabalho, evidenciou-se o potencial risco aos organismos aquáticos e à saúde humana pela exposição aos fármacos detectados nos ambientes aquáticos brasileiros. A metodologia de priorização aplicada, baseada nas propriedades físico-química dos fármacos, demonstrou aplicabilidade para o gerenciamento de risco, visto que os fármacos apontados pela metodologia (atorvastatina, fenofibrato, loratadina, betametasona, claritromicina, fluconazol, prednisona e gemfibrozil) foram responsáveis por mais de 75% do risco ecotoxicológico da mistura em grande parte dos cenários avaliados. Nos ensaios de toxicidade aguda, o fármaco loratadina apresentou maior toxicidade (2,33 mg/L) e, nos testes de toxicidade crônica, o fármaco mais tóxico foi o fenofibrato (0,16 mg/L). Os resultados dos testes com as misturas binárias permitiram concluir que os modelos de Adição de Concentração e Ação Independente não foram adequados para prever a toxicidade da mistura, especialmente em baixas concentrações. O modelo do Índice de Combinação mostrou-se uma ferramenta útil para descrever a natureza das interações toxicológicas que ocorrem entre os fármacos. Mesmo concentrações em que nenhum efeito foi observado nos ensaios com os fármacos isolados, causaram efeitos adversos quando em misturas (*something from nothing*). Concluiu-se que a avaliação de risco ecotoxicológico baseada na concentração individual dos fármacos pode subestimar o real impacto desses compostos em ecossistemas aquáticos. Os ensaios com a mistura dos fármacos em concentrações ambientalmente relevantes (0,16 µg/L – 100 µg/L) sugerem que efeitos adversos na sobrevivência e reprodução da *C. dubia* não são induzidos nas concentrações em que esses fármacos são detectados nos ambientes aquáticos.

Palavras-chave: Adição de Concentração; Ação Independente; Índice de Combinação; *Ceriodaphnia dubia*; Modelagem.

ABSTRACT

The occurrence of pharmaceuticals in aquatic environments and in water for human consumption has worried the scientific community in relation to possible effects on the environment and public health. Despite that, consistent ecotoxicological data for these compounds are still scarce, mainly related to chronic effects. Additionally, most studies are focused on evaluating the individual risk of compounds and, only recently, efforts to assess the effects of the combination of these drugs on non-target organisms have been observed. For these reasons, the objective of this thesis was to evaluate and model the individual ecotoxicological risk and the mixture of pharmaceuticals frequently detected in aquatic environments. In order to facilitate data appreciation, the thesis is developed in chapters. Thus, the development of chapters 2 and 3 consists of selecting, through a preliminary assessment of the ecotoxicological risk and human health of the drugs detected in the Metropolitan Region of Belo Horizonte (RMBH), five drugs which had their toxicity tested. In chapter IV, the selected drugs – atorvastatin, betamethasone valerate, loratadine, fenofibrate and prednisone – were submitted to acute and chronic toxicity tests using the organism *Ceriodaphnia dubia*. Additionally, the possible binary mixtures of pharmaceutical compounds had their acute toxicity tested, in order to evaluate the predictability of the Concentration Addition models and Independent Action, in addition to evaluating the possible interactions in binary mixtures using the Combination Index model. It also aimed to assess possible synergistic and antagonistic effects. The other chapters intend to respectively introduce and close the thesis with an integrative approach. The results indicate a potential risk to aquatic organisms and human health from the exposure to pharmaceuticals detected in the Brazilian aquatic environments. The pharmaceuticals identified by the applied prioritization methodology (atorvastatin, fenofibrate, loratadine, betamethasone, clarithromycin, fluconazole, prednisone and gemfibrozil) accounted for more than 75% of the ecotoxicological risk of the mixture in most of the evaluated scenarios, indicating the applicability of these methodologies for the management of risk. Regarding the acute toxicity tests, the most toxic pharmaceutical was loratadine (2.33 mg/L) and, in the chronic toxicity tests, the most toxic drug was fenofibrate (0.16 mg/L). The test results with the binary mixtures allowed us to conclude that the concentration addition and independent action models were not adequate to predict the toxicity of the mixture, especially at low concentrations. The combination index model has proved to be a useful tool to describe the nature of toxicological interactions that occur between drugs. Even concentrations where no effect was observed in the trials with the drugs alone, caused adverse effects when in mixtures (something from nothing). It was concluded that the ecotoxicological risk assessment based on the individual concentration of pharmaceuticals may underestimate the real impact of these compounds on aquatic ecosystems. Tests with the mixture of pharmaceuticals at environmentally relevant concentrations suggest that adverse effects on survival and reproduction of *C. dubia* are not induced at concentrations where these pharmaceuticals are detected in aquatic environments.

Keywords: Concentration Addition; Independent Action; Combination Index; *Ceriodaphnia dubia*; Modeling.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E CONTEXTUALIZAÇÃO	18
1.1	CONTEXTUALIZAÇÃO	19
1.2	JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA	21
1.3	HIPÓTESES	23
1.4	OBJETIVOS.....	24
1.4.1	Objetivo Geral.....	24
1.4.2	Objetivos Específicos.....	24
1.5	REVISÃO DE LITERATURA	25
1.5.1	Ocorrência de fármacos nos ambientes aquáticos brasileiros	25
1.5.2	Avaliação de risco ecotoxicológico e à saúde humana	30
1.5.3	Ocorrência de misturas no meio ambiente	38
1.5.4	Características dos fármacos selecionados	43
1.6	ESTRUTURA DA TESE	47
2	PRIORIZAÇÃO E AVALIAÇÃO PRELIMINAR DO RISCO ECOTOXICOLÓGICO DOS FÁRMACOS DETECTADOS NA REGIÃO METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE.....	48
2.1	INTRODUÇÃO.....	49
2.2	MATERIAIS E MÉTODOS	50
2.2.1	Concentração ambiental dos fármacos	50
2.2.2	Metodologia de priorização dos fármacos	50
2.2.3	Risco ecotoxicológico individual dos fármacos.....	53
2.2.4	Risco ecotoxicológico da mistura de fármacos	54
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
2.3.1	Ocorrência de fármacos nos mananciais de abastecimento	56
2.3.2	Priorização dos fármacos quanto à ocorrência, persistência, bioacumulação e toxicidade.....	56

2.3.3	Risco ecotoxicológico individual dos fármacos.....	59
2.3.4	Risco ecotoxicológico das misturas de fármacos.....	61
2.4	CONCLUSÃO.....	66
3	AVALIAÇÃO PRELIMINAR DO RISCO À SAÚDE HUMANA DOS FÁRMACOS DETECTADOS NA REGIÃO METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE.....	67
3.1	INTRODUÇÃO.....	68
3.2	MATERIAIS E MÉTODOS	69
3.2.1	Concentração dos fármacos	69
3.2.2	Risco à saúde humana dos fármacos.....	69
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
3.3.1	Ocorrência de fármacos nos mananciais de abastecimento e na água tratada ...	71
3.3.2	Avaliação do risco à saúde humana	71
3.4	CONCLUSÃO.....	83
4	RISCO ECOTOXICOLÓGICO INDIVIDUAL E DA MISTURA DOS FÁRMACOS ATORVASTATINA, BETAMETASONA, LORATADINA, PREDNISONA E FENOFIBRATO	84
4.1	INTRODUÇÃO.....	85
4.2	MATERIAIS E MÉTODOS	86
4.2.1	Fármacos testados	86
4.2.2	Ensaio de toxicidade.....	86
4.2.3	Ensaio de sensibilidade.....	87
4.2.4	Avaliação da toxicidade dos fármacos	87
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	90
4.3.1	Ensaio de sensibilidade.....	90
4.3.2	Toxicidade individual dos fármacos	90
4.3.3	Misturas binárias	93
4.3.4	Toxicidade dos fármacos em concentrações ambientalmente relevantes	103
4.4	CONCLUSÃO.....	105

5	APÊNDICE.....	106
6	REFERÊNCIAS.....	119

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-1 Microcrustáceo <i>Ceriodaphnia dubia</i>	32
Figura 1-2 Estrutura molecular do fármaco atorvastatina.....	44
Figura 1-3 Estrutura molecular do fármaco fenofibrato.	44
Figura 1-4 Estrutura molecular do fármaco prednisona.....	45
Figura 1-5 Estrutura molecular do fármaco loratadina.	45
Figura 1-6 Estrutura molecular do fármaco valerato de betametasona.....	46
Figura 1-7 Fluxograma da estrutura da tese: avaliação de risco em níveis.....	47
Figura 2-1 Máximo coeficiente de risco ecotoxicológico dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte.	59
Figura 2-2 Soma das unidades tóxicas dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte.....	61
Figura 2-3 Contribuição média individual dos fármacos para a soma das unidades tóxicas para algas, invertebrados e peixes.....	62
Figura 3-1 Máximo coeficiente do risco à saúde humana dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento e na água tratada da Região Metropolitana de Belo Horizonte.....	73
Figura 3-2 Soma dos coeficientes de risco (RQ) médio dos principais fármacos detectados nos mananciais de abastecimento (à esquerda) e na água tratada (à direita) de seis Estações de Tratamento de Água (ETA) da Região Metropolitana de Belo Horizonte em diferentes	75
Figura 3-3 Coeficiente de risco calculado para a mistura de fármacos detectados nos mananciais de abastecimento e na água tratada das Estações de Tratamento de Água (ETAs) da Região Metropolitana de Belo Horizonte, e eficiência de remoção do risco pelo tratamento.....	79
Figura 3-4 Variação mensal da precipitação total (mm) e do risco da mistura dos fármacos. 81	
Figura 4-1 Comparação entre a porcentagem de imobilização da <i>Ceriodaphnia dubia</i> exposta aos fármacos individualmente e nas misturas binárias. A – Atorvastatina e Prednisona. B – Atorvastatina e Fenofibrato. C – Atorvastatina e Loratadina. D – Loratadina e Fenofibrato. E – Fenofibrato e Prednisona. F – Loratadina e Prednisona.	95
Figura 4-2 Valores de Toxicidade observados (%) e curvas dose-resposta previstas pelos modelos de Concentração de Adição (CA) e Ação Independente (IA) das misturas binárias dos fármacos atorvastatina (ATO), loratadina (LOR), fenofibrato (FEN) e prednisona (PRE).	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-1 Estudos publicados sobre a ocorrência de fármacos em ambientes aquáticos brasileiros.....	27
Tabela 1-2 Estudos de avaliação de risco ecotoxicológico para fármacos detectados em ambientes aquáticos.....	35
Tabela 1-3 Estudos de avaliação de risco à saúde humana para fármacos detectados na água tratada.....	36
Tabela 2-1 Classificação dos fármacos de acordo com os valores de ocorrência, persistência, bioacumulação e toxicidade.....	51
Tabela 2-2 Frequência de detecção (FD) (%) e concentrações máximas (ng/L) detectadas dos fármacos nos mananciais de abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte.....	56
Tabela 2-3 Classificação dos fármacos detectados na Região Metropolitana de Belo Horizonte quanto à ocorrência, persistência, bioacumulação e toxicidade crônica.....	57
Tabela 2-4 Resumo da avaliação do risco ecotoxicológico da mistura de fármacos detectados nos mananciais de abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte.....	64
Tabela 3-1 Grupos etários selecionados e respectivos valores de massa corporal e ingestão de água (CDC, 2002; EPA, 2011)1.....	70
Tabela 3-2 Frequência de detecção (FD) (%) e concentrações máximas (ng/L) detectadas dos fármacos na água tratadas das Estações de Tratamento de Água da Região Metropolitana de Belo Horizonte.....	71
Tabela 3-3 Valores de Acceptable Daily Intake (ADI) ($\mu\text{g}/\text{kg day}$) reportados na literatura e valores do Drinking Water Equivalent Level (DWEL) nas diferentes faixas etárias para os fármacos detectados nos mananciais de abastecimento e na água tratada da Região Metro.....	72
Tabela 4-1 Concentração dos fármacos utilizada nos ensaios com as misturas binárias.....	88
Tabela 4-2 Concentrações de efeito e seus respectivos intervalos de confiança dos fármacos atorvastatina, valerato de betametasona, fenofibrato, loratadina e prednisona obtidas a partir dos ensaios de toxicidade aguda e crônica com o organismo <i>Ceriodaphnia dubia</i>	90
Tabela 4-3 Classificação dos fármacos estudados de acordo com o modo de ação.....	92
Tabela 4-4 Concentrações de efeito (mg/L) observadas experimentalmente, valores do Model Deviation Ration (MDR) calculados para o modelo de adição de concentração e ação	

independente, e Índice de Combinação (CI). Valores de MDR calculados com base em EC50.....	98
Tabela 5-1 Vazão (L/s), etapas do tratamento e tipo de manancial de abastecimento das estações de tratamento de água monitoradas.	107
Tabela 5-2 Propriedades físico-químicas e consumo estimado dos fármacos em estudo.	108
Tabela 5-3 Dados de toxicidade aguda (mg/L) selecionados.	109
Tabela 5-4 Dados de toxicidade crônica (mg/L) selecionados.	112
Tabela 5-5 Resultados completos da avaliação de risco individual dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte.	115
Tabela 5-6 Máxima unidade tóxica (TU) e contribuição (%) (valores médios) dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento das estações de tratamento da Região Metropolitana de Belo Horizonte ¹	116
Tabela 5-7 Coeficiente de risco (RQ) dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento e na água tratada das Estações de Tratamento de Água (ETA) da Região Metropolitana de Belo Horizonte, considerando a faixa etária maior de 18 anos e as concentrações máximas.....	117
Tabela 5-8 Valores do <i>Model deviation ratios</i> (MDR) e Índice de Combinação (CI) para diferentes efeitos das misturas binárias dos fármacos atorvastatina (ATO), loratadina (LOR), fenofibrato (FEN) e prednisona (PRE) no organismo <i>Ceriodaphnia dubia</i>	118

ABREVIATURAS E SIGLAS

- ADI - *Acceptable Daily Intake* (Dose aceitável de ingestão de água)
- AF - *Assessment Factor* (Fator de incerteza)
- BCF – Fator de bioconcentração
- CAS – *Chemical Abstract Services*
- DWI – *Drinking Water Ingestion* (Ingestão de água)
- EC - *Effect Concentration* (Concentração de efeito)
- ECOSAR - *Ecological Structure-Activity Relationships*
- EMEA - *European Medicines Agency*
- EPI - *Estimation Program Interface Suite*
- ETAS - Estações de tratamento de água
- ETES - Estações de Tratamento de Esgotos
- FDA - *Food and Drug Administration*
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- IGAM – Instituto Mineiro de Gestão das Águas
- LC – *Lethal Concentration* (Concentração letal)
- LOAEL - *Lowest-Observed-Adverse-Effect Level* (Nível de menor efeito adverso observado)
- MDR – *Model Deviation Ratio*
- MEC - *Measured Environmental Concentration* (Concentração ambiental medida)
- MTD - *Minimum Therapeutic Dose* (Dose terapêutica mínima)
- NOAEL - *No-Observed-Adverse-Effect Level* (Nível de efeito adverso não observado)
- NOEC - *No Observed Effect Concentration* (Concentração de efeito não observado)
- OPBT - Ocorrência, Persistência, Bioacumulação e Toxicidade
- PBT - Persistência, Bioacumulação e Toxicidade
- PEC - *Predicted Environmental Concentration* (Concentração ambiental prevista)
- PNEC - *Predicted Non-Effect Concentration* (Concentração de efeito não observado)
- QSAR - *Quantitative Structure-Activity Relationships*
- RMBH - Região Metropolitana de Belo Horizonte
- RQ - *Risk Quotient* (Coeficiente de risco)
- SMILES - *Simplified Molecular Input Line Entry System*
- SNIS - Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento
- STU – *Sum of Toxic Units* (Soma das unidades tóxicas)
- SUS - Sistema Único de Saúde
- TDI - Tolerable Daily Intake* (Dose tolerável de ingestão diária)

TU – *Toxic Units* (Unidade tóxica)

USEPA - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América

1 INTRODUÇÃO E CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO

Os fármacos são amplamente utilizados na medicina humana e animal para a recuperação e manutenção da qualidade de vida. Segundo uma estimativa do IQVIA *Institute*, o gasto global com medicamentos atingiu 1,2 trilhões de dólares em 2018 e vai superar 1,5 trilhões de dólares em 2023. Nesse sentido, o Brasil atingiu a 7^o posição no ranking do mercado mundial de medicamentos em 2018 e a expectativa é que em 2023 assuma a 5^o posição, atrás apenas dos Estados Unidos, China, Japão e Alemanha (IQVIA, 2019). Em 2019, o setor industrial farmacêutico brasileiro cresceu 7,9%, aumentando seu faturamento de R\$ 79,6 bilhões para R\$ 85,9 bilhões de reais (ANVISA, 2020).

Após o consumo, esses compostos são excretados e passam a compor os esgotos domésticos e, assim, deveriam ser removidos nas Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs). No entanto, as ETEs, especialmente as que utilizam processos convencionais de tratamento, não são capazes de remover esses compostos completamente (LIU *et al.*, 2017) e, portanto, as ETEs têm sido apontadas como as principais fontes de contaminação ambiental por fármacos (FOCAZIO *et al.*, 2008). Diante desse cenário, estudos em todo o mundo relatam a presença desses compostos em diferentes ambientes aquáticos, em concentrações que variam de nanograma a micrograma por litro (ASHFAQ *et al.*, 2019; CAO *et al.*, 2020; NANTABA *et al.*, 2020; PAPAGIANNAKI *et al.*, 2021). Como grande parte dos ambientes aquáticos são mananciais de abastecimento, os fármacos atingem as Estações de Tratamento de Água (ETAs) e são submetidos às diversas etapas do tratamento. Assim como as ETEs, as ETAs não são projetadas para a remoção desses compostos, e, considerando principalmente a variedade de compostos existentes, elas não removem os fármacos completamente. Dessa forma, a presença de fármacos na água tratada também tem sido relatada por muitos autores (JIANG *et al.*, 2019; PAI *et al.*, 2020; PRAVEENA *et al.*, 2019).

Nesse contexto, destaca-se a importância da ecotoxicologia, ciência que estuda “as modalidades de contaminação do ambiente pelos poluentes naturais ou sintéticos, produzidos por atividades humanas, seus mecanismos de ação e seus efeitos sobre o conjunto de seres vivos que habitam a biosfera” (RADAME, 1977). Diferentemente da toxicologia clássica, cujo principal objetivo é a proteção do ser humano, a ecotoxicologia visa proteger as populações e comunidades de seres vivos nos ecossistemas. A ecotoxicologia aquática, portanto, objetiva a proteção da vida aquática e tem por prática ensaios de toxicidade aguda e de toxicidade crônica. Entende-se por ensaios de toxicidade aguda aqueles que avaliam os efeitos, geralmente rápidos e severos, nos

organismos expostos a um determinado composto em um curto período de tempo. Nos ensaios de toxicidade crônica, no entanto, são observados os efeitos adversos não detectados nos ensaios de toxicidade aguda, quando os organismos são expostos a níveis subletais dos agentes químicos (ZAGATTO E BERTOLETTI, 2008).

Dados ecotoxicológicos para a maioria dos fármacos ainda são escassos, principalmente em relação aos efeitos crônicos (COORS *et al.*, 2018). Os fármacos são constantemente emitidos por diferentes fontes no meio ambiente e, embora seja improvável que baixas concentrações apresentem efeitos tóxicos agudos, a exposição a longo prazo pode provocar efeitos crônicos no crescimento, comportamento e reprodução dos organismos (BECKERS *et al.*, 2018). Importante destacar, ainda, que diferentemente de muitos outros contaminantes ambientais, os fármacos são produzidos para provocarem alterações fisiológicas em humanos e animais e que, portanto, é possível que os mesmos permaneçam biologicamente ativos para outras espécies no meio ambiente (VASQUEZ *et al.*, 2014).

Ademais, ressalta-se que grande parte da avaliação de risco de fármacos detectados em ambientes aquáticos considera as concentrações individuais dos compostos (BOPP *et al.*, 2018). Sabe-se, contudo, que essa não é a realidade presente nos corpos d'água, em que inúmeros compostos ocorrem simultaneamente. Assim, é fundamental a realização de estudos mais consistentes que considerem a avaliação de risco para as misturas ambientais.

Ante o exposto, apresenta-se essa tese de doutorado pela qual se objetiva avaliar e modelar o risco ecotoxicológico individual e da mistura de fármacos frequentemente detectados nos ambientes aquáticos.

1.2 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

Durante a realização do mestrado da autora, monitorou-se mensalmente a ocorrência de 28 fármacos em seis ETAs da RMBH entre os meses de agosto/2016 e agosto/2017. As amostras foram coletadas nos mananciais de abastecimento e na água tratada das ETAs e foram analisadas por meio de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas. Dos fármacos monitorados, 18 fármacos foram detectados nos mananciais de abastecimento e 10 foram detectados na água tratada (REIS *et al.*, 2019). As concentrações reportadas no estudo, muitas vezes superiores às concentrações detectadas em outros países, levantou o questionamento sobre os possíveis riscos ecotoxicológicos e à saúde humana resultantes da exposição a esses compostos.

Nesse contexto, a avaliação de risco surge como um instrumento importante para o gerenciamento ambiental. A sua utilização muitas vezes é dificultada pela limitação de dados, sendo que muitos trabalhos na literatura estimam a exposição a partir de dados de consumo, o que não retrata a concentração real no ambiente aquático. Dessa forma, a utilização de um banco de dados resultante de uma extensa investigação na RMBH garante maior confiabilidade e importância ao trabalho.

Além disso, conforme mencionado anteriormente, dados ecotoxicológicos para grande parte dos fármacos ainda são escassos, especialmente relativos aos efeitos crônicos. Assim, o presente trabalho, traz uma contribuição para a determinação da toxicidade aguda e crônica dos fármacos atorvastatina, loratadina, fenofibrato, prednisona e valerato de betametasona. No processo de seleção dos fármacos, além da avaliação preliminar do risco ecotoxicológico e à saúde humana, priorizou-se fármacos que, apesar de seu elevado consumo, ainda não foram investigados ou são pouco investigados.

Ressalta-se, ainda, que os fármacos selecionados nesse estudo não ocorrem isoladamente nos ambientes aquáticos. Portanto, é essencial identificar os possíveis efeitos resultantes da combinação desses compostos. Grande parte dos trabalhos publicados e as principais diretrizes internacionais para a avaliação de risco consideram o cálculo do risco a partir das concentrações individuais dos fármacos. Quando consideram a mistura, normalmente modelos aditivos são adotados e a possibilidade de interação entre os compostos não é considerada. Nesse sentido, o presente trabalho buscou avaliar os efeitos das misturas binárias dos fármacos selecionados,

considerando 3 diferentes modelos: adição de concentração, ação independente e índice de combinação.

Por fim, ressalta-se que a maioria dos estudos de ecotoxicidade baseiam-se em concentrações superiores às concentrações detectadas em ambientes aquáticos, normalmente nas concentrações de efeito (BEGHIN *et al.*, 2021). A toxicidade aguda e crônica da mistura dos fármacos em concentrações ambientalmente relevantes também foi avaliada em testes com o organismo *Ceriodaphnia dubia*. O presente trabalho entende como concentrações ambientalmente relevantes aquelas detectadas nos ambientes aquáticos brasileiros (REIS *et al.*, 2019), delimitadas entre 0,16 e 100 µg/L.

Portanto, esse trabalho configura-se como uma inovação em termos da avaliação de risco e contribui não somente com a expansão da fronteira do conhecimento, mas também com as futuras aplicações da avaliação de risco, buscando regulamentações mais realistas e que possam contribuir com a proteção do meio ambiente.

1.3 HIPÓTESES

A seguir, apresentam-se as hipóteses testadas nesse trabalho:

- Metodologias de priorização baseadas nas propriedades físico-químicas dos fármacos podem fornecer subsídios para o gerenciamento ambiental do risco ecotoxicológico;
- A mistura entre fármacos resulta em interações sinérgicas e antagônicas que nem sempre podem ser previstas pelo modelo de adição de concentração e ação independente.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo Geral

Avaliar e modelar o risco ecotoxicológico individual e da mistura de fármacos detectados em ambientes aquáticos, bem como o risco à saúde humana.

1.4.2 Objetivos Específicos

Determinar, em termos de toxicidade crônica e aguda, a toxicidade dos fármacos atorvastatina, loratadina, prednisona, fenofibrato e valerato de betametasona;

Avaliar a toxicidade aguda da mistura binária dos fármacos atorvastatina, loratadina, prednisona, fenofibrato, e comparar os efeitos observados com os previstos pelos modelos de adição de concentração (CA) e ação independente (IA);

Identificar e descrever as interações toxicológicas que ocorrem entre os fármacos nas combinações binárias usando o método do Índice de Combinação (CI);

1.5 REVISÃO DE LITERATURA

1.5.1 Ocorrência de fármacos nos ambientes aquáticos brasileiros

No Brasil, o cenário de contaminação ambiental por fármacos é agravado devido aos problemas de saneamento enfrentados pelo país. Segundo dados do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS), 54,08% da população urbana e rural brasileira foi efetivamente atendida por rede coletora de esgoto em 2019. Contudo, somente 49,09% do volume de esgoto gerado foi submetido ao tratamento e, portanto, na maioria das vezes, os efluentes domésticos são lançados diretamente nos corpos d'água (SNIS, 2019). Além disso, medicamentos em desuso ou vencidos são comumente descartados no lixo comum ou em pias e sanitários, agravando o cenário de contaminação. Dados estimados por Quadra e colaboradores (2019), por meio de formulários eletrônicos distribuídos nas diferentes regiões brasileiras, revelaram que 66% dos entrevistados destinam medicamentos para o lixo comum. Outras formas de descarte são devolução para as farmácias (24%), descarte na pia ou sanitário (7%), compartilhamento (2%) e queima (1%). Na cidade de Belo Horizonte, embora o percentual de descarte na lixeira seja menor (52%), observa-se que uma menor porcentagem dos entrevistados devolve os resíduos para pontos de coleta (9%), sendo que aproximadamente um terço dispõe os resíduos na pia ou sanitário (32%) (FERREIRA, RODRIGUES e SANTOS, 2015).

Por fim, ressalta-se o elevado consumo de medicamentos no país. Em um estudo que envolveu 540 brasileiros das 5 regiões, Quadra e colaboradores (2019) reportaram que 64% dos entrevistados praticam a automedicação, principalmente de analgésicos. Analgésicos são comumente vendidos sem prescrição nas farmácias brasileiras e há a veiculação de propagandas incentivando o consumo dessa classe de medicamentos. Em 2019, o princípio ativo mais comercializado foi o cloreto de sódio, utilizado como descongestionante, para limpeza de ferimentos e como veículo para medicamentos injetáveis. Em segundo lugar destaca-se a losartana potássica, utilizada principalmente no tratamento para hipertensão. Em seguida, destacam-se, entre outros, o antidiabético cloridrato de metformina e os analgésicos e anti-inflamatórios nimesulida, ibuprofeno, dipirona, paracetamol (ANVISA, 2020).

A Tabela 1-1 apresenta 26 estudos que relataram a ocorrência de 59 fármacos detectados nas águas superficiais brasileiras. O estado de São Paulo concentra o maior número de estudos (10),

seguido por Minas Gerais (4), Rio de Janeiro (3), Paraná (3), Rio Grande do Sul (2), Maranhão (1) e Amazonas (1).

Tabela 1-1 Estudos publicados sobre a ocorrência de fármacos em ambientes aquáticos brasileiros.

Grupo Terapêutico	Fármaco	Concentração máxima reportada (ng/L)
Analgésico/ Anti-inflamatório	Ibuprofeno	744 ^b , 254 ^c , 130 ^r , 333 ^t , 373 ^v
	Naproxeno	655 ^b , 340 ^g , 100 ^r , 145 ^v , 50 ^w
	Nimesulida	730 ^a
	Paracetamol	30421 ^b , 1716 ^c , 13440 ^m , 6860 ⁿ , 130 ^r
	Ácido acetilsalicílico	930 ^g , 20960 ^m , 5978 ⁿ
	Betametasona	701 ^f , 11960 ^t , 3200 ^z
	Diclofenaco	386 ^b , 463 ^c , 115 ^m , 106 ⁿ , 50 ^r , 364 ^v , 60 ^w , 785 ^x
	Cetoprofeno	620 ^g , 1020 ^t
	Fenazona	33 ^t
	Fenilbutazona	133 ^f , 275 ^t , 130 ^z
Antibióticos	Ácido salicílico	5170 ^g
	Amoxicilina	1284 ⁱ , 8 ⁿ
	Ampicilina	0.45 ⁱ , 1 ⁿ
	Cefalexina	2422 ⁱ , 22 ⁿ
	Ciprofloxacino	119 ⁱ , 7 ⁿ
	Claritromicina	199 ^t
	Danofloxacino	272 ^t
	Enoxacino	386 ^t
	Enrofloxacino	71 ^t , 14 ^z
	Norfloxacino	51 ⁱ , 31 ⁿ , 285 ^t , 130 ^z
	Sulfametoxazol	120 ^c , 106 ⁱ , 46 ⁿ
	Tetraciclina	11 ⁱ
	Trimetoprima	484 ⁱ , 100 ⁿ

Tabela 1-1 (continuação)

Analgésico	Lidocaína	41 ^c
Hormônios	Etinilestradiol	<0.16 ^b , 1480 ^g , 4530 ^k , 4390 ^m , 777 ⁿ , 54 ^o , 64 ^p , 25 ^u , 150 ^y
	17-β-estradiol	15 ^b , 1420 ^g , 31 ^j , 13450 ^k , 6806 ^m , 969 ⁿ , 37 ^o , 63 ^p , 7 ^u , 87 ^y
	Estriol	7 ^h , 38 ⁿ , 2 ^u , 46 ^y
	Estrona	15 ^b , 940 ^g , 600 ^j , 1040 ^k , 5 ⁿ , 39 ^u , 29 ^v , 14 ^y
	Levonorgestrel	663 ^m , 133 ⁿ
	Progesterona	47 ^h , 450 ^k , 195 ^m , 73 ⁿ
	Progesterona	26 ^y , 77 ^b , 48 ^v , 26 ^x
	Testosterona	25 ⁿ
Antidiabéticos	Glibenclamida	120 ^a
Diuréticos	Furosemida	112 ^c
Antifúngicos	Fluconazol	574 ^f , 1413 ⁱ , 4200 ^z
Psiquiátricos	Citalopram	79 ^x
	Amitriptilina	196 ^q , 22 ^x
	Bromazepam	42 ^e
	Bupropiona	1880 ^q
	Carbamazepina	215 ^b , 83 ^c , 543 ^d , 3530 ^q , 659 ^v , 652 ^x
	Clonazepam	198 ^e
	Diazepam	626 ^d , 335 ^e
	Escitalopram	520 ^q
	Fluoxetina	90 ^q
	Sertralina	164 ^x
Trazodona	230 ^q	

Tabela 1-1 (continuação)

Reguladores lipídicos	Atenolol	8199 ^b , 665 ^v
	Atorvastatina	1020 ^t , 510 ^z
	Propranolol	77 ^b , 48 ^v , 26 ^x
	Fenofibrato	40 ^g , 1388 ^t
	Gemfibrozil	70 ^g , 2591 ^s , 899 ^t , 17 ^z
	Metformina	36 ^f , 203 ^t , 36 ^z
Imunossupressantes	Prednisona	50 ^f , 8105 ^t , 3600 ^z
Anti-helmíntico	Albendazol	22 ^c
	Mebendazol	18 ^c
Estimulante	Cafeína	129585 ^b , 13798 ^c , 27000 ^g , 18828 ^l , 127092 ^m , 4823 ⁿ , 1385 ^t , 24961 ^v
Antagonista do receptor H ₂	Loratadina	486 ^t , 2500 ^z
	Cimetidina	120 ^z
Antiulcerosos	Omeprazol	11 ^z

^a Canal São Gonçalo (Rio Grande do Sul) (CALDAS *et al.* 2018); ^b Rio Monjolinho (São Paulo) (CAMPANHA *et al.* 2015); ^c Estuários Anil e Bacanga (Maranhão) (CHAVES *et al.* 2020); ^d Curso d'água receptor de efluente hospitalar (Rio Grande do Sul) (de ALMEIDA *et al.* 2015); ^e Rio Guandu (Rio de Janeiro) (FERREIRA, 2018); ^f Rio Doce (Minas Gerais) (FOUREAUX *et al.* 2019); ^g Rio Iguaçú (Paraná) (IDE *et al.* 2017); ^h Diversos cursos d'água no estado do Rio de Janeiro (KUSTER *et al.* 2009); ⁱ Bacia hidrográfica do rio Atibaia (São Paulo) (LOCATELLI *et al.* 2011); ^j Córrego Rico (São Paulo) (LOPES *et al.* 2010); ^k Rio Iguaçú (Paraná) (MACHADO *et al.* 2014); ^l Amostras coletadas de cursos d'águas de 22 estados brasileiros (MACHADO *et al.* 2016); ^m Bacia hidrográfica do rio Atibaia (São Paulo) (MONTAGNER e JARDIM, 2011); ⁿ Cursos d'água do estado de São Paulo (MONTAGNER *et al.* 2019); ^o Região metropolitana de Belo Horizonte (Minas Gerais) (MOREIRA *et al.* 2009); ^p Rio das Velhas (Minas Gerais) (MOREIRA *et al.* 2011); ^q Rio Atibaia e Ribeirão Anhumas (São Paulo) (PIVETTA *et al.* 2020); ^r Reservatório Lobo (São Paulo) (POMPEI *et al.* 2019); ^s Cursos d'água do estado do Paraná (REICHERT *et al.* 2020); ^t Região metropolitana de Belo Horizonte (Minas Gerais) (REIS *et al.* 2019); ^u Rio Atibaia (São Paulo) (SODRÉ *et al.* 2010); ^v Ribeirão Pirai e Rio Jundiá (São Paulo) (SOUZA *et al.* 2018); ^w Rio Paraíba do Sul (Rio de Janeiro) (STUMPF *et al.* 1999); ^x Rio Negro, Igarapé Mindu e Igarapé do 40 (Amazonas) (THOMAS *et al.* 2014); ^y Rio Piracicaba (São Paulo) (TORRES *et al.* 2015); ^z SANTOS *et al.* (2020).

Conforme pode ser observado na Tabela 1-1, os compostos mais estudados foram a cafeína, o diclofenaco e os hormônios 17 β -estradiol, etinilestradiol e estrona, além do anticonvulsivante carbamazepina. As maiores concentrações estão associadas aos compostos cafeína (129.585 ng/L), paracetamol (30.421 ng/L), ácido acetilsalicílico (20.960 ng/L) e 17 β -estradiol (13.450 ng/L), sendo essas concentrações superiores às reportadas em outros estudos da China (WANG *et al.* 2010; LIN *et al.* 2016; ASGHAR *et al.* 2018; WANG *et al.* 2018), Estados Unidos da América (PADHYE *et al.* 2014; BAI *et al.* 2018), Europa (LÓPEZ-SERNA *et al.* 2010; AZZOUZ AND BALLESTEROS 2013; MILIĆ *et al.* 2018) e América Latina (PEÑA-GUZMÁN *et al.* 2019). De fato, muitos autores destacaram que as concentrações dos fármacos detectadas no Brasil são superiores às reportadas em países desenvolvidos (CHAVES *et al.*, 2020; REIS *et al.*, 2019; POMPEI *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2020; STARLING *et al.*, 2019).

Em relação à água tratada, 14 estudos investigaram a ocorrência de fármacos na água distribuída à população brasileira (CALDAS *et al.* 2013; CALDAS *et al.* 2018; FURTADO e VON MÜHLEN 2015; JARDIM *et al.* 2012; LOPES *et al.* 2010; MACHADO *et al.* 2016; MALDANER E JARDIM 2012; MELO e BRITO 2014; MONTAGNER *et al.* 2019; REIS *et al.* 2019; SODRÉ *et al.* 2010; SOLANO *et al.* 2015; TORRES *et al.* 2015; SANTOS *et al.* 2020). No total, 28 fármacos foram monitorados, sendo que a maioria dos estudos foram concentrados nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul. A maior concentração foi reportada para o fármaco ibuprofeno (625.000 ng/L), seguido pelo atenolol (300.000 ng/L) e paracetamol (200.000 ng/L) (MALDANER e JARDIM, 2012). Os autores investigaram diferentes ETAs da região de Campinas, abastecidas pelos rios Atibaia e Capivari.

Esse cenário de contaminação tem aumentado a preocupação com os riscos potenciais para os organismos aquáticos e para a saúde humana decorrentes da exposição indesejada aos compostos farmacêuticos.

1.5.2 Avaliação de risco ecotoxicológico e à saúde humana

O processo de aprovação para a produção de fármacos requer avaliações rigorosas que levam em consideração a segurança e o risco-benefício relacionado ao consumo do medicamento, a fim de demonstrar sua eficiência e segurança. Assim, comparado a outros poluentes ambientais, a caracterização e o controle dos fármacos são melhor efetuados (WHO, 2012). Ao mesmo tempo, esses compostos são projetados para promover efeitos biológicos em baixas concentrações e para serem persistentes no corpo até que atinjam seus objetivos terapêuticos.

Essas propriedades muitas vezes são responsáveis pela sua bioacumulação e pelo seu potencial para causar efeitos tóxicos nos ecossistemas (FENT *et al.*, 2006). A exposição contínua a baixas concentrações de fármacos pode estar associada a diferentes efeitos nos organismos não-alvo, de acordo com as características dos compostos (LI *et al.*, 2020). Entende-se por organismos não-alvo aqueles organismos expostos aos fármacos nos ambientes aquáticos de forma não intencional.

Nesse sentido, a avaliação de risco consiste em uma importante ferramenta para o gerenciamento ambiental, pois é possível comparar as concentrações ambientais dos compostos com as concentrações de efeito determinadas em ensaios de toxicidade aguda e crônica. Nos ensaios de toxicidade aguda, são avaliados os efeitos rápidos e severos do agente químico nos organismos expostos em um curto período de tempo, tais como mortalidade, no caso dos peixes, ou imobilidade, no caso dos invertebrados (ZAGATTO E BERTOLETTI, 2008). Os ensaios de toxicidade aguda apresentam menor custo e duração em comparação com os testes de toxicidade crônica, além de maior facilidade de execução.

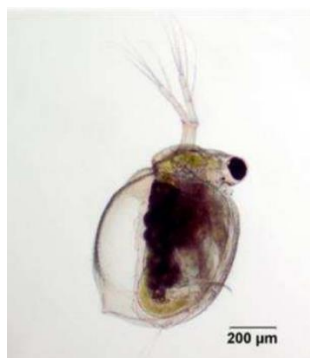
Apesar dessas vantagens, muitas vezes os testes de toxicidade aguda não representam o que ocorre nos ambientes aquáticos, visto que, devido à diluição, os agentes químicos normalmente estão presentes em concentrações subletais. Assim, embora não causem mortalidade, a exposição prolongada a esses agentes químicos pode causar distúrbios fisiológicos e/ou comportamentais. Beckers *et al.* (2018) destacaram a importância de considerar os efeitos subletais ao avaliar o risco de fármacos presentes em corpos d'água. Ao investigar a toxicidade de efluentes de ETEs contendo diversos compostos orgânicos, inclusive fármacos, os autores reportaram que, para peixes, somente os resultados de toxicidade aguda subestimariam o risco associado aos compostos farmacêuticos. Dessa forma, os ensaios de toxicidade crônica surgem como um complemento aos testes de toxicidade aguda. Esses ensaios consideram parte ou todo o ciclo de vida dos organismos e, portanto, é possível avaliar, por exemplo, efeitos no crescimento, reprodução e comportamento dos organismos (COONEY, 1995).

Além do tipo de ensaio, a escolha do organismo-teste é fundamental para resultados mais confiáveis e precisos. Os organismos selecionados devem ser representativos do ambiente e sensíveis aos agentes químicos testados. Alguns dos organismos mais utilizados nos ensaios de toxicidade com fármacos são as algas *Pseudokirchneriella subcapitata*, os microcrustáceos

Daphnia magna e *Ceriodaphnia dubia*, o peixe *Danio rerio*, e a bactéria *Aliivibrio fischeri* (VASQUEZ *et al.*, 2014).

Nesse sentido, a *Ceriodaphnia dubia* (Figura 1-1), também conhecida como pulga-d'água, pertence à ordem Cladocera e é um organismo amplamente utilizado em ensaios ecotoxicológicos para a avaliação da qualidade de águas e efluentes, devido à sua sensibilidade e facilidade de cultivo em laboratório. Possuem ciclo de vida curto e elevada taxa de reprodução. Os cladóceros são consumidores primários de ambientes dulcícolas e alimentam-se por filtração, sendo uma importante fonte de alimento para peixes. Nos ensaios de toxicidade, os efeitos observados são a sobrevivência e a inibição da reprodução em um período de exposição de sete dias, podendo ser estendido até o oitavo dia (ABNT, 2017; ANSELMO *et al.*, 2018; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008). Atualmente o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* é utilizado no monitoramento da qualidade das águas do Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM) (IGAM, 2021).

Figura 1-1 Microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*.



Fonte: HANEY *et al.* (2019)

De acordo com as diretrizes europeias, a avaliação de risco ecotoxicológico é realizada pelo cálculo do coeficiente de risco (RQ, do inglês *Risk Quotient*), que consiste na razão entre a concentração ambiental prevista ou medida (PEC e MEC, do inglês *Predicted Environmental Concentration* e *Measured Environmental Concentration*, respectivamente) e a concentração de efeito não observado (PNEC, do inglês *Predicted Non-Effect Concentration*). O valor de PNEC considera os dados de toxicidade aguda, CE50 ou CL50 (*Effect ou Lethal Concentration*), e crônica do composto, NOEC (*No Observed Effect Concentration*), determinados a partir de ensaios com diferentes espécies. Para a proteção do ambiente aquático,

assume-se que a proteção da espécie mais sensível garante a proteção da estrutura e, portanto, da função do ecossistema. Assim, ao determinar qual espécie é mais sensível aos efeitos de um dado composto em estudo, é possível extrapolar, a partir dos dados de laboratório dessa espécie, o valor de PNEC para múltiplas espécies no ecossistema (EUROPEAN COMMISSION, 2003; EMEA, 2018).

Contudo, para grande parte dos compostos, a existência de dados de toxicidade é limitada e, em geral, somente dados de toxicidade aguda estão disponíveis. Assim, é necessário a utilização de um fator de incerteza (AF, do inglês *Assessment Factor*) no cálculo de PNEC, visando determinar a concentração abaixo da qual é improvável a ocorrência de algum efeito no ambiente aquático. O valor de AF depende dos dados de toxicidade disponíveis e visa compensar as variações laboratoriais, entre espécies, a extrapolação dos dados de toxicidade aguda para toxicidade crônica, bem como a extrapolação dos dados laboratoriais para as condições reais do ecossistema (EUROPEAN COMMISSION, 2003).

Quando dados de toxicidade não estão disponíveis, dados gerados a partir de modelos QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationships*) são frequentemente utilizados para substituir e complementar dados experimentais, especialmente do modelo ECOSAR (*Ecological Structure-Activity Relationships*). Tais modelos assumem que a estrutura molecular do composto contém informações que determinam suas propriedades químicas, físicas e biológicas e que, portanto, é possível estimar a toxicidade a partir do conhecimento da sua estrutura (LI *et al.*, 2020; PAVAN *et al.*, 2006). Dessa forma, dados originados nos modelos têm sido frequentemente utilizados na avaliação de risco ecotoxicológico, especialmente em metodologias de priorização (SANDERSON *et al.*, 2004; ROOS *et al.*, 2012; DONG *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2020).

A respeito dos métodos de avaliação de risco à saúde humana para substâncias encontradas em alimentos e na água, os mesmos envolvem o estabelecimento de doses aceitáveis ou toleráveis de ingestão diária (ADI e TDI, do inglês *Acceptable Daily Intake e Tolerable Daily Intake*, respectivamente). Esses valores representam a quantidade segura do composto que pode ser ingerida diariamente por um longo período de tempo. São baseados em diferentes pontos de partida, tais como o nível de efeito adverso não observado (NOAEL, do inglês *No-Observed-Adverse-Effect Level*) ou nível de menor efeito observado (LOAEL, do inglês *Lowest-Observed-Adverse-Effect Level*), obtidos em testes realizados com humanos e outros mamíferos (WEN *et al.*, 2014).

Além desses, pode-se estabelecer doses de referência a partir de estudos estatísticos da curva dose-resposta. Todos esses pontos de partidas baseiam-se em estudos toxicológicos e epidemiológicos e, a eles, são aplicados fatores de incerteza que visam garantir que não ocorra nenhum efeito deletério, caso a exposição exceda os valores estabelecidos de ADI e TDI por algum período de tempo. Como nem sempre existem valores para o NOAEL/LOAEL disponíveis, pode-se considerar nos cálculos o valor da dose terapêutica mínima (MTD, do inglês *Minimum Therapeutic Dose*), que é a menor quantidade do medicamento que é capaz de produzir efeito terapêutico em uma determinada população. Esses valores são determinados a partir da ponderação entre eficiência e segurança do fármaco e a eles também são aplicados fatores de incerteza (WHO, 2012).

Um critério comumente utilizado na interpretação do risco ecotoxicológico e à saúde humana é: $RQ \leq 0,01$ (Risco insignificante), $0,01 \leq RQ < 0,1$ (Baixo Risco), $0,1 \leq RQ < 1$ (Risco médio) e $RQ \geq 1$ (Risco elevado) (HERNANDO et al., 2006; GAFFNEY et al., 2015; LIN et al., 2016).

Outra aproximação utilizada na avaliação de risco à saúde humana é o cálculo da margem de exposição (MOE, do inglês *Margin of exposure*), que consiste na razão entre a concentração de exposição segura (ADI, TDI ou MTD) e a concentração ambiental (MEC ou PEC). As diretrizes da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (USEPA) sugerem que valores de MOE maiores que 100 indicam baixo risco à saúde humana (WHO, 2012).

Um número crescente de estudos tem sido publicado sobre a avaliação de risco ecotoxicológico de fármacos detectados em ambientes aquáticos, como ETEs (AL AUKIDY et al., 2012; VERLICCHI et al., 2012; CHEN et al., 2016; ARCHANA et al., 2017), ETAs (LIN et al., 2016) e águas superficiais (ARCHANA et al., 2017; MUTIYAR et al., 2018; GURUGE et al., 2019). A Tabela 1-2 e a Tabela 1-3 apresentam alguns estudos publicados sobre avaliação de risco ecotoxicológico e à saúde humana para concentrações de fármacos detectadas em ambientes aquáticos e na água tratada, respectivamente.

Tabela 1-2 Estudos de avaliação de risco ecotoxicológico para fármacos detectados em ambientes aquáticos.

Localização	Nº Fármacos	Ambiente Aquático	Concentração adotada	PNEC	AF	Principais resultados	Referência
Itália	19	Efluente de ETE e corpos d'água receptores.	Max. MEC	CE50	1000	Os antibióticos claritromicina, azitromicina e sulfametoxazol foram relacionados a alto e médio risco ecotoxicológico nos dois efluentes das ETEs e nos corpos d'água receptores.	AL AUKIDY <i>et al.</i> (2012)
Itália	33	ETE hospitalar ETE municipal	Max. MEC	CE50 ou CL50	1000	Alto risco ecotoxicológico foi reportado para 9 fármacos detectados no efluente hospitalar e 4 fármacos detectados no afluente e efluente da ETE.	VERLICCHI <i>et al.</i> (2012)
China	14	ETA (Água bruta)	Max. MEC	CE50 ou CENO	10 - 1000	Apenas os fármacos roxitromicina e sulfametoxazol apresentaram baixo risco ecotoxicológico, enquanto os outros compostos apresentaram riscos insignificantes.	LIN <i>et al.</i> (2016)
República Tcheca	8	Efluente de <i>wetlands</i>	Média MEC	CE50 ou CL50	1000	O ibuprofeno apresentou risco ecotoxicológico moderado a alto e o paracetamol apresentou risco moderado a baixo. Para os outros fármacos, o risco foi insignificante.	CHEN <i>et al.</i> (2016)
Índia	5	ETE (Afluente e efluente) Águas superficiais	MEC	CE50	1000	Somente ciprofloxacino foi relacionado a alto risco para o organismo aquático <i>Cyanobacterium Microcystis aeruginosa</i> no esgoto bruto e tratado. Risco insignificante foi reportado para os outros compostos detectados na água superficial.	ARCHANA <i>et al.</i> (2017)
Índia	9	Água superficial	Média MEC	CE50	1000	Baseado nos resultados, os fármacos detectados no rio Yamuna estão associados a um risco insignificante.	MUTIYAR <i>et al.</i> (2018)
Sri Lanka	23	Água superficial	MEC	CENO	10 - 1000	As concentrações detectadas dos fármacos ibuprofeno, diclofenaco de sódio, sulfametoxazol, ácido mefenâmico, triclosan, tramadol, claritromicina, ciprofloxacino e triclocarban foram associadas a médio e alto risco para organismos aquáticos.	GURUGE <i>et al.</i> (2019)

Tabela 1-3 Estudos de avaliação de risco à saúde humana para fármacos detectados na água tratada.

Localização	Nº fármacos.	Abordagem metodológica	Concentração adotada	Base do cálculo	Principais resultados	Referência
América do Norte e Europa	44	RQ	90º percentil PEC	NOAEL e LOAEL	Os resultados mostraram que os fármacos não representam risco significativo para a saúde humana pela exposição à água potável.	CUNNINGHAM <i>et al.</i> (2009)
Portugal	6	RQ	Max. MEC	LOAEL (quando disponível) MTD	O cálculo do risco indicou risco insignificante para todos os fármacos considerados (RQ < 0,001).	GAFFNEY <i>et al.</i> (2015)
Japão	8	MOE	Max. MEC	MTD	Baseado no cálculo da MOE, o risco à saúde humana associado à ingestão dos fármacos foi insignificante.	SIMAZAKI <i>et al.</i> (2015)
Canadá	355	MOE	MEC PEC	MTD	As concentrações detectadas dos fármacos não representam risco à saúde humana. No entanto, os fármacos triiodotironina, tiroxina, ramipril e seu metabólito ramiprilat, candesartan, lisinopril, atorvastatina, lorazepam, fentanil, atenolol, metformina, enalaprilat, morfina e irbesartan foram considerados prioritários para avaliação posterior devido aos seus valores de MOE.	KHAN e NICELL (2015)
China	17	RQ	Max. MEC	CENO e CE50	O risco foi considerado muito baixo para 13 fármacos detectados. Os fármacos dimetridazol, tiamfenicol, sulfametazina e claritromicina foram relacionados ao RQ $\geq 0,01$ em pelo menos um estágio da vida e, portanto, foram considerados prioritários para o monitoramento.	LEUNG <i>et al.</i> (2013)
Malásia	9	RQ	Média MEC	ADI	Os riscos foram considerados baixos em todos os grupos de idade.	PRAVEENA <i>et al.</i> (2019)

Como pode ser observado na Tabela 1-2 e na Tabela 1-3, os estudos de avaliação de risco geralmente assumem o pior cenário, adotando concentrações máximas e a menor concentração de efeito não observado (PNEC). O objetivo é representar um cenário conservador, ou seja, o risco máximo possível para os organismos aquáticos, considerando o fármaco em estudo (GAFFNEY *et al.*, 2015).

Além disso, a maioria dos estudos utilizam os valores de MEC no cálculo do coeficiente de risco (RQ) e o conceito de margem de exposição (MOE). No entanto, também existem estudos nos quais o valor de PEC foi utilizado, principalmente devido à falta de dados disponíveis (GAMARRA *et al.*, 2015; NEVES e MOL, 2019). Roos *et al.* (2012), compararam diferentes metodologias, baseadas no cálculo do risco, para a priorização de compostos para monitoramento e relataram que, em relação ao paracetamol, o uso de PEC resultou em maiores riscos quando comparado ao MEC. A partir disso, eles destacaram a importância de uma estimativa adequada de PEC, incluindo dados de remoção, degradação e bioconcentração nas ETEs.

Além disso, a diretiva europeia exige o uso de dados de toxicidade crônica para avaliar os riscos ambientais (EMEA, 2018). Contudo, devido à falta de dados de toxicidade crônica disponíveis, a maioria dos estudos adota parâmetros agudos. Os valores de PNEC derivados de dados de toxicidade aguda diferem dos valores derivados de dados de toxicidade crônica (VESTEL *et al.*, 2016; COORS *et al.*, 2018) e, portanto, a falta de dados de toxicidade crônica é apontada como um grande desafio para estimar adequadamente os riscos (BACKHAUS e KARLSSON, 2014).

A legislação europeia também recomenda a adoção de fatores de incerteza (AF) iguais a 100 ou menores (EMEA, 2018). No entanto, a maioria dos estudos publicados adota valores de AF iguais a 1000, considerando a ausência de dados de toxicidade crônica e seguindo recomendações anteriores (ECHA, 2008). Em relação à avaliação de risco à saúde humana, valores da dose mínima terapêutica (MTD) também são utilizados quando não há dados toxicológicos disponíveis para determinar as concentrações seguras de ingestão diária dos fármacos (ADI ou TDI). No entanto, a adoção dos valores de ATI ou TDI é preferível aos valores de MTD, visto que a determinação de MTD também leva em consideração razões práticas, tais como eficiência versus segurança para os pacientes (GAFFNEY *et al.*, 2015).

Também é possível observar na Tabela 1-2 e na Tabela 1-3 que muitos estudos reportaram riscos ecotoxicológicos e à saúde humana insignificantes, considerando os fármacos detectados nos ambientes aquáticos e na água tratada em outros países. No Brasil, no entanto, Gamarra *et al.* (2015) avaliaram, a partir de dados demográficos e de consumo, o risco ecotoxicológico dos fármacos diclofenaco e ibuprofeno em diferentes cidades do Paraná e reportaram a existência de risco em 51 cidades para o ibuprofeno e 12 cidades para o diclofenaco.

Além desse, De Souza *et al.* (2009) reportaram alto risco ecotoxicológico para 8 antibióticos presentes no efluente de um hospital em Curitiba (PR). Neves e Mol (2019) reportaram os valores de RQ entre 1,26 (clonazepam) e 5457,45 (losartana) ao avaliar o risco ecotoxicológico dos 10 fármacos mais consumidos no Sistema de Saúde Único (SUS) de Belo Horizonte. Os autores se basearam na concentração prevista em corpos d'água receptores de efluente de ETEs da cidade de Belo Horizonte. Em todos estes estudos brasileiros, os autores se basearam em dados de consumo de medicamentos para estimar as concentrações ambientais dos fármacos.

Em relação aos estudos que utilizaram concentrações detectadas em ambientes aquáticos brasileiros, Montagner *et al.* (2014) avaliaram o risco ecotoxicológico da ocorrência do agente bactericida triclosan em 6 rios da cidade de São Paulo. Triclosan é encontrado em uma variedade de produtos cosméticos, como detergentes, pastas de dente, sabonetes, dentre outros. Os resultados mostraram que o valor de PNEC foi excedido em 86% das amostras. Além desse, Santos *et al.* (2020) reportaram a ocorrência de risco ecotoxicológico para os fármacos norfloxacino, atorvastatina, fluconazol e loratadina detectados nos mananciais de abastecimento de ETAs localizadas em 4 regiões brasileiras (nordeste, sudeste, sul e nordeste). Em relação à saúde humana, os autores também reportaram risco relacionado ao fármaco atorvastatina detectado na água tratada. O Brasil, no entanto, ainda não possui nenhuma regulamentação no que diz respeito à ocorrência de fármacos em ambientes aquáticos e na água tratada.

1.5.3 Ocorrência de misturas no meio ambiente

Grande parte dos estudos sobre avaliação de risco de fármacos detectados em ambientes aquáticos consideram as concentrações individuais dos fármacos (BOPP *et al.*, 2018) e baseiam-se em dados de toxicidade aguda (COORS *et al.*, 2018). Sabe-se, contudo, que essa não é a realidade presente nos corpos d'água, em que inúmeros compostos ocorrem simultaneamente e, além disso, é necessário considerar a exposição não intencional a esses

compostos durante longos períodos de tempo. É importante destacar, ainda, que diferentemente de muitos outros contaminantes ambientais, os fármacos são produzidos para provocarem alterações fisiológicas em humanos e animais e que, portanto, é possível que eles permaneçam biologicamente ativos para outras espécies no meio ambiente (VASQUEZ *et al.*, 2014). Assim, é fundamental a realização de estudos mais consistentes que considerem a avaliação de risco para as misturas ambientais, a toxicidade crônica dos compostos, além de considerar a susceptibilidade dos indivíduos (WHO, 2012).

Existem 3 grupos de misturas químicas importantes do ponto de vista ambiental: intencionais, não intencionais e coincidentes. As misturas intencionais referem-se aos produtos constituídos por diferentes compostos, tais como os fármacos, que correspondem a uma mistura de princípios ativos, excipientes e aditivos. Nesse sentido, estudos relatam que os excipientes, apesar de em muitos casos serem considerados inertes, também podem apresentar toxicidade. Jacob *et al.* (2016), ao avaliarem a toxicidade aguda de dez fármacos em 3 diferentes formulações para a espécie *Aliivibrio fischeri*, verificaram efeitos agudos relacionados à exposição dos organismos aos excipientes, ressaltando o seu potencial ecotoxicológico. Adicionalmente, existem as misturas não intencionais, que correspondem àquelas emitidas por uma fonte específica, como os efluentes das ETEs das indústrias farmacêuticas. Por fim, as misturas originadas de diferentes fontes são chamadas de misturas coincidentes e correspondem à realidade dos ambientes aquáticos. No caso dos fármacos, os mesmos podem ocorrer simultaneamente com outros compostos orgânicos e inorgânicos em um determinado compartimento ambiental (KORTENKAMP *et al.*, 2009; KIENZLER *et al.*, 2016).

A avaliação do risco de exposição às misturas ambientais não é uma tarefa fácil de ser realizada. Normalmente, essa avaliação é feita a partir de compostos pré-selecionados e, portanto, influenciada pela capacidade dos métodos analíticos de cada laboratório. Devido às inúmeras possibilidades de componentes e condições ambientais, as misturas existentes nos ambientes aquáticos não são completamente delimitadas. A ausência de dados de ecotoxicidade para muitos fármacos humanos e veterinários, especialmente quando comparados a outros poluentes, como agrotóxicos (MUNZ *et al.*, 2017), constitui-se também como um desafio a ser superado. Nesse contexto, destaca-se a carência de dados de toxicidade crônica (BECKERS *et al.*, 2018).

Faltam ainda informações sobre a toxicidade resultante da combinação e interação entre os compostos, modos de ação e critérios para agrupá-los (VASQUEZ *et al.* 2014, BOOP *et al.*,

2018; ALTENBURGER *et al.*, 2019). O modo de ação é definido como um conjunto comum de fatores fisiológicos e sinais comportamentais que caracterizam um tipo de efeito biológico adverso. O mecanismo de ação, por sua vez, corresponde a um processo bioquímico e/ou interação xenobiótica-biológica subjacente a um determinado modo de ação (ESCHER e HERMENS, 2002). O conhecimento do modo de ação ecotoxicológico dos compostos é uma questão crucial para a previsão da toxicidade. No caso das misturas, esse conhecimento facilita a aplicação dos modelos de previsão de toxicidade, permitindo agrupá-los de acordo com as premissas dos modelos (BOOP *et al.*, 2015).

Nesse sentido, Verhaar e colaboradores desenvolveram uma metodologia para classificar os compostos de acordo com os seus modos de ação. A metodologia é baseada na estrutura química dos compostos, possibilitando sua classificação em 5 categorias que representam um ou mais modos de ação: Classe 1 (narcose ou toxicidade de linha de base), Classe 2 (compostos menos inertes), Classe 3 (compostos reativos), Classe 4 (compostos e grupos de compostos atuando por um modo de ação específico) e Classe 5 (compostos que não podem ser classificados utilizando a metodologia proposta por Verhaar) (VERHAAR *et al.*, 1992). Assim, a toxicidade dos compostos das Classes 1 e 2, por exemplo, pode ser prevista utilizando apenas informações sobre a hidrofobicidade do composto e testes adicionais podem não ser necessários. Para as Classes 3 e 4, no entanto, a metodologia proposta por Verhaar permite destacar, de forma simples e eficiente, que podem ser necessários ensaios adicionais para determinar a toxicidade dos compostos (ELLISON *et al.*, 2015). A metodologia proposta por Verhaar tem sido amplamente aplicada para a previsão da toxicidade de diversos compostos para organismos aquáticos (BAKIRE *et al.*, 2018).

Além da indisponibilidade de dados, Ågerstrand *et al.* (2011) destacaram a necessidade de avaliar a confiabilidade e a relevância dos dados existentes, visando garantir a qualidade da avaliação de risco. A padronização dos ensaios ecotoxicológicos também é importante, pois, especialmente para análises baseadas nos componentes individuais da mistura, diferentes metodologias podem originar resultados incertos e inconsistentes (MENZ *et al.*, 2017). Além disso, muitos estudos avaliaram o risco associado à combinação de fármacos baseando-se em dados de toxicidade originados de ensaios nas quais as concentrações testadas foram próximas ou muito superiores às concentrações de efeito, extrapolando os resultados para concentrações comumente detectadas nos ambientes aquáticos (BOOBIS *et al.*, 2011). Portanto, a avaliação

dos efeitos e interações em concentrações ambientalmente relevantes é essencial para avaliações de risco mais precisas.

1.5.3.1 Modelos de previsão da toxicidade das misturas

Dois clássicos modelos são aplicados para a avaliação de risco de misturas de compostos químicos: o modelo de adição de concentração e o de ação independente. O modelo de adição de concentração (Equação 1) baseia-se no conceito de unidade tóxica (TU), que é a razão entre a concentração de um composto e a concentração que provoca um efeito de x% no organismo teste.

$$\frac{C_{mis}}{ECx_{mis}} = \sum_{i=1}^n \frac{C_i}{EC_{xi}} \quad \text{Equação 1}$$

C_{mis} é a concentração total da mistura, $EC_{x\ mis}$ é a concentração da mistura que provoca x% de efeito, C_i são as concentrações individuais dos compostos, e EC_{xi} são as concentrações de efeito individuais dos compostos.

Ao adotar o modelo de adição de concentração, assume-se que os fármacos compartilham o mesmo modo de ação, isto é, que os compostos farmacêuticos interagem bioquimicamente do mesmo modo. Assim, a toxicidade de uma mistura pode ser estimada a partir da soma das unidades tóxicas de seus componentes individuais, o que significa que se um dos compostos fosse substituído por outro que causa o mesmo efeito, a toxicidade da mistura permaneceria constante (BERENBAUM, 1985; BACKHAUS, 2016).

A utilização do conceito de unidade tóxica depende da disponibilidade de dados ecotoxicológicos determinados para a mesma espécie em ensaios padronizados, para os diferentes componentes da mistura. Na ausência dos mesmos, uma aproximação bastante utilizada é a soma dos coeficientes de risco (RQ). Essa aproximação normalmente é mais conservadora que o cálculo por espécie e, portanto, o modelo de adição de concentração poderia ser utilizado como uma etapa de aperfeiçoamento dos resultados quando os mesmos indicarem a ocorrência de risco ambiental (BACKHAUS e FAUST, 2012; COORS *et al.*, 2018). Atualmente, a Europa utiliza a soma dos coeficientes de risco para a regulamentação de produtos farmacêuticos veterinários (EMEA, 2016).

O modelo de ação independente (Equação 2), por sua vez, assume que todos os componentes da mistura resultam em uma resposta toxicológica comum, mas fazem isso de maneira independente, com modos diferentes de ação, o que sugere que o efeito de um componente da mistura não é alterado pela presença do outro (BERENBAUM, 1985; BACKHAUS, 2016; BREZOVŠEK *et al.*, 2014). O modelo de adição de concentração é considerado mais conservador que o modelo de ação independente (HOUTMAN *et al.*, 2014; KIENZLER *et al.*, 2016).

$$ECx_{mis} = 1 - \prod_{i=1}^n [1 - E(C_i)] \quad \text{Equação 2}$$

Em que: E (c1), E (c2) e E (cn) são os efeitos dos compostos individuais.

Os modelos de adição de concentração e ação independente assumem que, na mistura, os fármacos não interagem entre si. Sabe-se, no entanto, que os fármacos podem interagir biologicamente do mesmo modo com outras moléculas, tais como receptores de proteínas ou enzimas, ou podem atuar por uma combinação de modos de ação. No primeiro caso, os fármacos agem, portanto, de um modo aditivo. Na combinação de modos de ação, todavia, os efeitos podem resultar de mecanismos mais complexos, como a alteração da expressão gênica de reguladores celulares, a alteração dos níveis de concentrações intracelulares de íons ou a alteração do metabolismo celular. O efeito resultante dessas interações dependerá das misturas envolvidas, sendo que as misturas podem ter efeitos distintos nos diferentes tecidos e órgãos e, portanto, em diferentes sistemas biológicos ou organismos (CARPENTER *et al.*, 2002; VASQUEZ *et al.*, 2014).

A combinação dos fármacos na mistura pode resultar em efeitos antagônicos, sinérgicos ou aditivos. O sinergismo ocorre quando a interação dos compostos resulta em uma toxicidade maior que a prevista pelo modelo aditivo, em que interações entre os compostos não são consideradas. No caso do antagonismo, o efeito resultante é menor (BOOBIS *et al.*, 2011; BACKHAUS, 2016). Na literatura encontra-se, ainda, trabalhos nos quais a combinação de fármacos apresentou toxicidade mesmo quando seus componentes não induziram efeitos isoladamente (BACKHAUS *et al.*, 2000; BACKHAUS *et al.*, 2008; THRUPP *et al.*, 2018).

Nesse sentido, o modelo Índice de Combinação (Equação 3) permite a quantificação do sinergismo, efeito aditivo e antagonismo, independentemente do modo de ação dos compostos. O modelo considera a forma das curvas dose-resposta dos compostos, bem como a proporção, em termos de massa, dos componentes da mistura (CHOU, 2006).

$$EC_{x,mis} = \left(\sum_{i=1}^n \frac{P_i}{EC_{x,i} \times CI_x \text{ comp}} \right)^{-1} \quad \text{Equação 3}$$

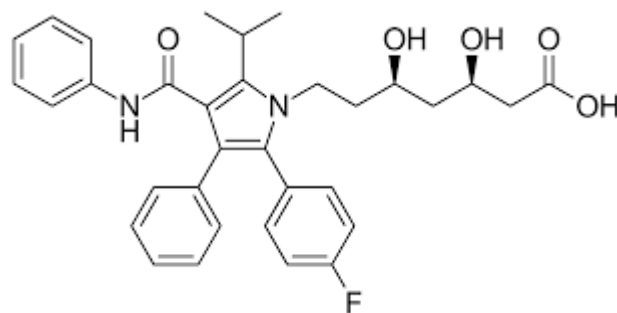
Em que: $EC_{x,i}$ é a concentração de cada componente da mistura que individualmente provoca o mesmo efeito (x%) na mistura, CI_x é o valor do Índice de Combinação (CI, do inglês *Combination Index*) e P_i é a proporção de massa relativa dos componentes na mistura.

O método proposto por Chou (2006) permite quantificar o sinergismo ($CI < 1$), antagonismo ($CI > 1$) e os efeitos aditivos ($CI = 1$) nas misturas, independentemente do modo de ação. O modelo índice de combinação tem sido frequentemente utilizado na previsão da toxicidade das misturas de fármacos (GEIGER *et al.*, 2016; GODOY *et al.*, 2019; TROMBINI *et al.*, 2016).

1.5.4 Características dos fármacos selecionados

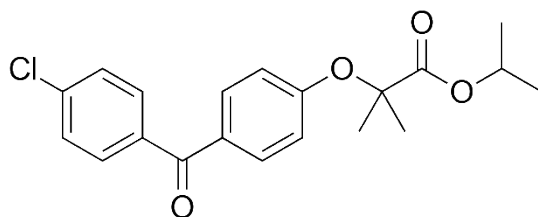
A atorvastatina (Figura 1-2) é um regulador lipídico e de colesterol pertencente ao grupo das estatinas sintéticas. A classe das estatinas atua no controle de doenças coronárias, promovendo a redução dos níveis plasmáticos de colesterol por meio da inibição da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril Coenzima A (HMG-CoA) redutase, uma enzima fundamental para a biossíntese do colesterol. A atorvastatina e outros inibidores da HMG-CoA redutase são amplamente prescritos com o objetivo de diminuir a mortalidade e morbidade em pacientes com doença cardiovascular aterosclerótica (BAKKER-ARKEMA *et al.*, 1996). Comercializada como Lipitor® pela Pfizer, laboratório aonde foi primeiramente produzida, foi a marca farmacêutica mais vendida no ano de 2008 (PFIZER, 2008). É administrada na forma de sal cálcico (atorvastatina cálcica).

Figura 1-2 Estrutura molecular do fármaco atorvastatina.



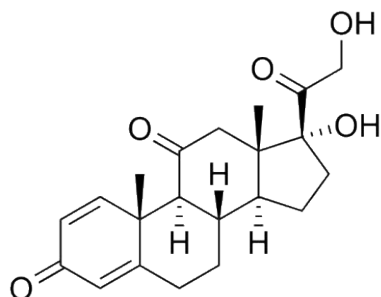
O fármaco fenofibrato (Figura 1-3) pertence ao grupo dos fibratos e é conhecido por sua capacidade de reduzir os níveis de colesterol e triglicérides no sangue. Os fibratos são responsáveis por ativar os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma, que desempenham um papel importante no metabolismo de ácidos graxos e colesterol (FAQI, 2013).

Figura 1-3 Estrutura molecular do fármaco fenofibrato.



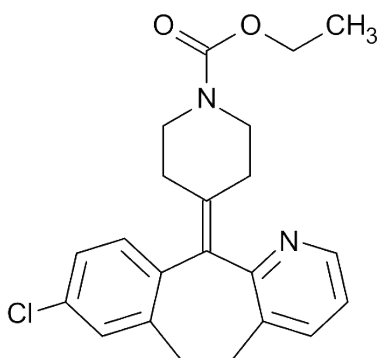
A prednisona (Figura 1-4) é um medicamento anti-inflamatório glicocorticoide que é convertido em prednisolona no fígado após a administração. Atua inibindo as células inflamatórias e suprimindo a expressão de mediadores inflamatórios por meio da ligação aos receptores celulares de glicocorticoides. A prednisona é usada para tratar alergias graves, artrite, asma e doenças da pele, do sangue, dos rins, dos olhos, da tireoide e do intestino. O fármaco também pode ser usado para tratar certos tipos de câncer e prevenir a rejeição de órgãos transplantados (PAPICH, 2016; ENNA e BYLUND, 2008).

Figura 1-4 Estrutura molecular do fármaco prednisona.



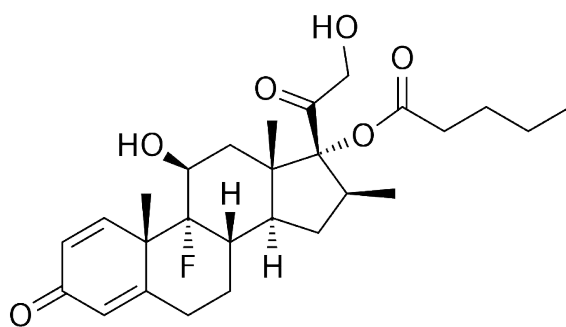
O fármaco loratadina (Figura 1-5) é um anti-histamínico não sedativo usado no manejo e tratamento da rinite alérgica e urticária. A loratadina se liga aos receptores H1 em diferentes células e causa diminuição da permeabilidade vascular, do tônus da musculatura lisa e da ativação dos receptores nociceptivos periféricos, evitando edema e rubor, broncodilatação, dor e prurido, respectivamente (NEGRO-ALVAREZ *et al.*, 1996).

Figura 1-5 Estrutura molecular do fármaco loratadina.



O fármaco valerato de betametasona (Figura 1-6) é um glicocorticoide tópico com ação imunossupressora e anti-inflamatória amplamente utilizado no tratamento de dermatoses e outras doenças cutâneas. O modo de ação não é claro, mas parece agir de forma semelhante aos inibidores da enzima de conversão da angiotensina para produzir uma inibição das respostas de fluxo na pele. Esse efeito é provavelmente provocado pela interferência na ação de peptídeos ou proteínas vasodilatadoras (AHLUWALIA e FLOWER, 1993).

Figura 1-6 Estrutura molecular do fármaco valerato de betametasona.

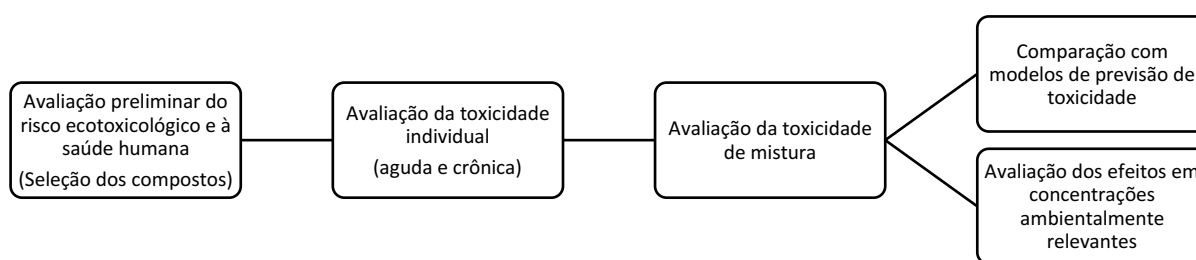


1.6 ESTRUTURA DA TESE

Diante do exposto nessa revisão de literatura, considera-se que a avaliação de risco é uma importante ferramenta de gerenciamento ambiental, e que a sua aplicação pode fornecer diretrizes para a priorização dos fármacos que podem representar risco ecotoxicológico e à saúde humana. Com o objetivo de avaliar os riscos de exposição a múltiplos compostos, foram propostas metodologias cuja avaliação de risco ocorre em diferentes níveis (MEEK *et al.*, 2011; PRICE *et al.*, 2012; BACKHAUS e FAUST, 2012; BACKHAUS, 2016). Essas metodologias objetivam uma avaliação prática e realista dos riscos, considerando os compostos detectados no meio ambiente, especialmente em um contexto regulatório. Nessa abordagem em níveis, em primeiro lugar, são utilizadas as informações disponíveis e as premissas são conservadoras. Em seguida, se houver indicação de riscos ambientais, a avaliação de risco é refinada a partir do levantamento de novas informações e da utilização de metodologias mais consistentes.

Dessa forma, no desenvolvimento da tese, os capítulos 2 e 3 apresentam uma avaliação preliminar do risco ecotoxicológico e à saúde humana dos fármacos previamente detectados na RMBH. A partir dos resultados desses capítulos, foram selecionados cinco fármacos – atorvastatina, betametasona, loratadina, fenofibrato e prednisona – para a realização de ensaios de toxicidade, visando o refinamento da análise. Assim, no capítulo 4, a toxicidade crônica e aguda dos fármacos selecionados foram comparadas. Além disso, os efeitos agudos observados nos testes com as misturas binárias dos fármacos foram comparados com os efeitos previstos pelos clássicos modelos de adição de concentração e ação independente, e com o modelo índice de combinação. Na sequência, ainda no capítulo 4, a toxicidade aguda e crônica da mistura dos fármacos selecionados foi avaliada, considerando suas concentrações ambientais (Figura 1-7). Finalmente, o capítulo 5 contém o apêndice e o capítulo 6 contém as referências utilizadas no desenvolvimento do trabalho.

Figura 1-7 Fluxograma da estrutura da tese: avaliação de risco em níveis.



2 PRIORIZAÇÃO E AVALIAÇÃO PRELIMINAR DO RISCO
ECOTOXICOLÓGICO DOS FÁRMACOS DETECTADOS NA REGIÃO
METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE

2.1 INTRODUÇÃO

A diretriz europeia de avaliação do risco ecotoxicológico de fármacos utilizados na medicina humana requer que essa avaliação seja realizada em duas etapas. A primeira fase consiste em uma avaliação preliminar da exposição ambiental do fármaco e é baseada nas suas propriedades de persistência, bioacumulação e toxicidade (PBT), além de sua concentração ambiental prevista (PEC). Todos os compostos devem ser avaliados preliminarmente quanto às propriedades PBT, independentemente de seu valor de PEC. Caso o logaritmo do coeficiente de partição octanol-água ($\log K_{ow}$) $> 4,5$, uma avaliação mais detalhada é necessária. Adicionalmente, de acordo com a diretriz, se o valor de PEC for abaixo de $0,01 \mu\text{g/L}$, a metodologia pressupõe que o fármaco não apresenta risco para o meio ambiente. Contudo, se o valor de PEC for igual ou superior a $0,01 \mu\text{g/L}$, deve-se prosseguir para a segunda fase, que consiste no cálculo do coeficiente de risco (EMEA, 2018). Essa diretriz refere-se ao risco individual dos fármacos. No entanto, os fármacos ocorrem como misturas no meio ambiente.

Nesse sentido, Backhaus e Faust (2012) propuseram duas abordagens para o cálculo do risco ecotoxicológico de misturas químicas, baseadas na soma das unidades tóxicas e na soma do coeficiente de risco dos compostos individuais. Ambas as abordagens são baseadas no conceito clássico de adição de concentração. No presente estudo, essas abordagens foram utilizadas para a realização de uma avaliação preliminar do risco ecotoxicológico dos fármacos previamente detectados em águas superficiais brasileiras, visando também subsidiar a seleção dos compostos a serem estudados durante o desenvolvimento da pesquisa. O trabalho foi baseado nas concentrações de dezoito fármacos detectados em seis ETAs da Região Metropolitana de Belo Horizonte (RMBH) publicados anteriormente por Reis *et al.* (2019). Também foi aplicada uma metodologia de priorização dos compostos baseada nas propriedades físico-químicas dos fármacos.

Para tanto, os objetivos específicos deste capítulo foram (a) estimar a toxicidade da mistura dos fármacos nos três principais níveis tróficos (algas, invertebrados e peixes); (b) avaliar o risco que a mistura dos fármacos representa para os organismos aquáticos; (c) determinar a contribuição individual dos fármacos para o risco da mistura; e (d) avaliar a aplicabilidade de uma metodologia de priorização dos fármacos em misturas complexas, visando subsidiar o monitoramento e gestão de risco.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Concentração ambiental dos fármacos

As concentrações ambientais dos fármacos foram obtidas em um estudo publicado por Reis e colaboradores, no qual os autores investigaram mensalmente a ocorrência de 28 fármacos nos mananciais de abastecimento e na água tratada de seis ETAs localizadas na RMBH durante os meses de agosto de 2016 e agosto de 2017 (Reis *et al.*, 2019). No presente estudo, 18 fármacos detectados nos mananciais de abastecimento foram considerados: betametasona, fenazona, fenilbutazona, cetoprofeno, ibuprofeno, metformina, fluconazol, prednisona, danofloxacino, enoxacino, enrofloxacino, norfloxacino, loratadina, atorvastatina, fenofibrato, gemfibrozil, claritromicina e cafeína. Mais informações sobre as propriedades físico-químicas dos fármacos e das ETAs são apresentadas no Apêndice (Tabela 5-1 e Tabela 5-2).

2.2.2 Metodologia de priorização dos fármacos

A metodologia utilizada para a priorização dos fármacos foi baseada na diretriz da *European Medicines Agency* (EMA) e foi aplicada primeiramente por Li *et al.* (2020). Os fármacos foram caracterizados quanto aos parâmetros: Ocorrência, Persistência, Bioacumulação e Toxicidade (OPBT). A partir dessa caracterização, foram atribuídas 4 notas a cada fármaco variando de 1 a 4, conforme Tabela 2-1. A classificação final corresponde à soma das notas obtidas nos quatro critérios (DAOUK *et al.*, 2015).

Tabela 2-1 Classificação dos fármacos de acordo com os valores de ocorrência, persistência, bioacumulação e toxicidade.

Crítérios	Parâmetro	Classificação
Ocorrência ² (µg/L)	MEC > 100	4
	10 < MEC ≤ 100	3
	1 < MEC ≤ 10	2
	MEC ≤ 1	1
Persistência ³	BIOWIN2 < 0,5 or BIOWIN6 < 0,5 and BIOWIN3 < 2,2	4
	2,2 ≤ BIOWIN3 < 3,0	3
	3,0 ≤ BIOWIN3 < 3,5	2
	BIOWIN3 ≥ 3,5	1
Bioacumulação ⁴	BCF > 2000	4
	1500 < BCF ≤ 2000	3
	1000 < BCF ≤ 1500	2
	BCF ≤ 1000	1
Toxicidade ⁵ (mg/L)	ChV < 0,1	4
	0,1 ≤ ChV < 1	3
	1 ≤ ChV < 10	2
	ChV ≥ 10	1

Adaptado de Li *et al.* (2020); ² Máxima Concentração Ambiental Detectada (MEC) (Reis *et al.*, 2019); ³BIOWIN3 (BioWin v4.10); ⁴BCF (BCFBAF v3.10); ⁵Toxicidade Crônica (ECOSAR V2.0).

Os valores dos parâmetros Persistência, Bioacumulação e Toxicidade foram gerados pelo modelo *Quantitative Structure-Activity Relationships* (QSAR) no software *Estimation Program Interface Suite* (EPI), utilizando como entrada a estrutura química *Simplified Molecular Input Line Entry System* (SMILES). Há na literatura uma ausência de dados de PBT dos fármacos e, portanto, dados do QSAR têm sido muito utilizados especialmente em metodologias de priorização (SANDERSON *et al.*, 2004; ROOS *et al.*, 2012; DONG *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2020).

Para o critério persistência, os valores de biodegradação final foram estimados usando o modelo BIOWIN3, que estima o tempo necessário para a biodegradação completa do composto (em semanas). Também foram utilizados os dados gerados pelo modelo BIOWIN2 e BIOWIN6, que utilizam modelos não lineares para determinar a probabilidade de degradação rápida do composto. Para ambos os modelos, valores menores que 0,5 indicam que o composto não sofre biodegradação rapidamente. Para o critério de bioacumulação, o modelo BCFBAF foi utilizado para obter o fator de bioconcentração (BCF) para os fármacos selecionados. Esse modelo estima o BCF de compostos orgânicos a partir do logKow.

Em relação à toxicidade, o modelo *Ecological Structure-Activity Relationships* (ECOSAR) foi utilizado para estimar a toxicidade crônica para algas, invertebrados e peixes. O valor de

toxicidade mais baixo foi assumido para atribuir a classificação. O ECOSAR é um programa desenvolvido pela agência de proteção ambiental dos Estados Unidos da América (EPA, do inglês *Environmental Protection Agency*) com objetivo de avaliar preliminarmente a toxicidade de compostos orgânicos. A princípio, dados estimados pelo ECOSAR não devem ser utilizados quando dados experimentais estão disponíveis. Nesse trabalho, para alguns poucos fármacos, havia dados experimentais na literatura (Tabela 5-4). Contudo, optou-se por utilizar dados estimados pelo ECOSAR na metodologia de priorização visando representar um cenário em que esses dados estariam indisponíveis, cenário comum especialmente considerando dados de toxicidade crônica.

Por fim, o critério ocorrência baseou-se na concentração máxima ambiental medida (MEC) do fármaco nos mananciais de abastecimento (REIS *et al.*, 2019).

2.2.3 Risco ecotoxicológico individual dos fármacos

O risco ecotoxicológico individual dos fármacos foi calculado a partir do coeficiente de risco (RQ) (Equação 4):

$$RQ = \frac{MEC}{PNEC} \quad \text{Equação 4}$$

Visando representar o pior cenário, o valor de MEC adotado foi a maior concentração do fármaco detectada nos mananciais de abastecimento. Além disso, a concentração de efeito não observado (PNEC) foi estimada a partir das menores concentrações de efeito agudo (EC) e crônico (NOEC), conforme Equação 5 e Equação 6. A diretriz da EMEA afirma que a avaliação de risco ecotoxicológico deve ser baseada em dados crônicos (EMEA, 2018). Neste trabalho, o uso de dados crônicos e agudos teve como objetivo avaliar a relação entre os dois cenários.

$$PNEC_{Agudo} = \frac{EC50 \text{ ou } LC50}{AF} \quad \text{Equação 5}$$

$$PNEC_{Crônico} = \frac{NOEC}{AF} \quad \text{Equação 6}$$

Os dados de toxicidade aguda e crônica dos 18 fármacos para três níveis tróficos (algas, invertebrados e peixes) foram selecionados da literatura e do banco de dados US ECOTOX. Os dados selecionados são apresentados no Apêndice (Tabela 5-3 e Tabela 5-4). Para a proteção do ambiente aquático, assume-se que a proteção da espécie mais sensível garante a proteção da estrutura e, portanto, da função do ecossistema. Assim, nos casos de disponibilidade de mais de um dado de toxicidade para um determinado composto, foi utilizado o menor valor.

Para grande parte dos compostos, a existência de dados de toxicidade é limitada e, em geral, somente dados de toxicidade aguda estão disponíveis. Dessa forma, é necessária a utilização de um fator de incerteza (AF) no cálculo de PNEC, que visa levar em consideração as incertezas ao extrapolar os resultados de dados de laboratório de uma única espécie para um ecossistema. Assumiu-se o valor de AF como 1000 para toxicidade aguda e 10 para toxicidade crônica (EUROPEAN COMMISSION, 2003; SANTOS *et al.*, 2020).

O RQ foi classificado em quatro categorias: insignificante ($RQ < 0,01$), baixo ($0,01 \leq RQ < 0,1$), médio ($0,1 \leq RQ < 1$) e elevado ($RQ \geq 1$) (LIN et al., 2016; LI et al., 2020).

2.2.4 Risco ecotoxicológico da mistura de fármacos

O risco ecotoxicológico da mistura dos fármacos foi calculado utilizando os conceitos de Unidade Tóxica (TU, do inglês *toxic units*) e Coeficiente de Risco (RQ). A utilização do conceito de TU permite avaliar os riscos para os principais níveis tróficos (algas, invertebrados e peixes). Por outro lado, o cálculo do RQ avalia o risco considerando o nível trófico mais sensível. Ambas as abordagens são baseadas nos mesmos dados de entrada (BACKHAUS e KARLSSON, 2014).

2.2.4.1 Soma das Unidades Tóxicas (STU)

A TU de um composto individual para uma determinada espécie pode ser calculada de acordo com a Equação 7:

$$TU = \frac{MEC}{E(L)C50 \text{ or } NOEC} \quad \text{Equação 7}$$

No cálculo do risco ecotoxicológico da mistura, MEC representa a concentração de cada fármaco nos mananciais de abastecimento durante todo o período de amostragem (12 meses). Os dados de toxicidade aguda e crônica são apresentados na Tabela 5-3 e Tabela 5-4. A soma das unidades tóxicas (STU) para uma dada espécie foi calculada somando as TU individual dos os fármacos, assumindo efeitos aditivos (Equação 8). A soma das unidades tóxicas foi calculada para cada grupo de organismos (algas, invertebrados, peixes) nos 6 pontos de coleta ao longo de todo o período de amostragem, considerando dados agudos e crônicos.

$$STU = \sum_{i=1}^n TU \quad \text{Equação 8}$$

A contribuição de cada fármaco para a STU foi calculada a partir da Equação 9:

$$\%_i = \frac{TU_i}{STU} \times 100 \quad \text{Equação 9}$$

Por fim, o coeficiente de risco (RQ_{STU}) para a mistura corresponde a soma das unidades tóxica (STU) do nível trófico mais sensível (com base nos dados agudos) multiplicado por um fator de incerteza igual a 1000 (Equação 10) (BACKHAUS e FAUST, 2012; BACKHAUS e KARLSSON, 2014).

$$RQ_{STU} = (STU_{algae}, STU_{invert}, STU_{fish}) \times 1000 \quad \text{Equação 10}$$

2.2.4.2 Soma dos Coeficientes de Risco (SRQ)

O RQ de um composto individual foi calculado de acordo com a Equação 4, enquanto o risco da mistura de fármacos foi calculado somando o RQ individual dos fármacos (BACKHAUS e FAUST, 2012) (Equação 11).

$$SRQ = \sum_{i=1}^n \frac{MECi}{PNECi} \quad \text{Equação 11}$$

MEC representa a concentração de cada fármaco nos mananciais de abastecimento durante o período de amostragem (12 meses). A contribuição de cada fármaco foi calculada de acordo com a Equação 12.

$$\%i = \frac{RQi}{SRQ} \times 100 \quad \text{Equação 12}$$

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Ocorrência de fármacos nos mananciais de abastecimento

A concentração máxima e a frequência de detecção dos fármacos nos mananciais de abastecimento das ETAs são apresentadas na Tabela 2-2. Os resultados completos foram reportados por Reis *et al.* (2019), onde 18 dos 28 fármacos investigados foram detectados nos mananciais de abastecimento. A maior concentração observada foi do analgésico e anti-inflamatório betametasona, seguido pela prednisona. As maiores frequências de detecção foram relacionadas aos fármacos atorvastatina, prednisona e fluconazol. A betametasona também apresentou frequência de detecção acima de 50% na ETA1.

Tabela 2-2 Frequência de detecção (FD) (%) e concentrações máximas (ng/L) detectadas dos fármacos nos mananciais de abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte.

	ETA 1 ^{2,3}		ETA 2 ²		ETA 3 ³		ETA 4 ³		ETA 5 ³		ETA 6 ³	
	FD	Max.	FD	Max.	FD	Max.	FD	Max.	FD.	Max.	FD.	Max.
BET	52%	6.371	17%	4.109	42%	11.960	33%	4.354	25%	7.836	33%	3.662
CLA	-	nd	8%	168	-	nd	8%	199	-	nd	-	nd
FNZ	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	33%	33	-	nd
FNB	10%	275	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd
FEN	-	nd	-	nd	-	nd	8%	290	8%	119	8%	1.388
FLU	90%	1.413	58%	583	-	nd	75%	763	50%	1.294	8%	62
LOR	10%	123	-	nd	8%	56	25%	214	-	nd	17%	486
PRE	81%	2.632	33%	2.444	17%	2.085	83%	2.329	83%	8.105	25%	855
ATO	57%	639	42%	455	8%	109	67%	608	75%	1.020	-	nd
CAF	-	nd	8%	1.385	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd
DAN	14%	68	17%	35	-	nd	17%	61	33%	272	8%	23
ENO	5%	386	17%	354	-	nd	33%	257	17%	240	-	nd
ENR	10%	28	8%	64	-	nd	8%	13	50%	71	-	nd
MET	19%	203	-	nd	-	nd	8%	167	-	nd	-	nd
NOR	29%	156	33%	146	17%	89	33%	136	42%	285	-	nd
CET	38%	546	33%	298	-	nd	25%	1.020	42%	959	8%	22
GEM	29%	899	33%	475	8%	220	17%	211	50%	948	8%	12
IBU	5%	333	-	nd	-	nd	8%	302	-	nd	-	nd

Reis *et al.* (2019); ²Rio; ³Reservatório; nd: não detectado. Abreviações: betametasona (BET), fenazona (FNZ), fenilbutazona (FNB), cetoprofeno (CET), ibuprofeno (IBU), metformina (MET), fluconazol (FLU), prednisona (PRE), danofloxacino (DAN), enoxacino (ENO), enrofloxacino (ENR), norfloxacino (NOR), loratadina (LOR), atorvastatina (ATO), fenofibrato (FEN), gemfibrozil (GEM), claritromicina (CLA) e cafeína (CAF).

2.3.2 Priorização dos fármacos quanto à ocorrência, persistência, bioacumulação e toxicidade

A Tabela 2-3 apresenta a classificação dos fármacos de acordo com os critérios ocorrência, persistência, bioacumulação e toxicidade, bem como sua classificação final.

Tabela 2-3 Classificação dos fármacos detectados na Região Metropolitana de Belo Horizonte quanto à ocorrência, persistência, bioacumulação e toxicidade crônica.

	Persistência ¹				Bioacumulação ²		Toxicidade Crônica ³				Ocorrência ⁴		Classificação Final ⁵
	BIOWIN2	BIOWIN3	BIOWIN6	Nível	BCF	Nível	[mg/L]			Nível	[Max, µg/L]	Nível	
							Peixes	Daphnia	Algas				
Atorvastatina	0,0033	2,1572	0,0000	4	56,23	1	0,009	0,014	0,120	4	1.020	2	11
Cafeína	0,5625	2,7700	0,0521	3	3,16	1	577,393	209,991	228,425	1	1.385	2	7
Danofloxacino	0,0000	1,5802	0,0000	4	3,16	1	607,157	236,514	282,747	1	0,272	1	7
Enoxacino	0,0000	1,7271	0,0001	4	3,16	1	1953,508	650,519	626,876	1	0,386	1	7
Enrofloxacino	0,0000	1,5757	0,0000	4	3,16	1	367,321	152,294	198,357	1	0,071	1	7
Metformina	0,7642	2,9137	0,2379	3	3,16	1	91933,688	17071,402	7371,292	1	0,203	1	6
Norfloxacino	-0,3916	1,9435	0,0001	4	3,16	1	2349,069	764,451	713,737	1	0,285	1	7
Betametasona	0,0003	1,7584	0,0015	4	8,85	1	54,467	28,852	52,626	1	11.96	3	9
Claritromicina	0,0000	1,2007	0,0000	4	56,49	1	5,980	4,496	13,271	2	0,199	1	8
Fenazona	0,8943	2,8052	0,0962	3	3,16	1	238,313	96,244	120,908	1	0,033	1	6
Fenilbutazona	0,9832	2,8600	0,0180	3	56,49	1	1,252	1,023	3,386	2	0,275	1	7
Fenofibrato	0,5052	2,0426	0,1025	4	322,20	1	0,056	0,068	0,390	4	1.388	2	11
Fluconazol	0,0000	1,4963	0,0000	4	3,16	1	752,456	280,142	314,701	1	1.413	2	8
Loratadina	0,0195	1,7358	0,0010	4	1253,00	2	0,024	0,032	0,217	4	0.486	1	11
Prednisona	0,0006	1,8632	0,1452	4	4,27	1	63,884	32,817	57,384	1	8.105	2	8
Cetoprofeno	0,0770	2,9265	0,1848	3	3,16	1	28,783	20,737	57,725	1	1.020	2	7
Gemfibrozil	0,8552	2,5906	0,6123	3	3,16	1	0,889	0,979	4,889	3	0,899	1	8
Ibuprofeno	0,8672	2,9582	0,1521	3	3,16	1	4,939	4,305	15,574	2	0,333	1	7

¹BIOWIN3 (BioWin v4.10); ²BCF (BCFBAF v3.10); ³Toxicidade crônica (ECOSAR V2.0). Valores em negrito são os menores valores de toxicidade crônica que foram utilizados para a classificação;

⁴Máximo MEC (Reis *et al.*, 2019); ⁵A classificação final corresponde à soma das classificações nos 4 critérios.

Em relação à persistência, com exceção dos fármacos cafeína, metformina, fenazona, fenilbutazona, cetoprofeno e gemfibrozil, todos os fármacos foram classificados como nível 4 porque se enquadram nos critérios $BIOWIN6 < 0,5$ e $BIOWIN3 < 2,2$. Os demais fármacos foram classificados como nível 3, uma vez que $2,2 \leq BIOWIN3 < 3$. Os níveis 3 e 4 são os que representam maior preocupação, o que demonstra a característica de persistência dos compostos farmacêuticos. A persistência de um composto é definida por sua capacidade de permanecer estável no meio ambiente e é governada por suas propriedades e pelas condições ambientais, sendo um parâmetro importante para identificar compostos persistentes, bioacumulativos e tóxicos. Os fármacos são projetados para serem resistentes à biodegradação com o objetivo de melhorar seus efeitos biológicos. Além disso, os fármacos são frequentemente detectados em ambientes aquáticos pois os mesmos são continuamente lançados no meio ambiente por meio das ETEs mais rapidamente do que suas taxas de remoção ambiental (FATTA-KASSINOS et al., 2011; BU et al., 2016).

A tendência à bioconcentração de uma substância em organismos aquáticos é geralmente expressa por meio do fator de bioconcentração (BCF), que consiste na razão de equilíbrio entre a concentração da substância no organismo exposto e a concentração da substância dissolvida no ambiente (BARRON, 1990). De acordo com o BCF, apenas a loratadina foi classificada como nível 2, enquanto os outros 17 fármacos foram classificados como nível 1. Além do BCF, o logaritmo do coeficiente de partição octanol-água ($\log Kow > 3$) também é um critério útil para identificar uma tendência de acumulação. Esse coeficiente descreve a magnitude da diferença entre a solubilidade de um composto na água e sua solubilidade no solvente orgânico octanol, o que gera uma estimativa do seu potencial de bioacumulação e bioconcentração (ZAGATTO E BERTOLETTI, 2008). Neste estudo, o $\log Kow$ dos fármacos claritromicina, gemfibrozil, fenofibrato, atorvastatina e loratadina é superior a 3, o que indica um potencial de bioacumulação e bioconcentração (Tabela 5-2) (ZENKER *et al.*, 2014).

A partir dos resultados de toxicidade crônica, 14 fármacos foram classificados nos níveis 1 e 2. Os fármacos atorvastatina, fenofibrato e loratadina foram classificados como nível 4 e o fármaco gemfibrozil foi classificado como nível 3. Como mencionado anteriormente, o menor valor de toxicidade crônica foi utilizado na classificação.

Em relação à ocorrência, com exceção da betametasona (nível 3), todos os fármacos foram classificados nos níveis 1 e 2. Apesar disso, todos os fármacos foram detectados pelo menos

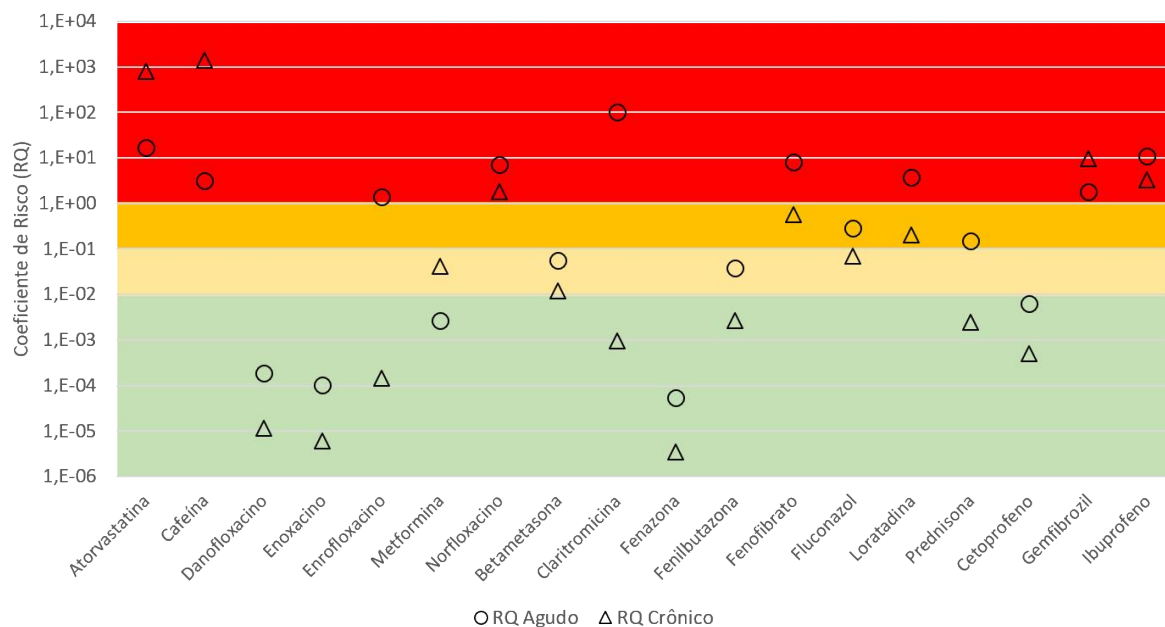
uma vez em concentrações superiores a 0,01 µg/L, o que indica que a segunda fase da avaliação de risco ecotoxicológico deve ser realizada, conforme mencionado anteriormente (EMEA, 2018).

A classificação final indicou que as maiores pontuações em relação as propriedades físico-químicas foram apresentadas pelos fármacos atorvastatina, fenofibrato, loratadina (pontuação 11), betametasona (pontuação 9) e claritromicina, fluconazol, prednisona e gemfibrozil (pontuação 8).

2.3.3 Risco ecotoxicológico individual dos fármacos

O risco ecotoxicológico individual dos fármacos é apresentado na Figura 2-1. Os resultados completos são apresentados no Apêndice (Tabela 5-5). Não foram encontrados dados de toxicidade para os fármacos danofloxacino, enoxacino, fenazona, fenilbutazona, loratadina e cetoprofeno. Os dados de toxicidade foram incompletos para grande parte dos fármacos e, nesses casos, a toxicidade foi estimada pelo ECOSAR (Tabela 5-3 e Tabela 5-4).

Figura 2-1 Máximo coeficiente de risco ecotoxicológico dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte.



Dos 18 fármacos, apenas 4 apresentaram PNEC agudo maior que PNEC crônico (Tabela 5-5), indicando que, em geral, as estimativas utilizando PNEC agudo foram mais conservadoras, especialmente devido ao maior valor de AF (Figura 2-1). As 4 exceções são os reguladores

lipídicos atorvastatina e gemfibrozil, a cafeína e o antidiabético metformina. Esses resultados estão em acordo com Vestel *et al.* (2016), que comparou a toxicidade crônica e aguda de 102 princípios ativos.

Os maiores coeficientes de risco foram apresentados pelos fármacos cafeína (RQ Crônico = 1385) e atorvastatina (RQ Crônico = 784). Esses fármacos também foram associados a riscos elevados ($RQ \geq 1$) para efeitos agudos. Os fármacos norfloxacino e ibuprofeno apresentaram risco elevado ($RQ \geq 1$), tanto para efeitos crônicos quanto agudos, e também os fármacos enrofloxacino, claritromicina, gemfibrozil, loratadina e fenofibrato, considerando apenas os efeitos agudos. Os fármacos fenofibrato, loratadina e gemfibrozil foram associados a risco médio considerando efeitos crônicos.

Os fármacos cafeína e ibuprofeno também foram associados a risco elevado quando detectados em águas superficiais do nordeste do Brasil (CHAVES *et al.*, 2020). O enrofloxacino, por sua vez, é um antibiótico muito utilizado na medicina veterinária. Estudos anteriores relacionaram esse antibiótico a baixo risco ecotoxicológico nas concentrações detectadas em efluentes de ETEs (ZHANG *et al.*, 2017) e águas superficiais (TONG *et al.*, 2011).

O fármaco fenofibrato, utilizado no tratamento de colesterol elevado, também foi associado a médio risco ecotoxicológico por Verlicchi *et al.* (2012), que investigaram a ocorrência desse e outros compostos em efluentes de hospitais e em ETEs no norte da Itália. Em 2017, foram comercializadas no Brasil entre 1 a 10 milhões de doses dos fármacos fenofibrato (ANVISA, 2018). O consumo estimado dos outros fármacos é apresentado no Apêndice (Tabela 5-2).

Os fármacos danofloxacino, enoxacino, metformina, cetoprofeno, fenazona, betametasona e fenilbutazona apresentaram risco insignificante ($RQ < 0,01$) ou baixo ($0,01 \leq RQ < 0,1$), considerando efeitos agudos e crônicos. Os fármacos enrofloxacino, fluconazol, claritromicina e prednisona também apresentaram risco insignificante, considerando apenas efeitos crônicos.

Neste estudo, em geral, os menores valores de PNEC resultaram nos maiores valores do coeficiente de risco (cafeína, atorvastatina, ibuprofeno, gemfibrozil e norfloxacino). Em relação aos efeitos agudos, essa tendência também foi observada para os fármacos claritromicina e enrofloxacino. Como o cálculo do coeficiente de risco depende da concentração de efeito e da concentração ambiental do fármaco (MEC), baixos valores de PNEC não resultam

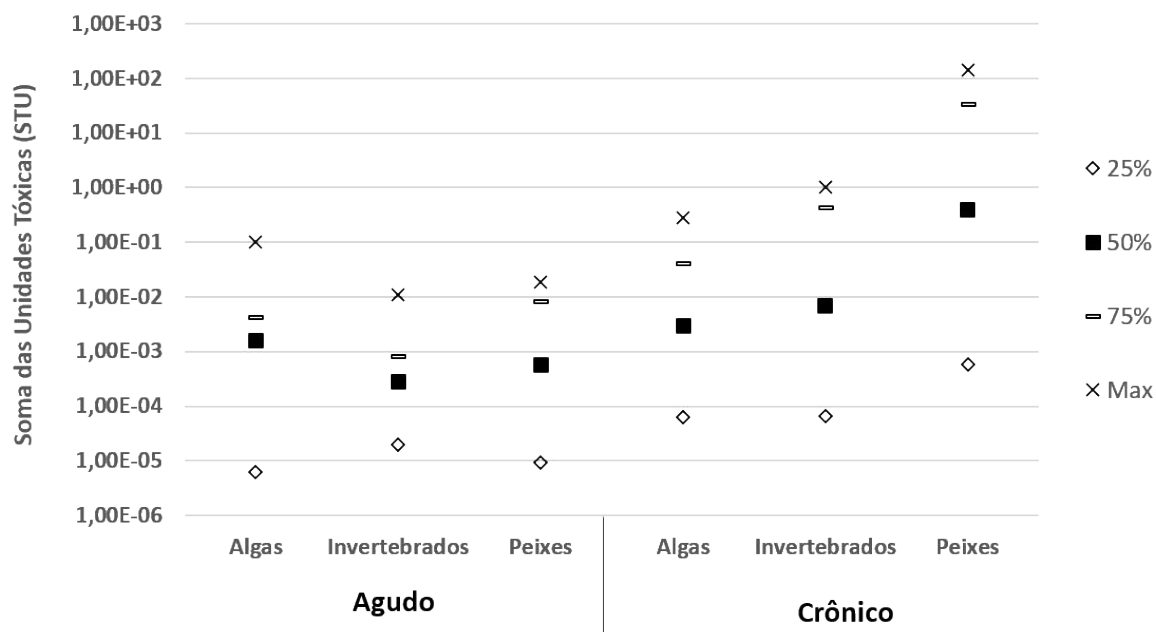
necessariamente em riscos elevados. Como exemplo, os fármacos loratadina, fenofibrato, metformina e fluconazol apresentaram risco baixo ou insignificante, apesar dos baixos valores de PNEC crônico (Tabela 5-5). Em relação à concentração ambiental, as maiores concentrações foram reportadas para os fármacos betametasona (11.960 ng/L) e prednisona (8.105 ng/L).

2.3.4 Risco ecotoxicológico das misturas de fármacos

2.3.4.1 Soma das Unidades Tóxicas (STU)

A Figura 2-2 apresenta a STU dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento das ETAs da RMBH.

Figura 2-2 Soma das unidades tóxicas dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte



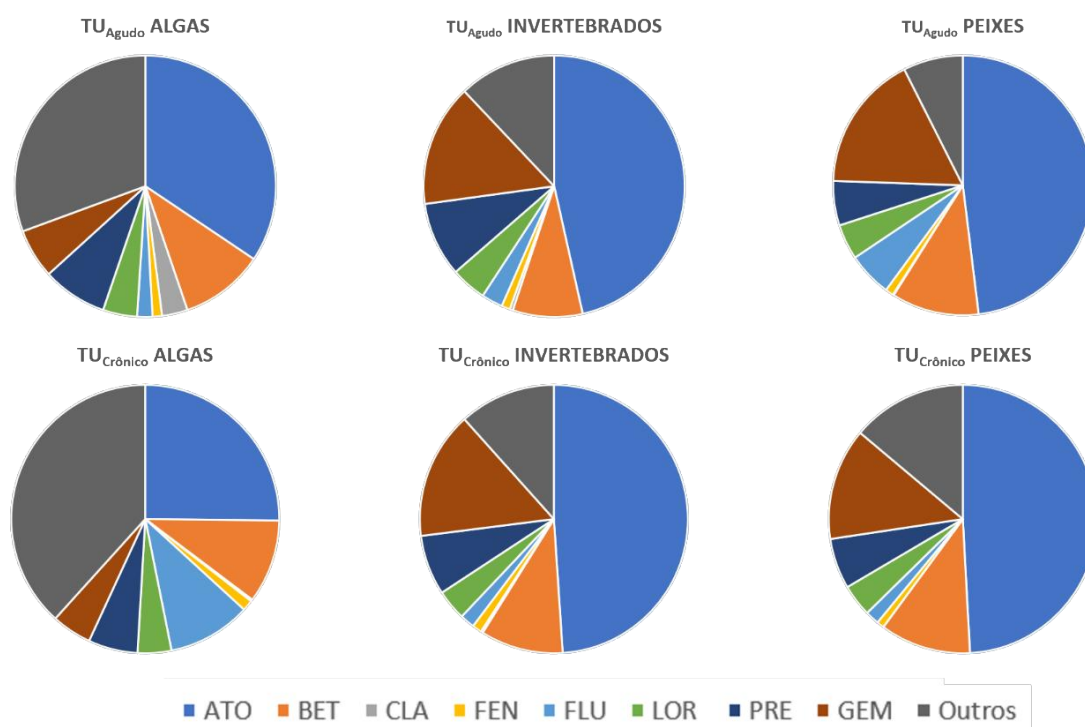
Apesar da variação ao longo do ano de monitoramento, considerando os dados de toxicidade aguda, os resultados indicaram uma maior sensibilidade pelo grupo das algas. Esse padrão é consistente com outros estudos que estimaram a toxicidade a partir de dados agudos (BACKHAUS e KARLSSON, 2014; SANTOS *et al.*, 2020;). Considerando os dados de toxicidade crônica, os organismos mais sensíveis foram os peixes. Esses resultados demonstram a importância de considerar os efeitos crônicos na avaliação de risco. Os fármacos são desenvolvidos com base em atividades biológicas específicas em um grupo de animais, especialmente mamíferos. Como muitos desses sistemas são conservados entre os vertebrados,

as semelhanças nos processos fisiológicos tornam os peixes suscetíveis aos efeitos provocados por fármacos nos ambientes aquáticos (BECKERS *et al.*, 2018; CORCORAN *et al.*, 2010).

A TU dos fármacos atorvastatina, norfloxacino e fluconazol frequentemente excedeu 10^{-3} (Apêndice Tabela 5-6). Conseqüentemente, a STU foi superior a 10^{-3} para aproximadamente 50% dos cenários avaliados. STU variou de 0 a $1,4 \times 10^2$ (Tabela 5-6, Figura 2-2). De acordo com a diretriz da agência dos Estados Unidos *Food and Drug Administration* (FDA), 10^{-3} é o valor crítico para o primeiro nível da avaliação de risco (baseado em dados de toxicidade aguda de 1 espécie) (FDA, 1998).

A contribuição individual dos fármacos para a STU é apresentada na Figura 2-3. Os resultados completos são apresentados na Tabela 5-6.

Figura 2-3 Contribuição média individual dos fármacos para a soma das unidades tóxicas para algas, invertebrados e peixes.



Abreviações: ATO (atorvastatina); CLA (claritromicina); BET (betametasona); FEN (fenofibrato); FLU (fluconazol); LOR (loratadina); PRE (prednisona) e GEM (gemfibrozil).

Em geral, o risco ecotoxicológico foi impulsionado principalmente pelo fármaco atorvastatina. A atorvastatina é frequentemente usada para a redução do colesterol e sua contribuição para o risco ecotoxicológico foi estudada anteriormente. Rocco *et al.* (2012) destacou a necessidade

de monitoramento desse regulador lipídico nos ambientes aquáticos, ao destacar seu potencial de provocar efeitos genotóxicos ao peixe *Danio rerio* nas concentrações detectadas em efluentes domésticos da Itália. Resultado similar foi reportado por Gros *et al.* (2010), na qual a atorvastatina foi associada a elevado risco ecotoxicológico na concentração detectada em efluentes de ETEs no nordeste da Espanha. No mesmo estudo, o risco foi considerado baixo para a concentração detectada em águas superficiais. Segundo dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), foram comercializadas no Brasil entre 1 a 10 milhões de doses do fármaco atorvastatina em 2017 (ANVISA, 2018).

A contribuição média dos oito fármacos classificados como prioritários para a STU foi superior a 80% para todos os grupos de organismos, exceto para as algas (cerca de 60%). Em relação às algas, o risco ecotoxicológico da mistura também foi impulsionado pelo antibiótico norfloxacino. Backhaus e Karlsson (2014) destacaram a toxicidade desse antibiótico para o grupo das algas devido ao seu modo de ação biocida, especialmente para as cianobactérias. Para esse grupo de organismos, a TU dos antibióticos norfloxacino e enrofloxacino frequentemente excedeu 10^{-3} . Apesar de sua elevada toxicidade, esses antibióticos apresentaram baixa frequência de detecção no monitoramento realizado (Tabela 2-2).

2.3.4.2 Soma dos coeficientes de risco (SRQ)

A Tabela 2-4 apresenta o resumo da avaliação do risco ecotoxicológico da mistura de fármacos detectados nos mananciais de abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte. Os resultados apresentados na Tabela 2-4 indicaram elevado risco ecotoxicológico da mistura dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento da ETA1, ETA2, ETA4 e ETA5. Na ETA3 e na ETA6, elevado risco ecotoxicológico foi indicado somente no pior cenário, isto é, considerando as concentrações máximas dos fármacos. A diferença entre a qualidade da água dos mananciais de abastecimento foi destacada por Reis *et al.* (2019), e está relacionada principalmente ao grau de influência antrópica nos diferentes pontos de amostragem.

Tabela 2-4 Resumo da avaliação do risco ecotoxicológico da mistura de fármacos detectados nos mananciais de abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte.

		ETA1	ETA2	ETA3	ETA4	ETA5	ETA6
Agudo SRQ	Média	8,7	3,5	0,0	10,3	10,8	0,0
	Contribuição¹	88%	87%	100%	99%	78%	100%
	Máximo	18,5	84,2	4,1	99,9	23,5	11,9
	Contribuição¹	40%	100%	46%	100%	73%	100%
Crônico SRQ	Média	306,1	50,9	0,0	298,5	427,8	0,0
	Contribuição¹	100%	100%	100%	100%	100%	100%
	Máximo	491,5	1385,0	84,4	468,1	786,2	0,8
	Contribuição¹	100%	0%	99%	100%	100%	100%
RQ_{STU}	Média	7,2	3,6	0,0	9,9	10,3	0,0
	Máximo	11,5	84,0	2,9	99,5	18,2	11,2
	SRQ/ RQ_{STU}	1,2	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

¹Contribuição dos fármacos prioritários: atorvastatina, claritromicina, betametasona, fenofibrato, fluconazol, loratadina, prednisona e gemfibrozil.

Considerando SRQ, os oito fármacos classificados como prioritários contribuíram em mais de 75% do risco ecotoxicológico na maioria dos cenários. As exceções foram o pior cenário das ETA 1, ETA3 e ETA 5 (agudo), e da ETA2 (crônico). Nesses casos, o antibiótico norfloxacino foi responsável por 54% e 27% do risco ecotoxicológico da mistura na ETA3 e na ETA5, respectivamente, e o analgésico e anti-inflamatório ibuprofeno contribuiu com 60% do risco na ETA1. Em relação à ETA2, a cafeína foi responsável por 100% do risco da mistura no pior cenário, considerando efeitos crônicos. Apesar desses resultados, esses fármacos apresentaram uma baixa frequência de detecção ao longo do ano de monitoramento (< 50%). Nos meses de outubro de 2016 e março de 2017, o antibiótico claritromicina foi responsável por 100% do risco ecotoxicológico na ETA 2 e na ETA 4. Contudo, esse fármaco foi detectado somente nessas duas amostras ao longo do ano de monitoramento, o que indica que fármacos com baixa frequência de detecção podem ter grande influência no risco ecotoxicológico da mistura.

Apesar das exceções apresentadas, considerando a dificuldade e os custos para o monitoramento desses compostos nos ambientes aquáticos, bem como da realização de ensaios ecotoxicológicos, os resultados demonstraram que metodologias de priorização baseadas nas propriedades físico-químicas dos fármacos podem ser utilizadas como um guia para o gerenciamento de risco de misturas complexas. Em geral, alguns fármacos contribuíram mais para o risco da mistura, enquanto os fármacos danofloxacino, enoxacino, metformina, fenazona, fenilbutazona e cetoprofeno tiveram apenas uma contribuição insignificante. Esses resultados

são consistentes com outros estudos, em que também poucos compostos foram responsáveis por grande parte do risco ecotoxicológico da mistura (BACKHAUS e KARLSSON, 2014; BECKERS *et al.*, 2018).

A Tabela 2-4 também apresenta os valores de RQ_{STU} . Os valores de RQ_{STU} foram semelhantes aos de SRQ, conforme demonstrado pelo cálculo da razão entre SRQ e RQ_{STU} . O cálculo de RQ_{STU} é baseado nos conceitos do modelo de adição de concentração, uma vez que as unidades tóxicas dos fármacos são calculadas para o mesmo grupo de espécies. Por outro lado, a soma dos coeficientes de risco (SRQ) é conceitualmente diferente do modelo, pois é baseada nos menores valores do RQ, calculados utilizando dados de ecotoxicidade para espécies diferentes. No entanto, SRQ pode ser considerada uma estimativa prática do modelo de adição de concentração, sendo frequentemente utilizada como o primeiro nível da avaliação de risco ecotoxicológico de misturas (BACKHAUS, 2016; KIENZLER *et al.*, 2019).

Os resultados apresentados neste estudo evidenciam um cenário preocupante e desafiador para o Brasil. O país enfrenta muitos problemas de saneamento, visto que muitas cidades não têm estações de tratamento de esgoto e, portanto, o reuso não planejado e indireto da água é uma realidade. Muitos cursos d'água no Brasil recebem lançamento de esgotos domésticos sem tratamento, e são utilizados como mananciais de abastecimento, o que pode acarretar também riscos à saúde humana (MONTAGNER *et al.* 2019; REIS *et al.* 2019). Além disso, o país apresenta desigualdades em relação à distribuição da população, desenvolvimento econômico, clima e condições de saneamento e, portanto, a ocorrência dos fármacos pode variar nas diferentes regiões geográficas. Assim, considerando os recursos financeiros e de tempo limitados, a metodologia de priorização discutida neste estudo poderia ser aplicada para selecionar os fármacos de maior importância em cada região.

2.4 CONCLUSÃO

A presença de fármacos nas águas superficiais brasileiras é uma realidade. Com o objetivo de determinar o risco ambiental das misturas farmacêuticas detectadas na RMBH, foi aplicada uma metodologia de priorização e a avaliação do risco ecotoxicológico, utilizando o cálculo das unidades tóxicas e do coeficiente de risco.

O risco da mistura dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento da RMBH variou de 0 a 1385. As algas foram os organismos mais sensíveis quanto aos efeitos agudos, enquanto os peixes foram os mais afetados pelos efeitos crônicos. Esses resultados destacam a importância de se considerar os efeitos crônicos na avaliação de risco, embora a falta de dados de toxicidade crônica ainda seja um grande desafio nesse contexto. O coeficiente de risco das misturas de fármacos frequentemente excedeu 1, indicando potencial risco para o meio ambiente. O regulador lipídico atorvastatina foi responsável por grande parte do risco.

A aplicação da metodologia de priorização baseada nas propriedades físico-químicas dos compostos ressaltou o potencial toxicológico dos fármacos, nessa ordem: atorvastatina, fenofibrato, loratadina, betametasona, claritromicina, fluconazol, prednisona e gemfibrozil. Esses fármacos foram responsáveis por mais de 75% do risco da mistura em grande parte dos cenários avaliados. Assim, a metodologia de priorização proposta pode ser uma ferramenta valiosa para o gerenciamento de risco, especialmente no Brasil, onde a ocorrência de fármacos varia significativamente nas regiões geográficas e os recursos financeiros são limitados.

3 AVALIAÇÃO PRELIMINAR DO RISCO À SAÚDE HUMANA DOS
FÁRMACOS DETECTADOS NA REGIÃO METROPOLITANA DE BELO
HORIZONTE

3.1 INTRODUÇÃO

A exposição contínua às baixas concentrações de fármacos pode aumentar a probabilidade de riscos à saúde humana (LARSSON, 2014) e a ingestão de água constitui a principal via de exposição não intencional aos fármacos (WEN *et al.*, 2014). Nesse sentido, a avaliação de risco surge como uma ferramenta que auxilia na prevenção e redução dos possíveis impactos dessa exposição, à medida que, a partir de sua utilização, é possível avaliar o risco associado aos diferentes cenários de exposição. A avaliação de risco pode ser utilizada também pelos órgãos reguladores para fundamentar as legislações de proteção ambiental e de qualidade da água. Essa ferramenta tem sido frequentemente utilizada na avaliação do risco à saúde humana (CAO *et al.*, 2020; PRAVEENA *et al.* 2019; SHARMA *et al.*, 2019).

Diante desse cenário, os objetivos específicos deste capítulo foram avaliar o risco à saúde humana dos fármacos detectados na RMBH, considerando: (a) a concentração individual dos fármacos; (b) diferentes faixas etárias da população; (c) a remoção pelas ETAs monitoradas; e a (d) sazonalidade.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Concentração dos fármacos

Assim como no Capítulo 2, a concentração dos fármacos foi obtida no estudo publicado por Reis *et al.* (2019). Para avaliação do risco à saúde humana, foram consideradas as concentrações detectadas nos mananciais de abastecimento e água tratada da RMBH, visto que alguns dos mananciais estudados abastecem comunidades por meio de captação direta. Mais informações sobre as propriedades físico-químicas dos fármacos e das ETAs são apresentadas no Apêndice (Tabela 5 1 e Tabela 5 2).

3.2.2 Risco à saúde humana dos fármacos

A avaliação de risco à saúde humana foi realizada para identificar os riscos potenciais dos fármacos detectados nas ETAs em diferentes fases da vida. O cálculo coeficiente de risco consistiu na razão entre a concentração ambiental medida (MEC) e valores orientadores na qual acredita-se que nenhum efeito adverso ocorrerá pela ingestão dos compostos durante o tempo de vida do indivíduo (DWEL, do inglês *Drinking Water Equivalent Level*), conforme a Equação 13:

$$RQ = \frac{MEC}{DWEL} \quad \text{Equação 13}$$

Neste estudo, o valor de MEC corresponde à concentração dos fármacos detectados nas águas dos mananciais e na água tratada, permitindo assim a avaliação do processo de tratamento para redução do risco para a saúde humana. O valor do DWEL foi estimado conforme proposto por Gaffney *et al.* (2015) (Equação 14):

$$DWEL = \frac{ADI \times BW \times HQ}{DWI \times AB \times FOE} \quad \text{Equação 14}$$

Em que: ADI é a dose aceitável de ingestão ($\mu\text{g}/\text{kd}.\text{dia}$), BW representa a mediana da massa corporal dos indivíduos nos diferentes estágios da vida (kg), HQ é o coeficiente de risco, DWI é a ingestão diária de água ($\text{L}.\text{dia}^{-1}$), AB representa a taxa de absorção intestinal e FOE é a frequência de exposição ao fármaco. Conforme proposto por Gaffney *et al.* (2015), o valor dos índices HQ e AB foi considerado 1 e FOE foi considerado 0,96, o que representa uma exposição de 350 dias por ano. Os valores de BW e DWI foram adotados de acordo com a Tabela 3-1.

Tabela 3-1 Grupos etários selecionados e respectivos valores de massa corporal e ingestão de água (CDC, 2002; EPA, 2011)¹

Grupos de idade	Massa Corporal (kg)	<i>Drinking Water Intake Level</i> (L/day)
0 - 3 meses	5,6	1,15
3 - 6 meses	7,2	1,14
6 - 12 meses	9,4	1,18
1 - 2 anos	12	0,85
2 - 3 anos	13	0,83
3 - 6 anos	19	1,16
6 - 11 anos	36	1,55
11 - 16 anos	56	1,9
16 - 18 anos	57	1,77
Adultos (>18 anos)	60	2,04

¹Gaffney *et al.* (2015)

O risco da mistura de fármacos foi calculado somando o coeficiente de risco individual dos fármacos. Assim como no Capítulo 2, o RQ foi classificado em quatro categorias: insignificante ($RQ < 0,01$), baixo ($0,01 \leq RQ < 0,1$), médio ($0,1 \leq RQ < 1$) e elevado ($RQ \geq 1$) (LIN et al., 2016; LI et al., 2020).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Ocorrência de fármacos nos mananciais de abastecimento e na água tratada

A concentração máxima e a frequência de detecção dos fármacos nos mananciais de abastecimento das ETAs foram anteriormente apresentadas na Tabela 2-2. A Tabela 3-2 apresenta essas informações para a água tratada. 10 dos 28 fármacos investigados foram detectados na água tratada, sendo que as maiores frequências de detecção foram relacionadas aos fármacos fluconazol e prednisona, enquanto as maiores concentrações referem-se aos fármacos betametasona e prednisona. Os resultados completos foram reportados por Reis *et al.* (2019).

Tabela 3-2 Frequência de detecção (FD) (%) e concentrações máximas (ng/L) detectadas dos fármacos na água tratada das Estações de Tratamento de Água da Região Metropolitana de Belo Horizonte.

	ETA 1		ETA 2		ETA 3		ETA 4		ETA 5		ETA 6	
	Max.	FD	Max.	FD	Max.	FD	Max.	FD	Max.	FD	Max.	FD
ATO	515	25	363	8	nd	-	439	42	657	50	nd	-
DAN	19	17	nd	-	nd	-	nd	-	42	8	nd	-
ENR	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	17	8	nd	-
NOR	13	8	43	17	nd	-	nd	-	210	33	nd	-
BET	2164	33	950	17	1961	17	1615	17	2620	17	564	8
FLU	629	83	278	42	nd	-	601	67	750	50	nd	-
LOR	67	8	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	55	8
PRE	1113	67	1083	25	1305	17	829	58	6323	83	20	8
CET	392	25	nd	-	nd	-	450	17	561	17	nd	-
GEM	43	17	85	8	nd	-	62	17	293	50	nd	-

Reis *et al.* (2019); ²Rio; ³Reservatório; nd: não detectado. Abreviações: betametasona (BET), cetoprofeno (CET), fluconazol (FLU), prednisona (PRE), danofloxacino (DAN), enrofloxacino (ENR), norfloxacino (NOR), loratadina (LOR), atorvastatina (ATO), gemfibrozil (GEM).

3.3.2 Avaliação do risco à saúde humana

3.3.2.1 Risco individual dos fármacos

A Tabela 3-3 apresenta os valores de ADI ($\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{dia}$) reportados na literatura e os valores calculados de DWEL nas diferentes faixas etárias para os fármacos detectados na RMBH. Não foram encontrados os valores de ADI na literatura para os fármacos fenazona, fenilbutazona, danofloxacino e enoxacino.

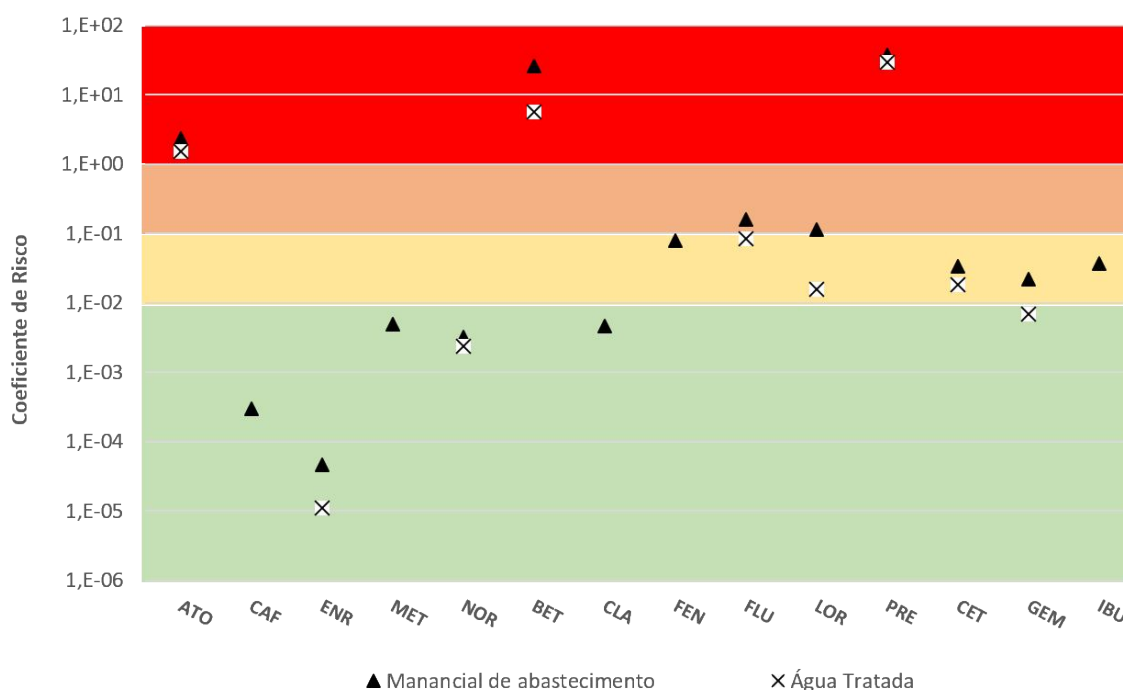
Tabela 3-3 Valores de Acceptable Daily Intake (ADI) ($\mu\text{g}/\text{kg day}$) reportados na literatura e valores do Drinking Water Equivalent Level (DWEL) nas diferentes faixas etárias para os fármacos detectados nos mananciais de abastecimento e na água tratada da Região Metro

Fármaco	ADI ($\mu\text{g}/\text{Kg.day}$)	Referência	Drinking Water Equivalent Level (DWEL)									Adultos (>18 anos)
			0 - 3 meses	3 - 6 meses	6 - 12 meses	1 - 2 anos	2 - 3 anos	3 - 6 anos	6 - 11 anos	11 - 16 anos	16 - 18 anos	
Atorvastatina	0,014	KHAN e NICELL, 2015	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,3	0,4	0,5	0,4
Cafeína	150	GAFFNEY <i>et al.</i> (2015)	760,9	986,8	1244,7	2205,9	2447,3	2559,3	3629,0	4605,3	5031,8	4595,6
Enrofloxacino	50	FAO/WHO (1995)	253,6	328,9	414,9	735,3	815,8	853,1	1209,7	1535,1	1677,3	1531,9
Enoxacino	2857	SENGAR E VIJAYANANDAN (2022)	14492,0	18796,1	23707,5	42014,7	46612,7	48745,5	69121,0	87714,9	95838,6	87530,6
Metformina	1,1	KHAN e NICELL, 2015	5,6	7,2	9,1	16,2	17,9	18,8	26,6	33,8	36,9	33,7
Norfloxacino	2,9	KHAN e NICELL, 2015	14,7	19,1	24,1	42,6	47,3	49,5	70,2	89,0	97,3	88,8
Betametasona	0,015	EMEA, 1999 apud KHAN e NICELL, 2015	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,4	0,5	0,5	0,5
Claritromicina	1,4	KHAN e NICELL, 2015	7,1	9,2	11,6	20,6	22,8	23,9	33,9	43,0	47,0	42,9
Fenofibrato	0,57	KHAN e NICELL, 2015	2,9	3,8	4,7	8,4	9,3	9,7	13,8	17,5	19,1	17,5
Fluconazol	0,29	KHAN e NICELL, 2015	1,5	1,9	2,4	4,3	4,7	4,9	7,0	8,9	9,7	8,9
Loratadina	0,14	KHAN e NICELL, 2015	0,7	0,9	1,2	2,1	2,3	2,4	3,4	4,3	4,7	4,3
Prednisona	0,0071	KHAN e NICELL, 2015	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
Cetoprofeno	1	EMEA, 1999 apud KHAN e NICELL, 2015	5,1	6,6	8,3	14,7	16,3	17,1	24,2	30,7	33,5	30,6
Gemfibrozil	1,4	KHAN e NICELL, 2015	7,1	9,2	11,6	20,6	22,8	23,9	33,9	43,0	47,0	42,9
Ibuprofeno	0,29	KHAN e NICELL, 2015	1,5	1,9	2,4	4,3	4,7	4,9	7,0	8,9	9,7	8,9

Conforme pode ser observado na Tabela 3-3, grande parte dos valores de ADI adotados foram utilizados anteriormente por Khan e Nicell (2015) em um estudo que investigou o risco à saúde humana de 355 fármacos detectados na água tratada, baseando-se nas concentrações previstas e medidas no Canadá. Como ressaltam os próprios autores, os valores de ADI utilizados pelos mesmos foram conservadores, visando evitar resultados falso negativos. Assim, foram utilizados fatores de incerteza elevados, variando de 10 a 10000.

O risco à saúde humana individual dos fármacos é apresentado na Figura 3-1. Os resultados completos são apresentados no Apêndice (Tabela 5-7). Os resultados destacados na Figura 3-1 representam o pior cenário para a faixa etária dos adultos, visto que foram consideradas as concentrações máximas para o cálculo do coeficiente de risco.

Figura 3-1 Máximo coeficiente do risco à saúde humana dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento e na água tratada da Região Metropolitana de Belo Horizonte.



Como pode ser observado na Figura 3-1, os fármacos atorvastatina, betametasona e prednisona foram associados a risco elevado para a saúde humana, considerando o cálculo do coeficiente de risco para os mananciais de abastecimento e para a água tratada. Em relação ao regulador lipídico e de colesterol atorvastatina, Houtman *et al.* (2014) anteriormente havia destacado o baixo valor de ADI e seu potencial carcinogênico. Khan e Nicell (2015) também recomendaram a priorização no monitoramento e o aprofundamento na avaliação de risco desse fármaco. Estudos que avaliaram a presença e a ocorrência dos fármacos prednisona e betametasona não

reportaram risco, pois os mesmos não foram detectados nas amostras analisadas (GAFFNEY *et al.*, 2015; KHAN e NICELL, 2015).

Os valores do coeficiente de risco, considerando as concentrações máximas detectadas, variaram de $1,1 \times 10^{-5}$ (Enrofloxacino, água tratada) a $3,7 \times 10^1$ (Prednisona, manancial de abastecimento), valores superiores aos reportados por muitos estudos (PRAVEENA *et al.*, 2019; CAO *et al.*, 2020; SIMAZAKI *et al.*, 2015). Sengar e Vijayanandan (2021), no entanto, reportaram valores de RQ superiores a 100 nas águas superficiais e na água subterrânea da Índia para as faixas etárias de 1 -2 anos e 16 – 21 anos.

Assim como no cálculo do risco ecotoxicológico, os baixos valores de ADI foram responsáveis pelos elevados valores do coeficiente de risco à saúde humana. Apesar da elevada concentração dos fármacos detectados nos ambientes aquáticos e na água tratada da RMBH (REIS *et al.*, 2019), na ordem de $\mu\text{g/L}$, os valores de ADI para os fármacos atorvastatina, prednisona e betametasona são pelo menos 10 vezes inferiores aos valores de ADI aos demais fármacos estudados, e estão na ordem de ng/L . No caso da atorvastatina, o baixo valor de ADI está relacionado a sua contraindicação para mulheres grávidas (FDA, 2021). Resultados similares foram reportados por Dai *et al.* (2021). Entre os 20 fármacos estudados, os autores reportaram que os baixos valores de ADI dos hormônios 17β -estradiol, estriol e estrona explicam os maiores valores do coeficiente de risco apresentados por esses fármacos, considerando todas as faixas etárias avaliadas.

3.3.2.2 Risco nas diferentes faixas etárias

A Figura 3-2 apresenta a soma dos valores de RQ para todas as faixas etárias, considerando para o cálculo a concentração média detectada dos fármacos durante o período de monitoramento. O uso de diferentes grupos etários no cálculo de RQ é útil para reduzir as incertezas envolvidas na avaliação de risco à saúde humana e para identificar grupos de idade mais vulneráveis (SHARMA *et al.*, 2019).

Figura 3-2 Soma dos coeficientes de risco (RQ) médio dos principais fármacos detectados nos mananciais de abastecimento (à esquerda) e na água tratada (à direita) de seis Estações de Tratamento de Água (ETA) da Região Metropolitana de Belo Horizonte em diferentes

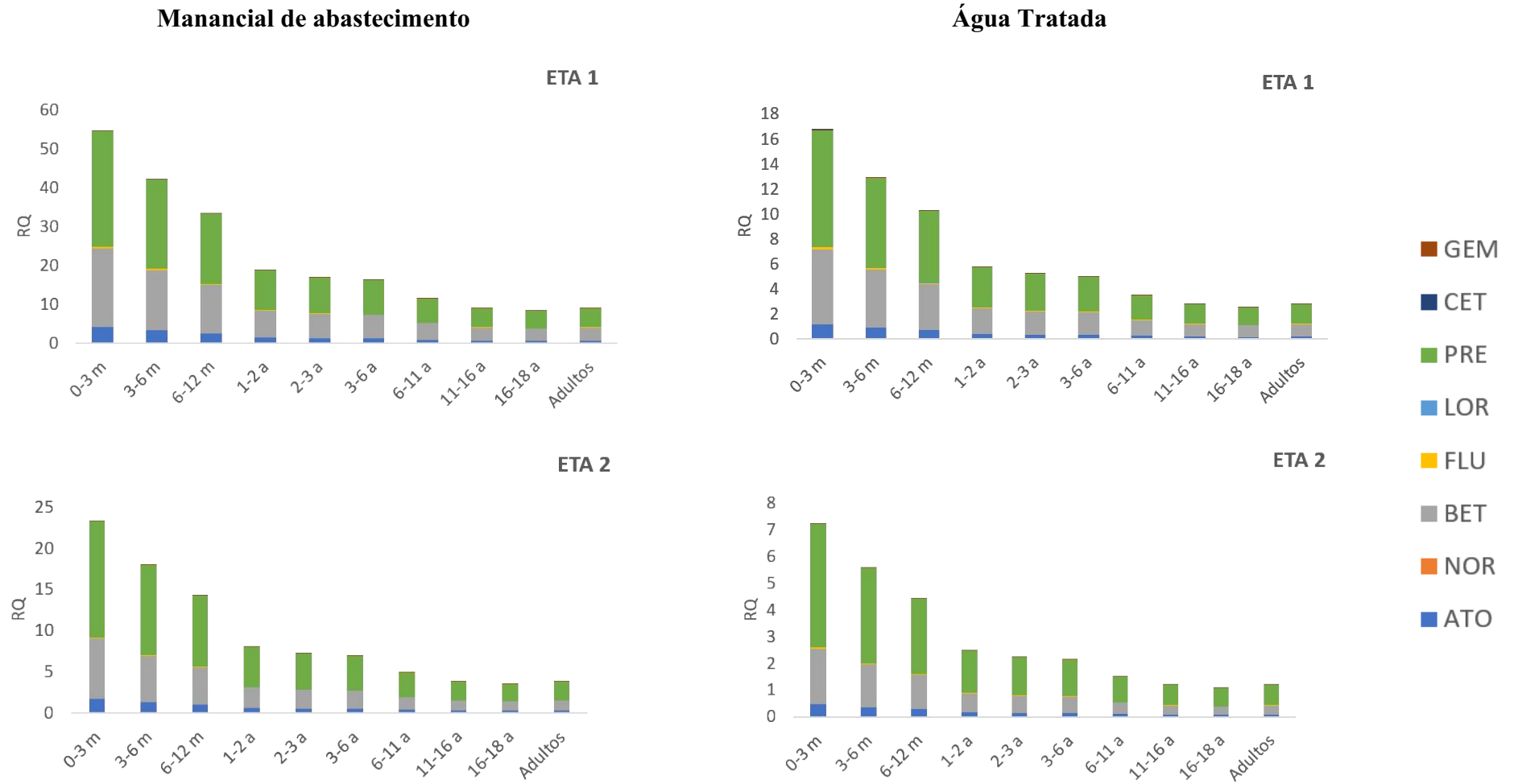


Figura 3-2– (continuação)

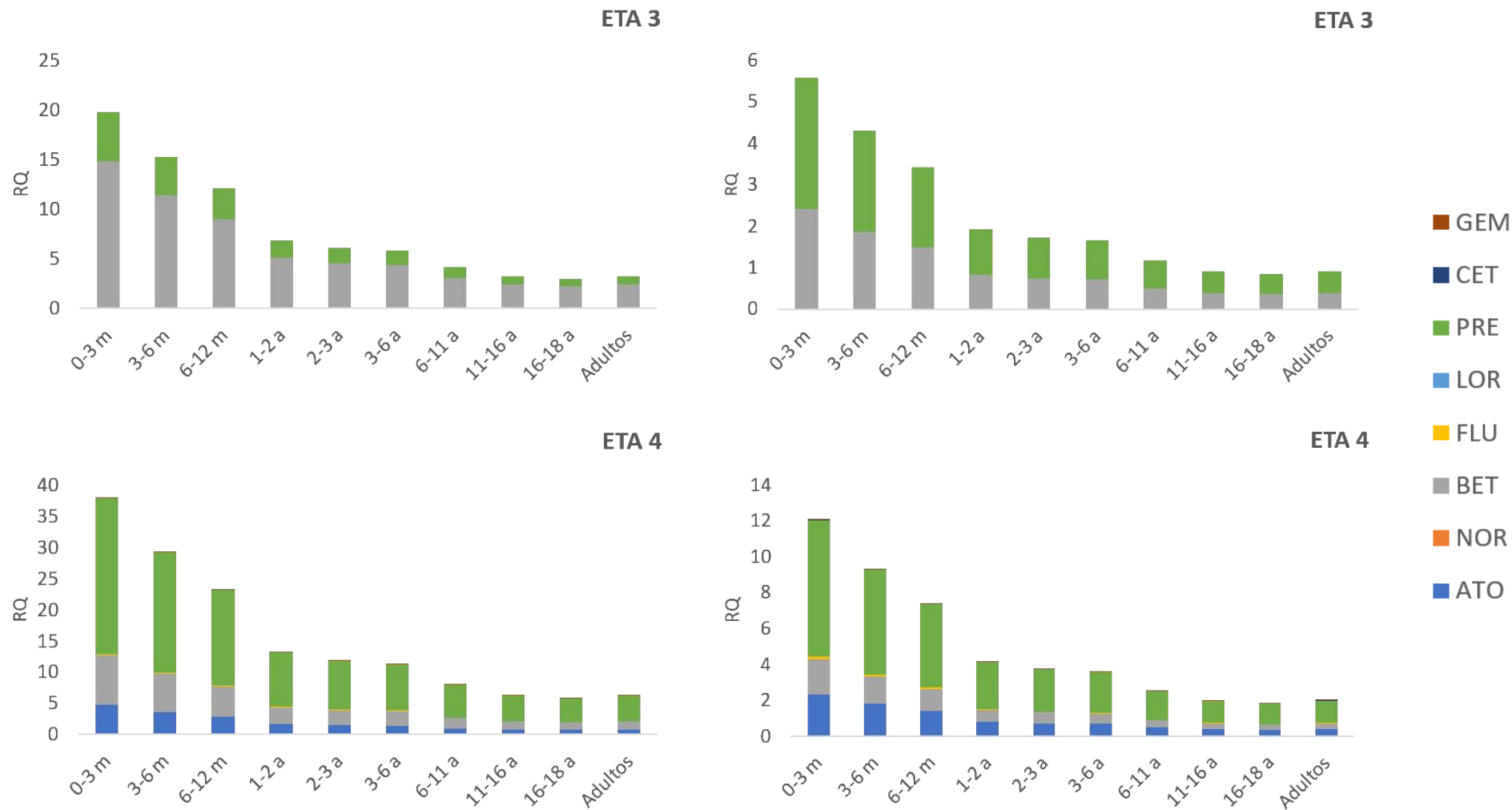
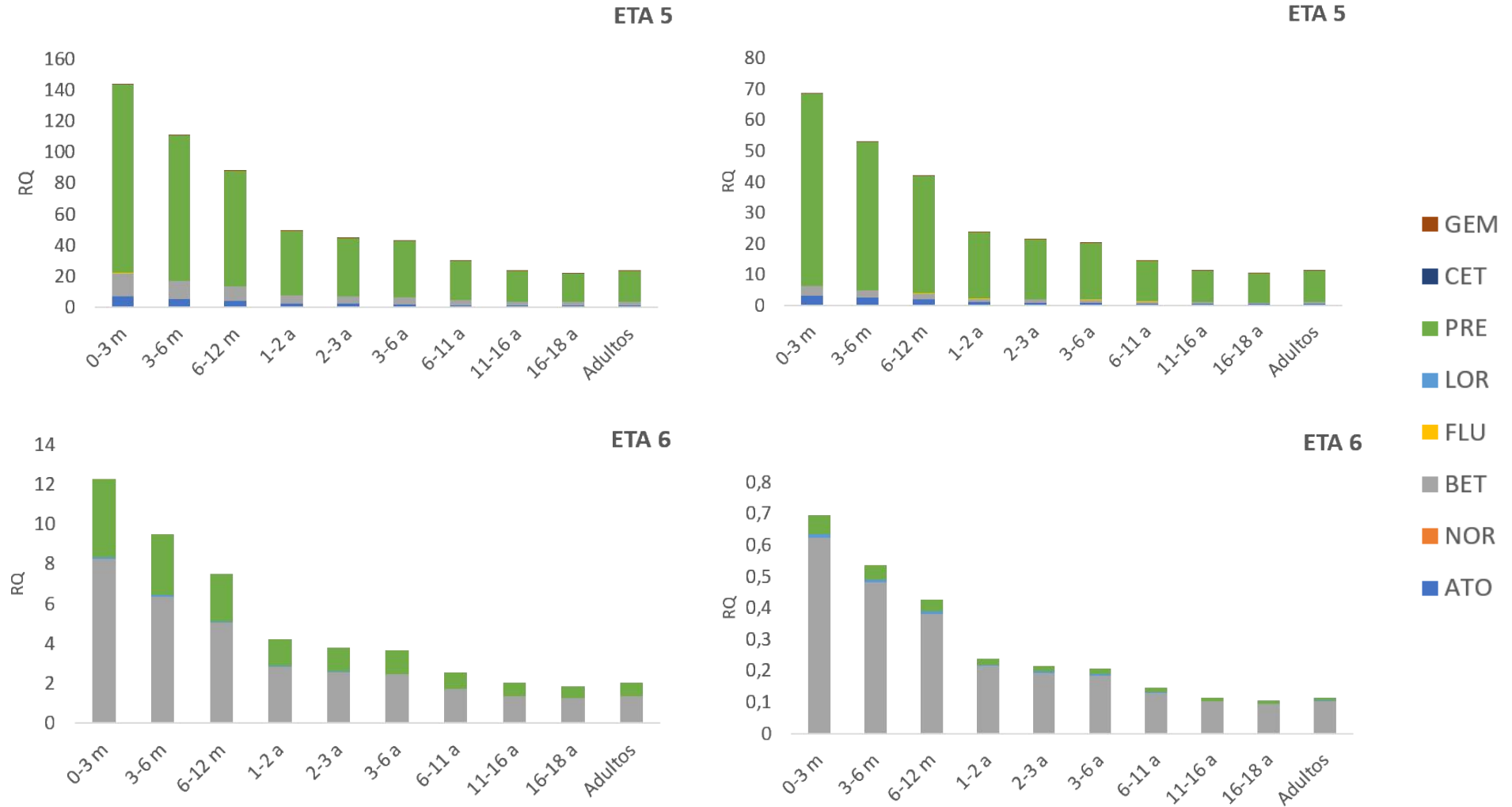


Figura 3-2– (continuação)



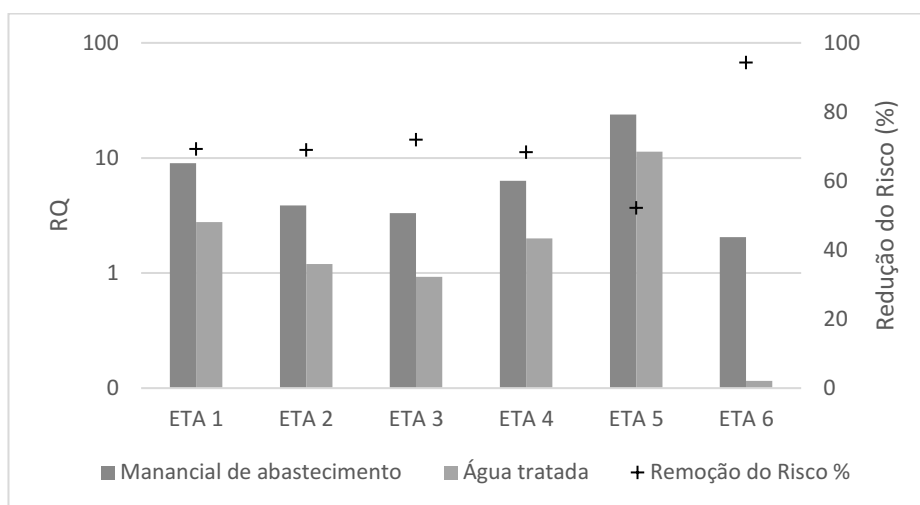
Conforme pode ser observado na Figura 3-2, a soma dos coeficientes de risco foi superior a 1 (risco elevado) em todos os cenários considerados, com exceção da água tratada da ETA6. Os fármacos atorvastatina, betametasona e prednisona foram responsáveis pelo risco elevado em todas as ETAs, sendo que, com exceção desses fármacos, todos os outros apresentaram risco insignificante à saúde humana ($RQ < 0,01$).

Além disso, é possível observar que, devido à menor massa corporal, o coeficiente de risco foi superior nas menores faixas etárias e diminuiu ao longo da vida do indivíduo. Na faixa etária de 0 a 3 meses, o coeficiente de risco foi aproximadamente 6 vezes maior em comparação com os adultos. Esse resultado é similar aos resultados de outros estudos que utilizaram os valores de referência de massa corporal e ingestão de água da USEPA (GAFFNEY *et al.*, 2015; SHARMA *et al.*, 2019; WEN *et al.*, 2014). Diferenças entre a massa corporal e a ingestão de água entre os países pode afetar diretamente essa análise. Estudos que consideraram dados sobre a população chinesa, por exemplo, reportaram que o maior risco foi associado à faixa etária dos 9 meses a 2 anos (CAO *et al.*, 2020). No Brasil, a pesquisa de orçamentos familiares do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) disponibiliza dados sobre a massa corporal dos brasileiros (IBGE, 2010), contudo não foram encontrados dados sobre a média de ingestão de água nas diferentes faixas etárias. Portanto, a consideração dos dados da população dos Estados Unidos da América representa uma limitação do presente estudo. Apesar dessa limitação, os resultados apresentados nesse estudo podem ser utilizados como uma referência para o gerenciamento de risco no Brasil.

3.3.2.3 Redução do risco nas Estações de Tratamento de Água

Com o objetivo de avaliar o desempenho das ETAS na redução do risco à saúde humana, a Figura 3-3 apresenta a soma dos coeficientes de risco dos fármacos detectados (considerando a concentração média dos fármacos e faixa etária adultos) e a eficiência de remoção do risco pelas ETAs (%). O processo de tratamento adotado pelas ETAs estudadas é apresentado na Tabela 5-1 (Apêndice).

Figura 3-3 Coeficiente de risco calculado para a mistura de fármacos detectados nos mananciais de abastecimento e na água tratada das Estações de Tratamento de Água (ETAs) da Região Metropolitana de Belo Horizonte, e eficiência de remoção do risco pelo tratamento



Em geral, a concentração dos fármacos detectados na água tratada das ETAs da RMBH foi superior às reportadas em outros países (CAO *et al.*, 2020; PRAVEENA *et al.*, 2019), mas similar a outros estudos brasileiros (MALDANER e JARDIM, 2012; SODRÉ *et al.*, 2010). Montagner *et al.* (2019) avaliaram o risco à saúde humana de fármacos detectados nas águas superficiais e na água tratada do estado de São Paulo por 10 anos. Os autores reportaram risco somente para o hormônio 17- β -estradiol. Moreira *et al.* (2011) também reportaram a possibilidade de risco à saúde humana para os hormônios 17- α -etinilestradiol e 17- β -estradiol, detectados nos mananciais de abastecimento da RMBH.

Grande parte das ETAs brasileiras adotam o sistema convencional de tratamento de água, que inclui as etapas de coagulação/floculação, sedimentação, filtração e desinfecção. Tal configuração muitas vezes é ineficaz na remoção completa dos fármacos (HUERTA-FONTELA *et al.* 2011; PAI *et al.*, 2020), visto que tais ETAs são prioritariamente projetadas para a remoção de sólidos e patógenos. Além disso, conforme discutido anteriormente, a qualidade dos mananciais de abastecimento brasileiros muitas vezes está comprometida devidos às condições precárias de saneamento no país.

Observa-se que os maiores valores do coeficiente de risco e menor redução do risco estão associados à ETA5. Em geral, a eficiência de remoção dos fármacos na ETA5 foi inferior às outras ETAs (Reis *et al.*, 2019). Contudo, esse resultado está diretamente relacionado à baixa eficiência de remoção do fármaco prednisona, que foi responsável por 90% do risco. Conforme

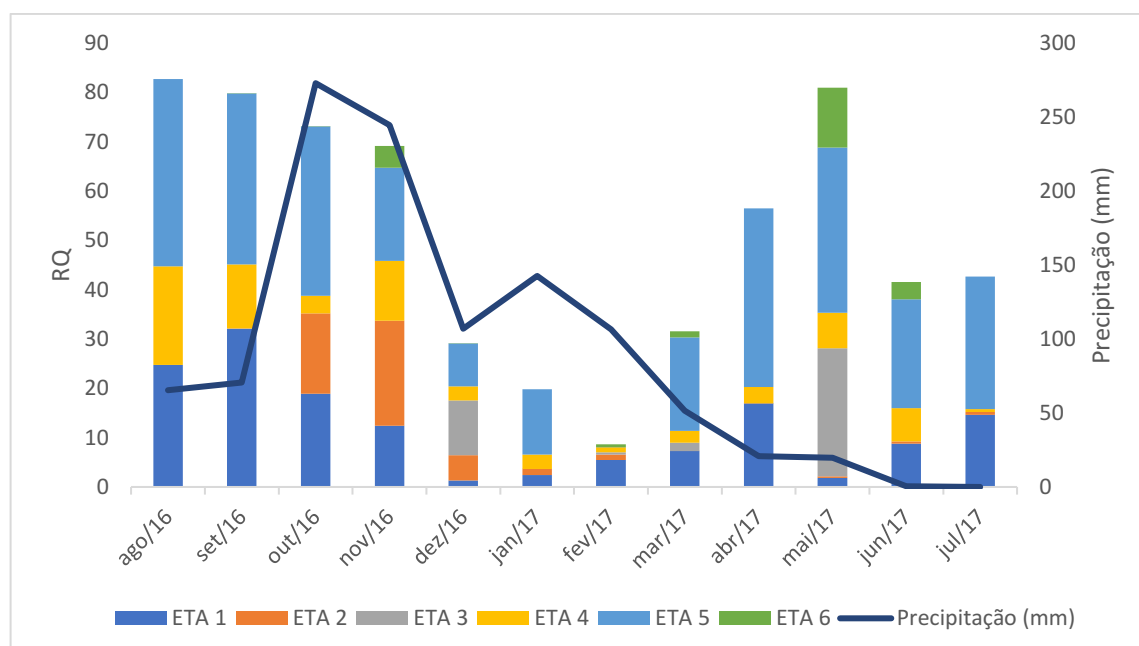
discutido por Reis *et al.* (2019), em comparação aos outros mananciais de abastecimento estudados, a qualidade da água do manancial de abastecimento da ETA5 encontra-se comprometida devido à influência antrópica. Diferentemente das outras ETAs, a ETA5 adota estrategicamente uma etapa de flotação de ar dissolvido como uma alternativa à sedimentação e utiliza carvão ativado em pó devido à frequente floração de algas.

Na ETA6 e na ETA3, o risco associado ao consumo de água reduziu da categoria elevado ($RQ > 1$) para médio ($0,1 \leq RQ < 1$). Na ETA6, houve redução de aproximadamente 95% do risco após o tratamento, devido à elevada remoção dos fármacos betametasona ($91 \pm 18\%$) e prednisona ($99 \pm 1\%$). Na ETA3, a redução do risco está associada principalmente a remoção do fármaco betametasona no tratamento ($70 \pm 10\%$) (Reis *et al.*, 2019). Nas ETAs 1, 2 e 4, houve redução de aproximadamente 70% do risco, devido principalmente à remoção dos fármacos betametasona, atorvastatina e prednisona. A contribuição desses fármacos para o risco após o tratamento variou entre as ETAs: atorvastatina (0 - 19%), betametasona (4 - 90%) e prednisona (9 - 90%).

3.3.2.4 Sazonalidade

A Figura 3-4 apresenta a variação mensal do risco à saúde humana e da precipitação (mm) ao longo do ano de monitoramento. Os resultados apresentados representam a soma do risco nos mananciais de abastecimento das ETAs monitoradas.

Figura 3-4 Variação mensal da precipitação total (mm) e do risco da mistura dos fármacos.



A avaliação da sazonalidade do risco à saúde humana nos mananciais de abastecimento pode fornecer informações que auxiliem as companhias de saneamento no gerenciamento do risco, como por exemplo informar sobre a necessidade de reforçar o tratamento em épocas do ano em que o risco é maior. A variação da concentração dos fármacos ao longo das estações do ano tem sido avaliada por diversos autores, que reportaram que essa variação pode ocorrer devido à sazonalidade no uso dos fármacos e, principalmente, às condições ambientais, como precipitação, radiação solar e temperatura (PADHYE *et al.*, 2014; MENDOZA *et al.*, 2014; LINDHOLM-LEHTO *et al.*, 2016). É possível observar na Figura 3-4 que o risco à saúde humana nas ETAs avaliadas foi maior entre os meses de agosto e outubro de 2016, e a partir de abril de 2017, períodos relacionados à menor precipitação. A diluição tem um papel importante na concentração dos fármacos e, normalmente, períodos mais secos são associados às maiores concentrações (AZZOUZ e BALLESTEROS, 2013). Além da precipitação, o verão brasileiro, período de dezembro a março, é caracterizado por altas temperatura e maior incidência de luz, o que contribui para a degradação dos fármacos nos mananciais de abastecimento (VALCÁRCEL *et al.*, 2013; VIENO *et al.*, 2005).

Apesar da relação entre a concentração dos fármacos e o risco à saúde humana, é importante ressaltar que o cálculo do risco também considera as características toxicológicas do fármaco em análise e, portanto, nem sempre maiores concentrações indicam risco mais elevado. Ao

longo dessa discussão, foi possível perceber que, apesar dos fármacos betametasona e prednisona terem sido detectados em elevadas concentrações no monitoramento realizado na RMBH (REIS *et al.*, 2019), os baixos valores de ADI foram determinantes para o elevado risco associado a esses compostos. Esse padrão também foi observado para o fármaco atorvastatina. Nesse sentido, apesar de no mês de setembro de 2016 a concentração total dos fármacos ter sido maior que em agosto de 2016 (REIS *et al.*, 2019), o risco à saúde humana no mês de agosto foi maior. A maior concentração total dos fármacos em setembro de 2016 reportada anteriormente por Reis *et al.* (2019) está relacionada, principalmente, a detecção dos fármacos gemfibrozil (ADI = 1,4 µg/kg.dia) e fluconazol (ADI = 0,29 µg/kg.dia) nas ETAs 1, 2, 4 e 5. Contudo, o valor de ADI para esses fármacos é, pelo menos, 19 vezes maior que dos fármacos prednisona (ADI = 0,0071 µg/kg.dia), atorvastatina (ADI = 0,014 µg/kg.dia) e betametasona (ADI = 0,015 µg/kg.dia). Esses resultados sugerem que, além do foco na remoção dos compostos nas ETAs e ETAs, as ferramentas de gerenciamento de risco devem considerar a toxicidade dos fármacos detectados, a fim de priorizar aqueles que podem representar maior risco à saúde humana.

3.4 CONCLUSÃO

O risco à saúde humana dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento e água tratada da RMBH foi calculado por meio da determinação do coeficiente do risco, considerando a concentração dos fármacos e dados de toxicidade reportados na literatura. A partir dessa análise, é possível investigar, de forma preliminar, se tais fármacos podem acarretar impactos para a saúde humana. Dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento e na água tratada, o regulador lipídico e de colesterol atorvastatina, o anti-inflamatório e analgésico betametasona e o imunossupressante prednisona destacaram-se pelo seu elevado risco, em todas as ETAs avaliadas. Tais resultados, portanto, apontam o potencial toxicológico relacionado a esses fármacos nas concentrações detectadas nos ambientes aquáticos e na água tratada. Além disso, as menores faixas etárias foram consideradas mais vulneráveis ao risco, que diminui ao longo da vida do indivíduo. As ETAs avaliadas contribuíram para a remoção de 52 a 94% do risco à saúde humana, no entanto, somente em duas ETAs a classificação do risco foi alterada de elevado para médio após o tratamento. Nas outras ETAs, a redução não foi suficiente para alterar a classificação do risco. Os maiores valores de risco foram associados aos períodos de menor precipitação.

4 RISCO ECOTOXICOLÓGICO INDIVIDUAL E DA MISTURA DOS
FÁRMACOS ATORVASTATINA, BETAMETASONA, LORATADINA,
PREDNISONA E FENOFIBRATO

4.1 INTRODUÇÃO

Nos ambientes aquáticos, os organismos são simultaneamente expostos a uma variedade de compostos e, portanto, a avaliação de risco ecotoxicológico baseada na toxicidade individual dos compostos pode subestimar o real impacto ambiental dos contaminantes.

Estimar o risco resultante da combinação dos compostos presentes no meio ambiente não é uma tarefa simples, devido às inúmeras possibilidades de misturas, concentrações e condições ambientais existentes. Dessa forma, a literatura apresenta modelos com o objetivo de prever a toxicidade das misturas, como os modelos de adição de concentração, ação independente e índice de combinação. Os modelos de adição de concentração e ação independente assumem que os fármacos não interagem entre si (BACKHAUS, 2016). Ao utilizar o modelo de índice de combinação, no entanto, é possível prever a ocorrência dos fenômenos de sinergismo ou antagonismo na mistura (GEIGER *et al.*, 2016). Ressalta-se, ainda, que em grande parte dos ensaios ecotoxicológicos, as concentrações testadas são muito superiores às concentrações em que os compostos são normalmente detectados nos ambientes aquáticos (BEGHIN *et al.*, 2021). Portanto, é necessário a realização de ensaios em concentrações ambientalmente relevantes.

Nesse sentido, o presente capítulo buscou avaliar a toxicidade individual e da mistura dos fármacos atorvastatina, fenofibrato, loratadina, prednisona e valerato de betametasona. A seleção dos compostos baseou-se na avaliação de risco ecotoxicológico e à saúde humana, abordadas nos Capítulos 2 e 3. Primeiramente, foram realizados ensaios com o organismo *Ceriodaphnia dubia* para determinar a toxicidade aguda e crônica dos fármacos estudados. Em seguida, a mistura binária desses compostos foi avaliada em diferentes concentrações, e os resultados experimentais foram comparados com os modelos de adição de concentração, ação independente e índice de combinação. Por fim, os ensaios de toxicidade aguda e crônica foram realizados em concentrações ambientalmente relevantes.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Fármacos testados

Cinco fármacos foram selecionados nesse estudo: atorvastatina, valerato de betametasona, fenofibrato, loratadina e prednisona. Conforme mencionado anteriormente, a seleção desses compostos levou em consideração a ocorrência dos mesmos nas águas superficiais brasileiras, bem como a indicação de risco ecotoxicológico (REIS *et al.*, 2021; REIS *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2020). As soluções estoque foram preparadas em água de diluição considerando os limites de solubilidade de cada composto: atorvastatina (100 mg/L), fenofibrato (10 mg/L), loratadina (20 mg/L), valerato de betametasona (1 mg/L) e prednisona (10 mg / L).. Para a solubilização, foram utilizados os procedimentos estabelecidos guia de orientação para ensaios de toxicidade aquática com compostos difíceis da *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD, 2018). Quando necessário, os fármacos foram dissolvidos em metanol (solvente J.T. Baker™ HPLC) e foi utilizado o ultrassom. Uma concentração final de metanol (0,2% v/v) foi usada como controle do solvente. As soluções estoque foram armazenadas no escuro a 4°C para evitar a fotodegradação.

4.2.2 Ensaios de toxicidade

Os testes de toxicidade aguda do composto individual e da mistura foram realizados utilizando o organismo *Ceriodaphnia dubia* (USEPA, 2002). Neonatos com idade entre seis e vinte e quatro horas foram expostos às diferentes diluições da amostra, com dez réplicas para cada uma das diluições e para o controle (água de cultivo), cada uma contendo 15 mL de solução-teste e um organismo. Após 48 horas, o número de organismos imobilizados nas soluções-teste foi comparado com o grupo controle. Os resultados dos ensaios agudos foram expressos por meio da concentração de efeito média (EC50, 48h), calculada pelo método de *Spearman-Kärber*, utilizando o software CETIS (*Comprehensive Environmental Toxicity Information System*™, *Tidepool Scientific*, McKinleyville, CA, EUA).

A avaliação da toxicidade crônica para a *Ceriodaphnia dubia* foi realizada de acordo com a norma ABNT NBR 13373 (ABNT, 2017). Neonatos (< 24 horas) foram transferidos para frascos contendo 15 mL da solução teste, e foram mantidos cobertos na temperatura de 24°C, com fotoperíodo de 12 h de luz difusa. Cinco concentrações (dez repetições cada) foram testadas junto aos controles. Durante o ensaio, o organismo *C. dubia* foi alimentado diariamente

com uma suspensão da microalga *Raphidocelis subcapitata* e as soluções-teste foram renovadas duas vezes. Para a avaliação da sobrevivência e reprodução, o número de adultos sobreviventes e o número total de neonatos produzidos por fêmea adulta foi quantificado a cada renovação do meio e ao final do tempo de exposição, respectivamente. Os resultados foram comparados com o controle para a obtenção da EC50, concentração em que se observa efeito de imobilização em 50% dos organismos, ou IC50, concentração que inibe a reprodução em 50% dos organismos, juntamente do intervalo de confiança (95%). Foram empregados os métodos de *Spearman-Kärber* e interpolação linear com o uso do software CETIS.

4.2.3 Ensaios de sensibilidade

A sensibilidade do organismo de teste foi avaliada em paralelo com os ensaios de toxicidade usando cloreto de sódio (NaCl) como substância de referência. As concentrações de NaCl utilizadas para *C. dubia* foram 0; 0,188; 0,375; 0,75; 1,5 e 3 g/L, preparadas utilizando água de cultivo. O resultado foi expresso em EC50-7 dias, conforme recomendado pela norma ABNT NBR 13373 (ABNT, 2017).

4.2.4 Avaliação da toxicidade dos fármacos

4.2.4.1 Individual

Para a avaliação da toxicidade individual dos fármacos, foram realizados ensaios de toxicidade aguda e crônica. Primeiramente, foram realizados ensaios preliminares para determinar a faixa de concentração dos fármacos a ser adotada nos ensaios definitivos. Os ensaios definitivos foram realizados utilizando cinco concentrações igualmente espaçadas do fármaco, além dos controles. Foram testados os seguintes intervalos de concentração: atorvastatina (0,0625 - 100 mg/L), fenofibrato (0,00625 - 10 mg/L), loratadina (0,0625 - 20 mg/L), valerato de betametasona (0,0625 - 1 mg/L) e prednisona (0,625 - 10 mg / L).

Ademais, os fármacos foram classificados de acordo com o seu modo de ação utilizando a metodologia proposta por Verhaar *et al.* (1992). Para isso, foi utilizado o software *Toxtree*, disponível gratuitamente (<https://apps.ideaconsult.net/data/ui/toxtree>).

4.2.4.2 Misturas binárias

A avaliação da toxicidade das misturas binárias foi realizada por meio de testes de toxicidade aguda. Os ensaios de toxicidade aguda das misturas binárias foram realizados utilizando

proporções iguais das respectivas IC50 (= 1 unidade tóxica (TU)), com as seguintes concentrações: $\Sigma 0,125$ TU, $\Sigma 0,25$ TU, $\Sigma 0,5$ TU, $\Sigma 1$ TU e $\Sigma 2$ TU. As concentrações dos fármacos utilizadas nos ensaios com as misturas binárias são apresentadas na Tabela 4-1. Todas as soluções foram preparadas a partir da diluição das soluções estoque, utilizando água de diluição.

Tabela 4-1 Concentração dos fármacos utilizada nos ensaios com as misturas binárias.

Unidade Tóxica (TU)	Atorvastatina (mg/L)	Loratadina (mg/L)	Fenofibrato (mg/L)	Prednisona (mg/L)
Controle	0,0	0,0	0,0	0,0
0,2	6,2	0,5	0,8	1,1
0,4	12,3	0,9	1,7	2,3
0,6	18,4	1,4	2,5	3,4
0,8	24,6	1,9	3,4	4,6
1,2	36,9	2,8	5,0	6,8

Os dados experimentais nos ensaios foram comparados com a previsão dos modelos de adição de concentração (Equação 1) e ação independente (Equação 2) (BERENBAUM, 1985; BACKHAUS, 2016).

O cálculo do *Model Deviation Ratio* (MDR) foi utilizado para a comparação entre a toxicidade da mistura prevista pelos modelos e a toxicidade observada experimentalmente (BELDEN et al., 2007). O MDR consiste na razão entre a concentração de efeito prevista e observada. Valores de MDR acima de 1 indica que a toxicidade da mistura foi subestimada, enquanto valores de MDR abaixo de 1 indicam que a mesma foi superestimada pelo modelo. Devido à variabilidade inerente dos ensaios biológicos, valores de $0,5 \leq \text{MDR} \leq 2$ indicam aderência ao modelo em análise (GEIGER et al., 2016; COORS et al., 2018; WIECZERZAK et al., 2016).

O modelo índice de combinação (Equação 3) foi utilizado para prever e quantificar as possíveis interações toxicológicas entre os fármacos nas misturas binárias. O método proposto por Chou (2006) permite quantificar o sinergismo ($\text{CI} < 1$), antagonismo ($\text{CI} > 1$) e os efeitos aditivos ($\text{CI} = 1$) nas misturas, independentemente do modo de ação. Os parâmetros da curva dose-resposta e os valores do índice de combinação foram derivados do *Software Compusyn* (www.combosyn.com/) (CHOU e MARTIN, 2005).

4.2.4.3 Mistura dos 5 fármacos

Também foi avaliada a toxicidade aguda e crônica da mistura dos cinco fármacos (atorvastatina, loratadina, prednisona, valerato de betametasona e fenofibrato) em concentrações ambientalmente relevantes. A mistura foi preparada a partir da diluição das soluções estoque, utilizando água de diluição, sendo a concentração final de cada fármaco igual a 0,16 µg/L, 0,8 µg/L, 4 µg/L, 20 µg/L e 100 µg/L. O objetivo foi representar as concentrações nas quais os fármacos foram detectados nos ambientes aquáticos brasileiros (REIS *et al.*, 2019).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Ensaios de sensibilidade

Os valores de EC50 (7 d) e seus intervalos de confiança para o ensaio de sensibilidade ao cloreto de sódio (NaCl) com a *C. dubia* foram 0,94 g/L (0,74 – 1,11), similar ao reportado por Silva *et al.* (2021), que foi 1,05 g/L (0,71 – 1,15).

4.3.2 Toxicidade individual dos fármacos

A Tabela 4-2 apresenta as concentrações de efeito e os respectivos intervalos de confiança dos fármacos testados individualmente.

Tabela 4-2 Concentrações de efeito e seus respectivos intervalos de confiança dos fármacos atorvastatina, valerato de betametasona, fenofibrato, loratadina e prednisona obtidas a partir dos ensaios de toxicidade aguda e crônica com o organismo *Ceriodaphnia dubia*.

Fármaco	Log Kow ²	EC50 (ECOSAR) ³ mg/L	Sobrevivência (48 h)	Sobrevivência (168 h)	Reprodução
			EC ₅₀ 95% (C.I.) mg/L	EC ₅₀ 95% (C.I.) mg/L	IC ₅₀ 95% (C.I.) mg/L
Atorvastatina	6,36	0,048	30,78 (25,83 – 36,68)	15,39 (12,91 – 18,34)	1,69 (1,21 – 2,28)
Valerato de Betametasona	3,93	4,855	> 1,00 ¹	> 1,00 ¹	> 1,00 ¹
Fenofibrato	5,19	0,307	4,20 (2,77 – 6,38)	0,66 (0,40 – 1,09)	0,16 (0,15 – 0,23)
Loratadina	5,66	0,130	2,33 (1,88 – 2,89)	1,77 (1,42 – 2,20)	0,91 (0,66 – 0,91)
Prednisona	1,59	373,610	5,74 (4,57 – 7,21)	2,68 (2,09 – 3,43)	0,93 (0,53 – 1,53)

¹Concentração de efeito maior que a solubilidade do fármaco em água; ²Coefficiente de partição octanol-água (logKow) (BCFBAF v3.01); ³Toxicidade Aguda (ECOSAR V2.0).

Em relação aos efeitos agudos, todos os compostos foram classificados como tóxicos para o meio aquático, de acordo com o *Globally Harmonized System* para classificação e rotulagem de produtos químicos, exceto o valerato de betametasona (GHS, 2011). Ainda de acordo com essa classificação, os fármacos fenofibrato, loratadina e prednisona foram classificados na categoria agudo II ($1 < EC_{50} 48h \leq 10$ mg/L), e a atorvastatina foi classificada como agudo III ($10 < EC_{50} 48h \leq 100$ mg/L). De acordo com os valores de EC50 obtidos, a classificação dos fármacos em relação à toxicidade aguda para o organismo *C. dubia* foi: LOR > FEN > PRE >

ATO. Não foi possível determinar a concentração de efeito do fármaco valerato de betametasona devido à sua baixa solubilidade em água.

É importante ressaltar que as concentrações dos fármacos utilizadas nos ensaios de toxicidade aguda são muito superiores às normalmente detectadas nos ambientes aquáticos (ng ou µg/L) (REIS et al., 2019; SANTOS et al., 2020). No entanto, esses valores fornecem uma indicação preliminar das concentrações de efeitos dos fármacos e pode ser útil para determinar as concentrações testadas nos ensaios de toxicidade crônica.

Em relação aos efeitos crônicos, os fármacos loratadina e fenofibrato foram classificados como tóxicos para o meio aquático na categoria crônico II (crustáceos) ($1 < EC_{50} 48h \leq 10$ mg/L, $\log K_{ow} > 4$), e a atorvastatina foi classificada como crônico III ($10 < EC_{50} 48h \leq 100$ mg/L, $\log K_{ow} > 4$). Os fármacos prednisona e valerato de betametasona não foram classificados em relação a sua toxicidade crônica pois os valores do logaritmo do coeficiente de partição octanol-água ($\log K_{ow}$) desses fármacos são inferiores ao valor 4. Este critério visa reconhecer apenas aqueles compostos com alto potencial de bioconcentração (GHS, 2011). A classificação dos fármacos em relação à toxicidade crônica para o organismo *C. dubia* foi: FEN > LOR > PRE > ATO.

Existem poucos dados de toxicidade publicados relativos aos fármacos estudados. Assim, o presente estudo contribuiu para o preenchimento dessa lacuna na literatura. Embora nos últimos anos o número de trabalhos sobre os efeitos ecotoxicológicos dos fármacos tenham aumentado, devido à grande variedade de compostos produzidos, as informações disponíveis sobre toxicidade ainda são escassas ou ausentes para a maioria deles. Em relação ao fenofibrato, foi encontrado apenas um estudo que analisou a toxicidade para o organismo *Ceriodaphnia dubia*, e nesse estudo o fenofibrato apresentou um valor de EC_{50} (7 dias) 0,76 mg/L, similar ao valor de 0,66 mg/L encontrado pelo presente estudo (ISIDORI et al., 2007). Em relação ao fármaco atorvastatina, Dussault et al. (2007) reportaram o valor de 14,3 mg/L (LC_{50} – 10 d) para o invertebrado *Chironomus tentans* e 1,5 mg/L para o invertebrado *Hyalella azteca*. Além desses, Al-Aidaros et al. (2017) reportaram um valor de LC_{50} (96 h) de 2,6 mg/L para o crustáceo *Amphibalanus amphitrite*. Em relação ao fármaco prednisona, DELLAGRECA et al. (2002) reportaram a LC_{50} (96h) de 54,60 mg/L para o invertebrado *Brachionus calyciflorus*. Para o fármaco loratadina, Iesce et al. (2019) reportaram valores de toxicidade aguda (LC_{50} , 24h) e crônica (EC_{50} , reprodução) de 0,6 mg/l e 0,3 mg/L para o organismo *C. dubia*, respectivamente.

Outros dados de toxicidade para crustáceos e outros invertebrados não foram encontrados no banco de dados ECOTOX (USEPA).

A Tabela 4-3 apresenta a classificação dos fármacos estudados, de acordo com o modo de ação.

Tabela 4-3 Classificação dos fármacos estudados de acordo com o modo de ação

Fármaco	Modo de ação¹
Atorvastatina	Classe 5 – Não pode ser classificado de acordo com a metodologia
Fenofibrato	Classe 1 - Narcose
Loratadina	Classe 4 – Modo de ação específico
Prednisona	Classe 1 – Narcose
Valerato de betametasona	Classe 3 – Reativos

¹Classificação dada pelo software ToxTree de acordo com a metodologia proposta por (Vehraar *et al.*, 1992)

De acordo com a Tabela 4-3, os fármacos fenofibrato e prednisona apresentam modo de ação inespecífico, chamado de narcose, em que a toxicidade é governada pela hidrofobicidade. Assim, na ausência de modos de ação específicos de toxicidade, um composto será, dentro de certos limites, sempre tão tóxico quanto indica sua hidrofobicidade (logKow). O logKow descreve o potencial de bioacumulação de um composto e é frequentemente utilizado para descrever a sua toxicidade. No presente estudo, com exceção da atorvastatina, essa tendência foi observada para dados de toxicidade aguda. A toxicidade do tipo narcose também é chamada de toxicidade de "linha de base" (*baseline toxicity*) ou toxicidade mínima (VERHAAR *et al.*, 1992), pois todos os compostos têm o potencial de agir como narcóticos, mas os compostos podem apresentar excesso de toxicidade por conterem subestruturas químicas que facilitam mecanismos específicos (ELLISON *et al.*, 2015). Sandersom e Thomsen (2009) analisaram o modo de ação de 275 fármacos de diferentes classes terapêuticas e concluíram que narcose é o modo de ação ecotoxicológico agudo em aproximadamente 70% dos fármacos avaliados. Considerando dados crônicos, existem muitas incertezas sobre o modo de ação dos fármacos nas diferentes espécies, pois diferentes metabolismos, vias enzimáticas e similaridade de sistemas receptores podem desempenhar papéis importantes na expressão de toxicidade (SANDERSON e THOMSEN, 2009).

Segundo a metodologia de Verhaar, o fármaco loratadina apresenta modo de ação específico, o que significa que esse composto apresenta toxicidade devido à uma interação específica com certas moléculas receptoras (VERHAAR *et al.*, 1992). Exemplos de compostos dessa classe incluem ésteres de fosfato orgânicos e compostos que possuem grupos aromáticos, como a

loratadina (SCHULTZ e CRONIN, 1997). O fármaco valerato de betametasona, por sua vez, foi classificado como reativo, o que indica compostos com uma maior toxicidade que a de linha de base (VERHAAR *et al.*, 1992). Devido à baixa solubilidade desse fármaco, não foi possível comparar sua concentração de efeito com os dados do ECOSAR, que corresponde a previsão da toxicidade do composto considerando o modo de ação narcose. Por fim, devido à sua estrutura molecular, não foi possível classificar o fármaco atorvastatina pela metodologia utilizada.

Não foram encontrados na literatura estudos que descrevam o mecanismo de ação ecotoxicológico dos fármacos avaliados nesse estudo. De fato, o exato mecanismo de ação ecotoxicológico de grande parte dos fármacos para organismos não-alvo ainda é desconhecido, e não é considerado pelos QSARs. A especificidade da atividade farmacodinâmica e do modo de ação dos fármacos não se traduz facilmente em um mecanismo de ação ecotoxicológico. Primeiramente, a concentração necessária do fármaco para obter a resposta farmacodinâmica pretendida excede as concentrações detectadas nos ambientes aquáticos. Além disso, as concentrações necessárias podem ser maiores se os receptores responsáveis por impulsionar o efeito dos fármacos forem ausentes no organismo alvo. Apesar disso, alguns mecanismos básicos das funções celulares foram bem conservados durante a evolução e se mantêm em grande parte dos organismos, desde organismos unicelulares até mamíferos, e esses mecanismos são alvo de muitos fármacos desenvolvidos (SEILER, 2002).

Por fim, é importante ressaltar que grande parte dos fármacos são ácidos ou bases fracas e, portanto, são ionizáveis dependendo do valor de pKa (log negativo da constante de ionização do ácido) e do pH do meio. O valor de Kow muda com o valor de pH na fase aquosa e, portanto, o mecanismo de ação dos fármacos pode variar a depender das variações do pH do meio (SANDERSON e THOMSEN, 2009).

4.3.3 Misturas binárias

Como não foi possível determinar a concentração de efeito do fármaco valerato de betametasona, o mesmo não foi incluído na avaliação da toxicidade das misturas binárias, visto que as concentrações testadas foram baseadas nas concentrações de efeito. A comparação entre a toxicidade aguda dos fármacos considerados individualmente e em misturas binárias é apresentada na Figura 4-1.

Com exceção da mistura dos fármacos fenofibrato e prednisona, foram observados efeitos nas misturas binárias mesmo quando as concentrações testadas não produziram efeitos nos ensaios realizados com os fármacos individualmente. Esse fenômeno foi descrito na literatura como “*something from nothing*”, que ocorre quando a mistura dos compostos produz efeito mesmo quando cada composto está presente na mistura em uma concentração abaixo da qual teria qualquer efeito significativo se testado individualmente (SILVA *et al.*, 2002; THRUPP *et al.*, 2018). No caso da mistura dos fármacos atorvastatina e prednisona, foi observado 40% de imobilização na *C. dubia* na concentração que corresponde 0,4 TU, sendo que nessa concentração os fármacos isolados não provocaram efeito. O mesmo ocorreu com a mistura dos fármacos atorvastatina e loratadina, em que foi observado 100% de imobilização na mesma concentração (0,4 TU). No caso das misturas dos fármacos atorvastatina e fenofibrato, loratadina e fenofibrato, e loratadina e prednisona também foi observado efeito na menor concentração testada (0,2 TU), sendo os efeitos 20%, 60% e 20% de imobilização, respectivamente.

Figura 4-1 Comparação entre a porcentagem de imobilização da *Ceriodaphnia dubia* exposta aos fármacos individualmente e nas misturas binárias. A – Atorvastatina e Prednisona. B – Atorvastatina e Fenofibrato. C – Atorvastatina e Loratadina. D – Loratadina e Fenofibrato. E – Fenofibrato e Prednisona. F – Loratadina e Prednisona.

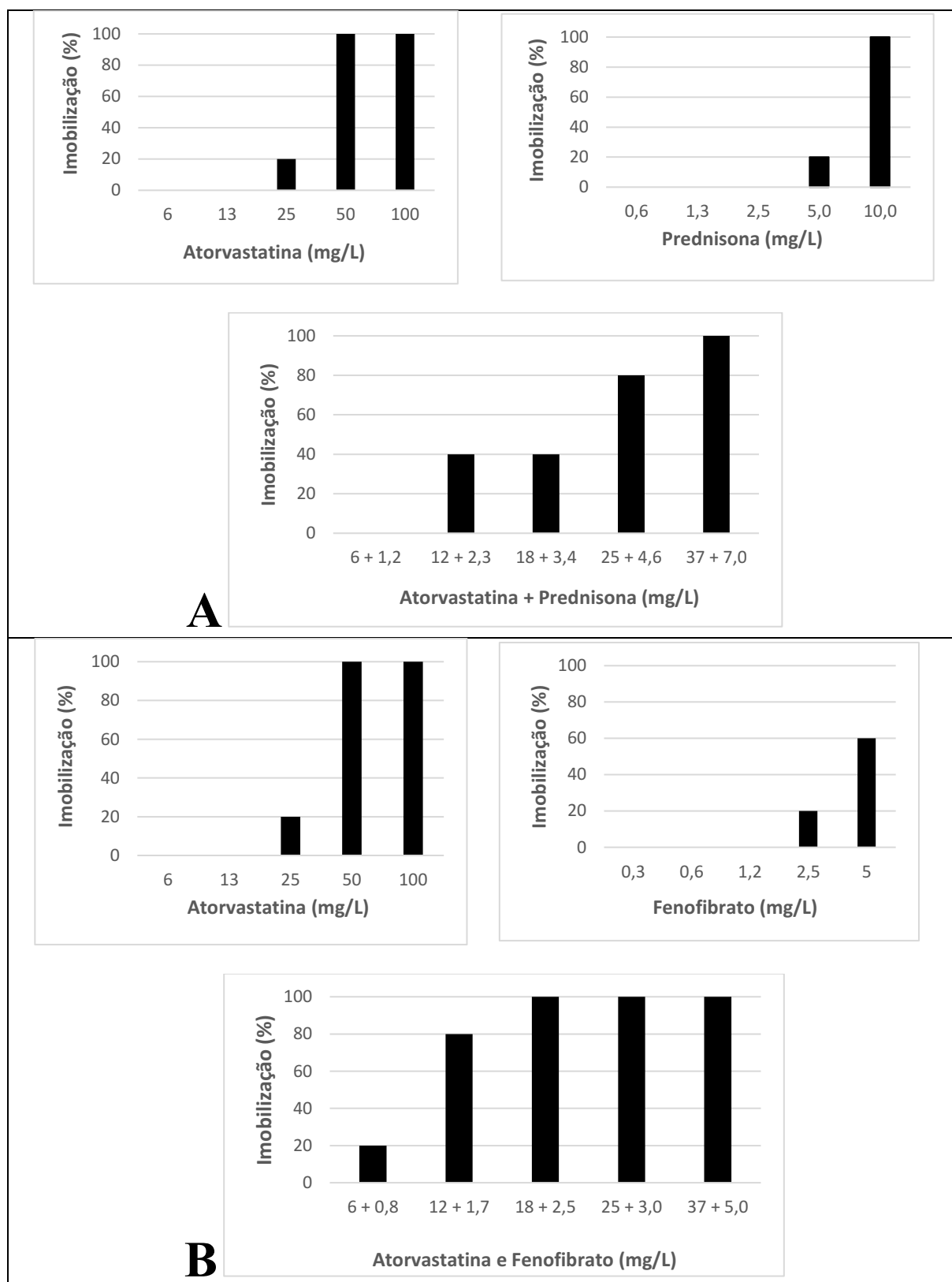


Figura 4.1 (continuação)

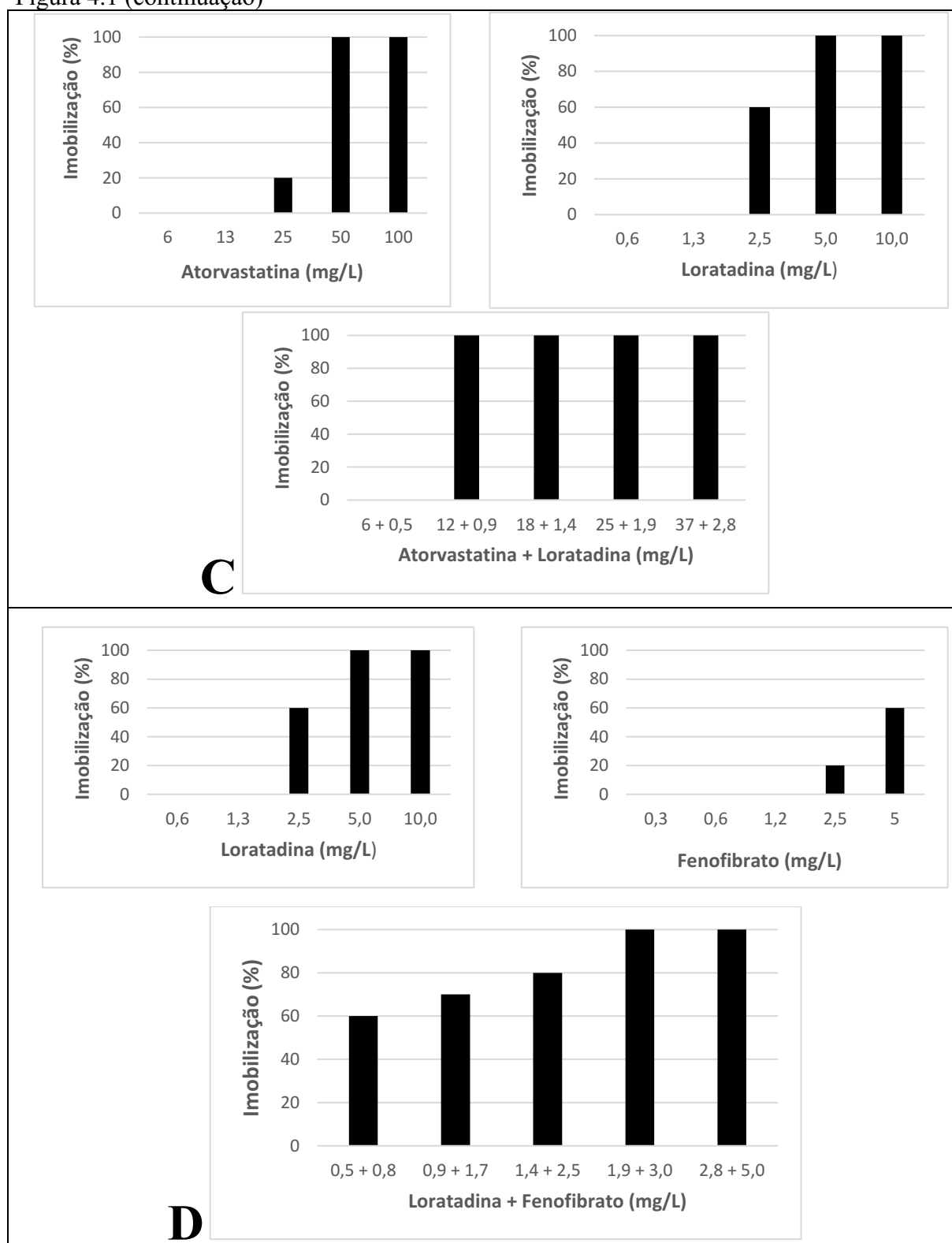
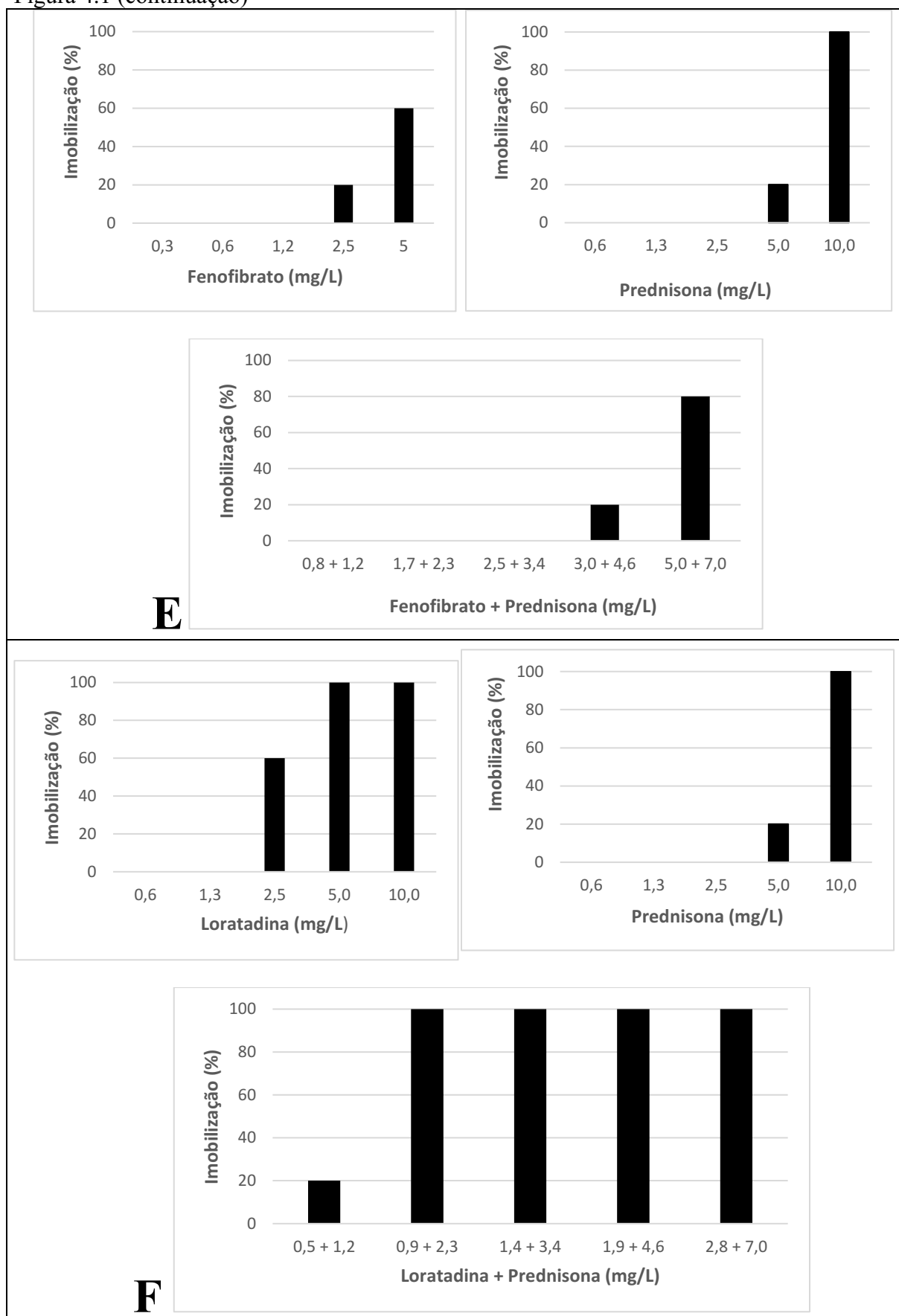


Figura 4.1 (continuação)



Apesar da ocorrência simultânea dos fármacos nos ambientes aquáticos, a avaliação de risco ecotoxicológico baseada na toxicidade individual dos compostos é frequentemente utilizada para o gerenciamento do risco, especialmente em contextos regulatórios. Esses resultados demonstram que esse modelo de avaliação pode subestimar o risco para os organismos nos ambientes aquáticos.

Buscando avaliar a toxicidade das misturas binárias dos fármacos atorvastatina, loratadina, fenofibrato e prednisona, a toxicidade prevista pelos modelos de adição de concentração e ação independente foi comparada com a toxicidade observada experimentalmente. A Tabela 4-4 apresenta as concentrações de efeito observadas experimentalmente, bem como os valores de MDR calculados para os modelos de concentração de adição (CA) e ação independente (IA). O cálculo do MDR foi baseado nos valores de EC50. A Tabela 4-4 também apresenta os valores de CI, considerando a fração afetada igual a 0,5.

Tabela 4-4 Concentrações de efeito (mg/L) observadas experimentalmente, valores do Model Deviation Ration (MDR) calculados para o modelo de adição de concentração e ação independente, e Índice de Combinação (CI). Valores de MDR calculados com base em EC50.

Misturas Binárias	EC50_{experimental}	MDR_{CA}	MDR_{IA}	CI
Atorvastatina + Prednisona	19,0	1,0	1,2	1,4
Atorvastatina + Fenofibrato	9,6	1,8	1,3	0,6
Atorvastatina + Loratadina	9,1	1,8	1,3	0,6
Loratadina + Fenofibrato	2,7	1,2	1,1	1,2
Fenofibrato + Prednisona	10,7	0,5	0,6	2,3
Loratadina + Prednisona	2,1	1,9	1,2	0,6

O valor de EC50 determinado experimentalmente para a mistura dos fármacos atorvastatina e prednisona foi 19,0 mg/L (15,3 – 23,7) e a concentração de efeito prevista pelo modelo de adição de concentração foi 18,3 mg/L. Portanto, esse modelo foi preciso ao estimar a toxicidade da mistura desses fármacos (MDR = 0,96). O mesmo foi observado para a mistura dos fármacos loratadina e fenofibrato, em que o valor de EC50 determinado experimentalmente foi 2,7 mg/L (0,9 – 8,1), e o valor previsto pelo modelo de adição de concentração foi 3,3 mg/L (MDR = 1,2). O índice de combinação (CI) e o modelo de ação independente indicou um leve antagonismo considerando a CE50.

Em relação às misturas dos fármacos atorvastatina e fenofibrato, atorvastatina e loratadina, e loratadina e prednisona, o modelo índice de combinação indicou a ocorrência de sinergismo

(CI < 1). Esse padrão foi confirmado pelos modelos de adição de concentração e ação independente, pois os valores de MDR indicaram que a toxicidade da mistura foi subestimada por ambos os modelos.

O modelo índice de combinação indicou a ocorrência de antagonismo na mistura dos fármacos fenofibrato e prednisona (CI > 1), o que foi confirmado pelos modelos de adição de concentração e ação independente (MDR < 1). Esse resultado é consistente com a análise da Figura 4-1, em que não foi observado o efeito de imobilização da *C. dubia* na mistura dos fármacos fenofibrato e prednisona nas concentrações de 2,5 e 3,4 mg/L, respectivamente. É possível observar que a concentração de 2,5 mg/L do fenofibrato provocou imobilização em 20% dos organismos quando o mesmo foi avaliado individualmente. O fenômeno antagonismo corresponde a supressão do efeito tóxico de um fármaco por outro, o que pode ocorrer devido à competição pelo mesmo sítio de ligação no composto (TROMBINI *et al.*, 2016).

Independentemente da estrutura química e modo de ação dos fármacos que compõem as misturas avaliadas, os valores de MDR permaneceram na faixa de 0,5 a 2,0 para ambos os modelos de adição de concentração e ação independente, considerando o cálculo relativo ao valor de EC50. Contudo, ambos os modelos não foram adequados para prever a toxicidade da mistura, sendo que a diferença entre a concentração de efeito prevista e observada foi maior que 20% em todas as misturas, com exceção da previsão do modelo de adição de concentração para a mistura atorvastatina e prednisona (3,9%) e do modelo ação independente para a mistura loratadina e fenofibrato (6,3%). Resultados semelhantes foram reportados por Godoy *et al.* (2015), em que a diferença entre a toxicidade da mistura dos fármacos losartana e propranolol prevista pelo modelo de ação independente e observada experimentalmente atingiu 228%.

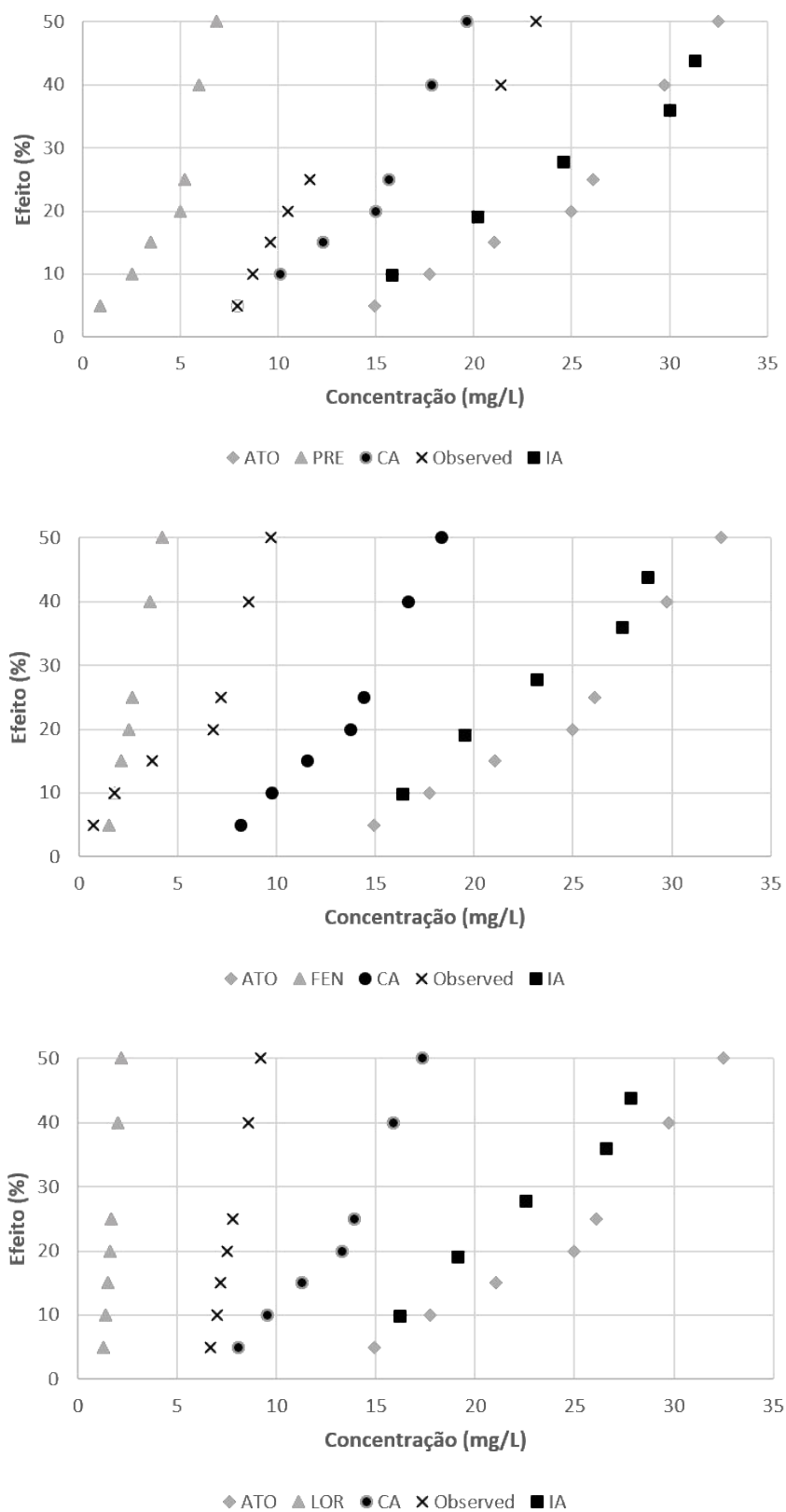
As limitações do modelo de adição de concentração e ação independente em prever a toxicidade de misturas de fármacos foram apontadas por outros autores (DRZYMAŁA e KALKA, 2019; JURECZKO e PRZYSTAŚ, UKIĆ *et al.*, 2020). Considerando o modelo de adição de concentração, Fent *et al.* (2006) afirma que essas limitações ocorrem prioritariamente em baixas concentrações e quando as curvas dose-resposta dos fármacos não são similares. Ambos os modelos consideram o modo ou mecanismo de ação dos componentes da mistura para a previsão da toxicidade (BACKHAUS, 2016). Sabe-se, no entanto, que os fenômenos de sinergismo e antagonismo podem ocorrer independentemente do modo de ação ecotoxicológico dos compostos, o que resulta em efeitos não previstos pelos modelos (RODEA-PALOMARES

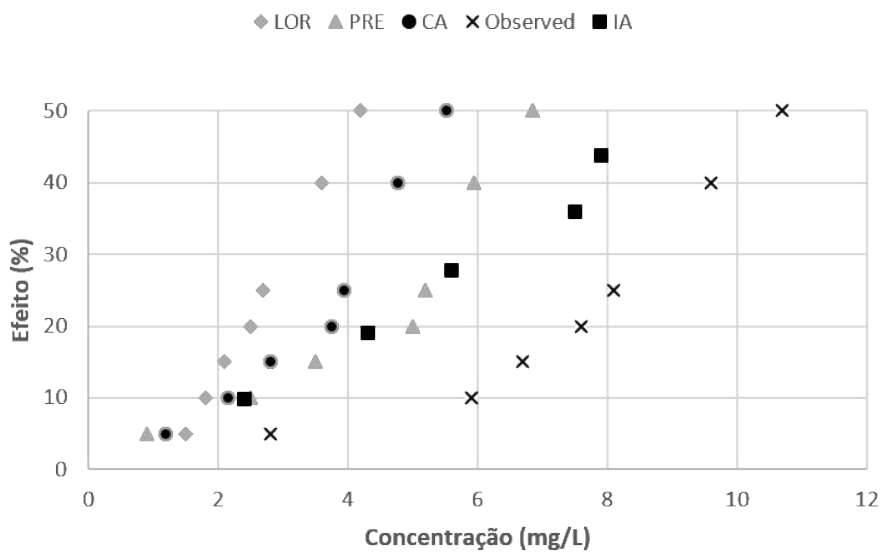
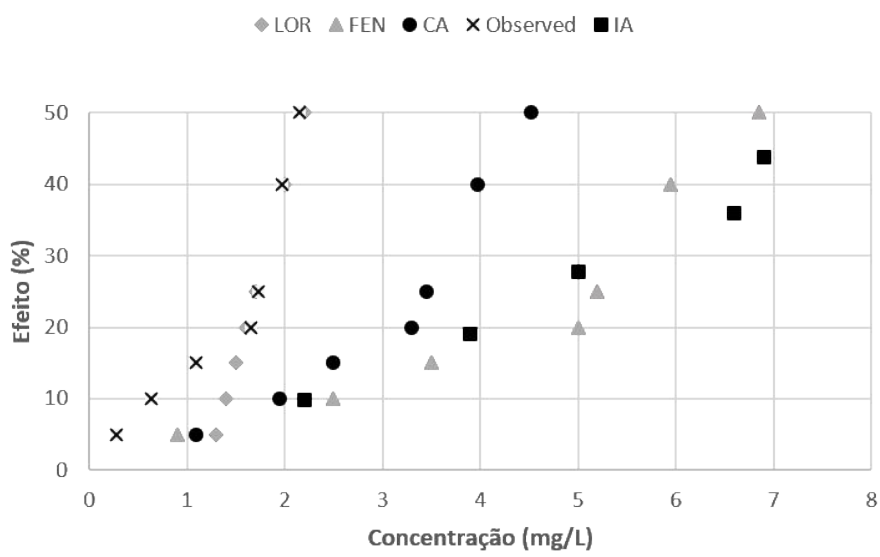
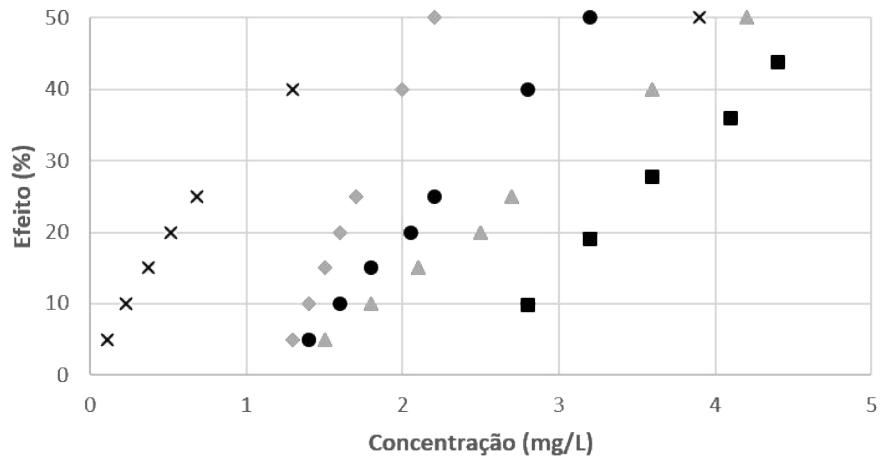
et al., 2010). Além disso, grande parte dos fármacos tem seu mecanismo de ação ecotoxicológico desconhecido (GEIGER *et al.*, 2016).

A previsão da toxicidade da mistura deve considerar as possíveis interações químicas entre os seus componentes, além da farmacocinética e modos de ação secundários (MCCARTY e BORGET, 2006; CEDERGREEN *et al.*, 2008). É importante ressaltar ainda, que o conhecimento sobre as vias metabólicas afetadas pela ação do fármaco no organismo não-alvo é um fator importante para a previsão dos efeitos, visto que os fármacos são projetados para atingirem moléculas-alvo específicas em humanos e animais, e muitas vezes esses alvos não estão presentes nos organismos utilizados nos ensaios ecotoxicológicos (BOXALL *et al.*, 2012; FURUHAGEN *et al.*, 2014).

Além disso, foi observado que o comportamento dos fármacos na mistura variou de acordo com as concentrações testadas, conforme pode ser observado na Figura 4-2 e reportado por outros autores (GEIGER *et al.*, 2016; TROMBINI *et al.*, 2016; GODOY *et al.*, 2019). Considerando as misturas dos fármacos loratadina e fenofibrato, e atorvastatina e prednisona, embora em relação à EC50 os fármacos tenham apresentado boa adequação ao modelo de adição de concentração, com leve indicação de antagonismo, em baixas concentrações foi observado o fenômeno de sinergismo. Resultado similar foi reportado por Geiger *et al.* (2016), em que a mistura do fármaco ibuprofeno e do composto fenólico 2,4-dichlorophenol apresentou diferentes adequações aos modelos dependendo da concentração dos compostos. Esses resultados sugerem que, para essas misturas, em maiores concentrações o modo de ação narcose prevalece, enquanto baixas concentrações podem provocar outros modos de ação específicos. Sugere-se, ainda, que o modo de ação dos compostos na mistura pode variar de acordo com a concentração dos mesmos (GEIGER *et al.*, 2016). O modo de ação ecotoxicológico de um composto pode variar ainda de acordo com o tipo e sensibilidade do organismo utilizado nos ensaios e com a presença de outros compostos (LUCKENBACH e EPEL, 2005). Ainda de acordo com a Figura 4-2, foi observado o fenômeno de sinergismo em todas as concentrações testadas das misturas dos fármacos atorvastatina e loratadina, atorvastatina e fenofibrato, loratadina e prednisona. Para a mistura fenofibrato e prednisona, o antagonismo também foi confirmado em todas as concentrações testadas.

Figura 4-2 Valores de Toxicidade observados (%) e curvas dose-resposta previstas pelos modelos de Concentração de Adição (CA) e Ação Independente (IA) das misturas binárias dos fármacos atorvastatina (ATO), loratadina (LOR), fenofibrato (FEN) e prednisona (PRE).





Em comparação com os modelos de adição de concentração e ação independente, o modelo índice de combinação forneceu uma melhor previsão da toxicidade das misturas, visto que o modelo indicou precisamente a ocorrência dos fenômenos de sinergismo e antagonismo em todas as misturas avaliadas, inclusive nas concentrações mais baixas (Apêndice Tabela 5-8). Resultados similares foram reportados por outros autores, que também compararam os modelos de adição de concentração, ação independente e índice de combinação na previsão da toxicidade de misturas de fármacos (RODEA-PALOMARES *et al.*, 2010; TROMBINI *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2015). Esse modelo é frequentemente utilizado no estudo de interações medicamentosas em farmacologia, e independente do modo de ação e do conhecimento sobre a interação entre os componentes da mistura (TROMBINI *et al.*, 2016). Apesar disso, o modelo de índice de combinação somente permite identificar quantitativamente a ocorrência de sinergismo ou antagonismo e, portanto, é preciso investigar os mecanismos de ação que ocorrem nessas interações. Assim, os resultados apresentados nesse trabalho não permitem inferir sobre o mecanismo de ação dos compostos.

4.3.4 Toxicidade dos fármacos em concentrações ambientalmente relevantes

Em relação ao teste de sobrevivência, não foi observada mortalidade em nenhuma das concentrações da mistura em que o organismo *C. dubia* foi exposto. No teste de reprodução, não foi observada diferença significativa em relação ao controle no número total de neonatos produzidos por fêmea adulta em todas as concentrações testadas. Esses resultados sugerem que efeitos adversos na sobrevivência e reprodução da *C. dubia* não são induzidos nas concentrações em que esses cinco fármacos são detectados nos ambientes aquáticos.

Estudos ecotoxicológicos com fármacos em concentrações ambientalmente relevantes ainda são escassos. A maioria dos dados publicados são baseados em concentrações mais altas do que as detectadas em ambientes aquáticos (BEGHIN *et al.*, 2021), o que poderia explicar as diferenças entre os resultados desse trabalho e outros reportados na literatura. Watanabe *et al.* (2016) estudou os efeitos crônicos de uma mistura de 10 fármacos para três organismos aquáticos, incluindo *C. dubia*. Os resultados revelaram toxicidade para *C. dubia* na mistura que continha os fármacos em concentrações 100 vezes superiores à concentração máxima detectada no rio Tama (Tóquio, Japão). Resultados similares foram reportados por Beghin *et al.* (2021), em que efeitos adversos da mistura dos fármacos paracetamol, carbamazepina, diclofenaco, naproxeno e irbesartana foram observados em concentrações 100 vezes superiores às detectadas

Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos

no rio Meuse (Bélgica) para o organismo *Oncorhynchus mykiss* (truta arco-íris). Nas concentrações ambientais, também não foram observados efeitos.

Como a maioria dos estudos, o presente estudo concentra-se em testes de toxicidade crônica de curto prazo. Considerando a entrada contínua de fármacos nos ambientes aquáticos, o uso de testes de longo prazo e multigeracionais poderia fornecer mais informações sobre os possíveis efeitos dos fármacos em organismos não-alvo (SEGNER *et al.*, 2003; FENT *et al.*, 2006). Ao avaliar os efeitos do fármaco sertralina no organismo *C. dubia* ao longo de três gerações, Lamichhane *et al.* (2014) relataram efeitos na reprodução, crescimento e no número de descendentes produzidos na terceira geração a uma concentração de exposição de 4,8 µg/L. Esses resultados reforçam a importância de avaliar a toxicidade da mistura nas concentrações em que os fármacos são normalmente detectados nos ambientes aquáticos.

4.4 CONCLUSÃO

Foram testadas a toxicidade aguda e crônica dos fármacos atorvastatina, fenofibrato, loratadina, valerato de betametasona e prednisona para o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*. Nos ensaios agudos, o fármaco loratadina apresentou maior toxicidade e, nos testes de toxicidade crônica, o fármaco mais tóxico foi o fenofibrato. Não foi possível obter a concentração de efeito (EC50) do fármaco valerato de betametasona, devido à sua baixa solubilidade em água. O presente estudo contribuiu para preencher a lacuna de dados ecotoxicológicos, especialmente crônicos, para os fármacos mencionados.

Os resultados dos ensaios com as misturas binárias dos fármacos atorvastatina, fenofibrato, loratadina e prednisona apontaram que, para o organismo *Ceriodaphnia dubia*, é difícil prever a toxicidade das misturas pelos modelos de adição de concentração e ação independente. Embora os modelos tenham fornecido uma aproximação da toxicidade da mistura em concentrações próximas às de efeito (EC50), os resultados apontados pelos modelos foram dependentes da composição das misturas e da concentração dos compostos e, portanto, não é possível tirar conclusões definitivas sobre o comportamento dos fármacos nos ambientes aquáticos. O modelo índice de combinação conseguiu prever adequadamente a ocorrência de sinergismo e antagonismo nas misturas avaliadas.

Os resultados também indicaram que efeitos adversos são improváveis de ocorrer na reprodução e sobrevivência do microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* expostos às concentrações ambientalmente relevantes ($< 100 \mu\text{g/L}$) da mistura dos fármacos atorvastatina, fenofibrato, loratadina, valerato de betametasona e prednisona. No entanto, estudos adicionais de toxicidade crônica de longo prazo, como os multigeracionais, poderiam fornecer mais informações sobre os efeitos induzidos por esses fármacos nos organismos aquáticos nas concentrações que os compostos são normalmente detectados no ambiente aquático.

5 APÊNDICE

Tabela 5-1 Vazão (L/s), etapas do tratamento e tipo de manancial de abastecimento das estações de tratamento de água monitoradas.

ETA	Vazão (L/s)	Etapas do tratamento	Manancial de abastecimento
1	5000	Pré-oxidação, Coagulação, Floculação, Decantação, Filtração, Fluoretação, Desinfecção e Estabilização.	Reservatório e rio
2	7000	Pré-oxidação, Coagulação, Floculação, Decantação, Filtração, Fluoretação, Desinfecção e Estabilização.	Rio
3	550	Pré-oxidação, Coagulação, Floculação, Decantação, Filtração, Fluoretação, Desinfecção e Estabilização.	Reservatório
4	300	Pré-oxidação, Coagulação, Filtração direta, Fluoretação, Estabilização e Desinfecção.	Reservatório
5	700	Pré-oxidação, Coagulação, Floculação, Flotação, Filtração, Fluoretação, Estabilização e Desinfecção.	Reservatório
6	110	Desinfecção, Fluoretação e Correção de pH	Reservatório

Reis *et al.* (2019)

Tabela 5-2 Propriedades físico-químicas e consumo estimado dos fármacos em estudo.

Grupo Terapêutico	Fármaco	Número CAS ¹	Fórmula Molecular ²	Peso Molecular (gmol ⁻¹) ²	Log Kow ³	Log Koc ⁴	Consumo no Brasil ⁵ (milhões de doses)
Analgésico e Anti-inflamatório	Betametasona	378-44-9	C ₂₂ H ₂₉ F ₀₅	392,47	1,94	1,5665	1 - 10
Analgésico e Anti-inflamatório	Valerato de Betametasona	2152-44-5	C ₂₇ H ₃₇ FO ₆	476,6	3,93	2,7069	-
Analgésico e Anti-inflamatório	Fenazona	60-80-0	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O	188,23	0,59	2,1160	-
Analgésico e Anti-inflamatório	Fenilbutazona	50-33-9	C ₁₉ H ₂₀ N ₂ O ₂	308,38	3,52	2,6222	0,5 - 1
Analgésico e Anti-inflamatório	Cetoprofeno	22071- 15 -4	C ₁₆ H ₁₄ O ₃	254,29	3,00	2,0771	10 – 25
Analgésico e Anti-inflamatório	Ibuprofeno	15687-27-1	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	206,29	3,79	2,3517	50 – 100
Antidiabético	Metformina	657-24-9	C ₄ H ₁₁ N ₅	129,17	-1,4	0,0418	100 – 250
Antifúngico	Fluconazol	86386-73-4	C ₁₃ H ₁₂ F ₂ N ₆ O	306,28	0,25	0,8631	10 - 25
Imunossupressantes	Prednisona	49562-28-9	C ₂₁ H ₂₆ O ₅	358,44	1,59	1,3010	10 - 25
Antibiótico Fluoroquinolona	Danofloxacino	112398-08-0	C ₁₉ H ₂₀ FN ₃ O ₃	357,39	0,44	0,0632	-
Antibiótico Fluoroquinolona	Enoxacino	74011-58-8	C ₁₅ H ₁₇ FN ₄ O ₃	320,33	-0,21	0,2431	-
Antibiótico Fluoroquinolona	Enrofloxacin	93106-60-6	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃	359,4	0,7	0,2070	-
Antibiótico Fluoroquinolona	Norfloxacin	70458-96-7	C ₁₆ H ₁₈ FN ₃ O ₃	319,34	-0,31	1,2714	1 - 10
Antialérgico	Loratadina	79794-75-5	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₂ O ₂	382,89	5,66	3,8517	10 - 25
Regulador lipídico	Atorvastatina	134523-00-5	C ₃₃ H ₃₅ FN ₂ O ₅	558,66	6,36	2,5999	1 - 10
Regulador lipídico	Fenofibrato	49562-28-9	C ₂₀ H ₂₁ ClO ₄	360,84	5,19	3,9818	1 - 10
Regulador lipídico	Gemfibrozil	25812-30-0	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	250,43	4,77	2,8501	-
Antibiótico Macrolídeo	Clarithromicina	81103-11-9	C ₃₈ H ₆₉ N ₀₁₃	747,97	3,18	1,3712	1 - 10
Estimulante	Cafeína	58-08-2	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	194,19	0,16	0,9801	-

¹CAS: *Chemical Abstracts Service*; ²EPI suite; ³Coefficiente de partição octanol-água (BCFBAF v3.01); ⁴Coefficiente de partição KOW/carbônio orgânico (KOCWiN v2.00); ⁵ANVISA, 2018.

Tabela 5-3 Dados de toxicidade aguda (mg/L) selecionados.

Fármaco	Parâmetro	EC50	Efeito observado	Espécie	Grupo	Referência
Atorvastatina	EC50	0,19	-	-	Algas	ECOSAR
	EC50	0,06	-	-	Peixes	ECOSAR
	LC50	1,50	Mortalidade (10 d)	<i>Hyalella azteca</i>	Invertebrados	[17]
Cafeína	EC50	150,00	Crescimento (72 h)	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Algas	[1]
	EC50	0,44	Comportamento (5 d)	<i>Daphnia magna</i>	Invertebrados	[2]
	EC50	70,00	Crescimento (5 d)	<i>Pimephales promelas</i>	Peixes	[3]
Danofloxacino	EC50	1487,36	-	-	Algas	ECOSAR
	EC50	3619,24	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	EC50	7360,20	-	-	Peixes	ECOSAR
Enoxacino	EC50	3771,04	-	-	Algas	ECOSAR
	EC50	11771,43	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	EC50	25425,09	-	-	Peixes	ECOSAR
Enrofloxacino	EC50	0,05	Crescimento (5 d)	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Algas	[4]
	LC50	11,47	Mortalidade (21 d)	<i>Daphnia magna</i>	Invertebrados	[6]
	LC50	100,00	Mortalidade (96 h)	<i>Oryzias latipes</i>	Peixes	[6]
Metformina	EC50	320,00 (72h)	Crescimento (72 h)	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	Algas	[7]
	EC50	64,00 (48h)	Imobilização (48 h)	<i>Daphnia magna</i>	Invertebrados	[7]
	EC50	1560000,00	-	-	Peixes	ECOSAR
Norfloxacin	EC50	0,04	Crescimento (6 d)	<i>Microcystis wesenbergii</i>	Algas	[8]
	EC50	0,88	Comportamento (48 h)	<i>Daphnia magna</i>	Invertebrados	[2]
	EC50	30893,68	-	-	Peixes	ECOSAR

Betametasona	EC50	212,83	-	-	Algas	ECOSAR
	EC50	317,87	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	EC50	574,44	-	-	Peixes	ECOSAR
Claritromicina	EC50	0,002	Crescimento (72 h)	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Algas	[9]
	EC50	8,16	Crescimento (48 h)	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Invertebrados	[9]
	LC50	100	Mortalidade (96 h)	<i>Oryzias latipes</i>	Peixes	[10]
Fenazona	EC50	616,69	-	-	Algas	ECOSAR
	EC50	1417,04	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	EC50	2842,08	-	-	Peixes	ECOSAR
Fenilbutazona	EC50	9,45	-	-	Algas	ECOSAR
	EC50	7,09	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	EC50	10,85	-	-	Peixes	ECOSAR
Fenofibrato	EC50	0,77	-	-	Algas	ECOSAR
	EC50	0,76	Crescimento (7 d)	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Invertebrados	[11]
	EC50	0,169	Mortalidade (28 d)	<i>Pimephales promelas</i>	Peixes	[18]
Fluconazol	EC50	1720,81	-	-	Algas	ECOSAR
	EC50	100,00	Imobilização (24 d)	<i>Thamnocephalus platyurus</i>	Invertebrados	[10]
	LC50	4,91	Mortalidade (3 d)	<i>Gobiocypris rarus</i>	Peixes	[19]
Loratadina	EC50	0,39	-	-	Algas	ECOSAR
	EC50	0,13	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	EC50	0,16	-	-	Peixes	ECOSAR

Prednisona	EC50	238,25	-	-	Algas	ECOSAR
	EC50	54,60	Mortalidade (96 h)	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Invertebrados	[13]
	EC50	683,19	-	-	Peixes	ECOSAR
Cetoprofeno	EC50	179,45	-	-	Algas	ECOSAR
	EC50	164,45	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	EC50	264,08	-	-	Peixes	ECOSAR
Gemfibrozil	EC50	4,42	Fisiologia (24 h)	<i>Anabaena sp.</i>	Algas	[14]
	EC50	0,53	Crescimento (7 d)	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Invertebrados	[11]
	LC50	0,85	Mortalidade (96 h)	<i>Danio rerio</i>	Peixes	[15]
Ibuprofeno	EC50	315,00	Crescimento (72 h)	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	Algas	[7]
	LC50	0,03	Mortalidade (48 h)	<i>Daphnia magna</i>	Invertebrados	[16]
	LC50	0,68	Mortalidade (28 d)	Pimephales promelas	Peixes	[18]

[1] ZARRELLI *et al.*, 2014; [2] LU *et al.*, 2013; [3] YOUNG *et al.*, 1996; [4] ROBINSON *et al.*, 2005; [6] PARK; CHOI, 2008; [7] CLEUVERS, 2004; [8] ANDO *et al.*, 2007; [9] ISIDORI *et al.*, 2005; [10] KIM *et al.*, 2009; [11] ISIDORI *et al.*, 2007; [13] DELLAGRECA *et al.*, 2002; [14] ROSAL *et al.*, 2010; [15] KALASEKAR *et al.*, 2015; [16] BRUN *et al.*, 2006; [17] DUSSAULT *et al.*, 2008; [18] OVERTURF, *et al.* (2012); [19] ZHU *et al.*, 2014.

Tabela 5-4 Dados de toxicidade crônica (mg/L) selecionados.

Fármaco	Parâmetro	EC50	Efeito observado	Espécie	Grupo	Referência
Atorvastatina	NOEC	0,001	Atividade Enzimática (3 d)	<i>Daphnia magna</i>	Invertebrado	[1]
	NOEC	0,000013	Concentração DNA (14 d)	<i>Danio rerio</i>	Peixes	[2]
	NOEC	0,12	-	-	Algas	ECOSAR
Cafeína	NOEC	0,005	Abundância (56 d)	<i>Cyanophycota</i>	Algas	[3]
	NOEC	0,005	Fisiologia (28 d)	<i>Carcinus maenas</i>	Invertebrados	[4]
	NOEC	0,00001	Crescimento (5 d)	<i>Salmo salar</i>	Peixes	[16]
Danofloxacino	NOEC	282,747	-	-	Algas	ECOSAR
	NOEC	236,514	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	NOEC	607,157	-	-	Peixes	ECOSAR
Enoxacino	NOEC	626,876	-	-	Algas	ECOSAR
	NOEC	650,519	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	NOEC	1953,508	-	-	Peixes	ECOSAR
Enrofloxacino	NOEC	198,36	-	-	Algas	ECOSAR
	NOEC	5	Reprodução (21 d)	<i>Daphnia magna</i>	Invertebrados	[5]
	NOEC	10	Crescimento (7 d)	<i>Pimephales promelas</i>	Peixes	[6]
Metformina	NOEC	7371,292	-	-	Algas	ECOSAR
	NOEC	17071,402	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	NOEC	0,04	Morfologia	<i>Danio rerio</i>	Peixes	[17]

	NOEC	0,0016 (6 d)	Abundância	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Algas	[7]
Norfloxacino	NOEC	0,12 (21d)	Comprimento	<i>Daphnia magna</i>	Invertebrados	[8]
	NOEC	0,0027 (7 d)	Atividade enzimática	<i>Carassius auratus</i>	Peixes	[9]
	NOEC	52,63	-	-	Algas	ECOSAR
Betametasona	NOEC	28,85	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	NOEC	10,00	-	<i>Oryzias latipes</i>	Peixes	[10]
	NOEC	13,271	-	-	Algas	ECOSAR
Claritromicina	NOEC	2,10	Reprodução	<i>Daphnia magna</i>	Invertebrados	[11]
	NOEC	5,98	-	-	Peixes	ECOSAR
	NOEC	120,91	-	-	Algas	ECOSAR
Fenazona	NOEC	96,24	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	NOEC	238,31	-	-	Peixes	ECOSAR
	NOEC	3,39	-	-	Algas	ECOSAR
Fenilbutazona	NOEC	1,02	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	NOEC	1,252	-	-	Peixes	ECOSAR
	NOEC	3,12	Crescimento (3 d)	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Algas	[12]
Fenofibrato	NOEC	0,039	Crescimento (7 d)	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Invertebrados	[12]
	NOEC	0,025	Morfologia (7 d)	<i>Pimephales promelas</i>	Peixes	[18]
	NOEC	314,701	-	-	Algas	ECOSAR
Fluconazol	NOEC	280,142	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	NOEC	0,2	Crescimento (3 d)	<i>Gobiocypris rarus</i>	Peixes	[19]

Loratadina	NOEC	0,217	-	-	Algas	ECOSAR
	NOEC	0,032	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	NOEC	0,024	-	-	Peixes	ECOSAR
Prednisona	NOEC	57,38	-	-	Algas	ECOSAR
	NOEC	32,82	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	NOEC	63,88	-	-	Peixes	ECOSAR
Cetoprofeno	NOEC	57,72	-	-	Algas	ECOSAR
	NOEC	20,74	-	-	Invertebrados	ECOSAR
	NOEC	28,78	-	-	Peixes	ECOSAR
Gemfibrozil	NOEC	3,12	Crescimento (3 d)	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Algas	[12]
	NOEC	0,00005	Reprodução (21 d)	<i>Daphnia magna</i>	Invertebrados	[20]
	NOEC	0,001	Morfologia (6 d)	<i>Danio renio</i>	Peixes	[17]
Ibuprofeno	NOEC	0,01	Abundância (3 d)	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Algas	[13]
	NOEC	1,23	Reprodução (21 d)	<i>Daphnia magna</i>	Invertebrados	[14]
	NOEC	0,001	Crescimento (7 d)	<i>Danio renio</i>	Peixes	[15]

[1] RICHARDS *et al.*, 2008; [2] ROCCO *et al.*, 2012; [3] LAWRENCE *et al.*, 2012; [4] AGUIRRE-MARTINEZ *et al.*, 2013; [5] PARK; CHOI, 2008; [6] ROBINSON *et al.*, 2005; [7] ANDO *et al.*, 2007; [8] LU *et al.*, 2013; [9] LIU *et al.*, 2014; [10] VESTEL *et al.*, 2017; [11] ISIDORI *et al.*, 2005; [12] ISIDORI *et al.*, 2007; [13] BRUN *et al.*, 2006; [14] ERICSON *et al.*, 2010; [15] DAVID; PANCHARATNA, 2009; [16] LOWER, 2008; [17] CRAGO and KLAPER, 2018, [18] NALLANI, 2010; [19] ZHU *et al.*, 2014; [20] STEINKEY *et al.*, 2018.

Tabela 5-5 Resultados completos da avaliação de risco individual dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte.

Fármaco	Concentração Máxima ¹ [ng/L]	EC50 [mg/L]	Agudo			Crônico			
			AF	PNEC	RQ	NOEC [mg/L]	AF	PNEC	RQ
Atorvastatina	1020	6,00E-02	1000	6,0E-05	1,7E+01	1,30E-05	10	1,30E-06	7,8E+02
Cafeína	1385	4,40E-01	1000	4,4E-04	3,1E+00	1,00E-05	10	1,00E-06	1,4E+03
Danofloxacino	272	1,49E+03	1000	1,5E+00	1,8E-04	2,37E+02	10	2,37E+01	1,2E-05
Enoxacino	386	3,77E+03	1000	3,8E+00	1,0E-04	6,27E+02	10	6,27E+01	6,2E-06
Enrofloxacino	71	5,00E-02	1000	5,0E-05	1,4E+00	5,00E+00	10	5,00E-01	1,4E-04
Metformina	167	6,40E+01	1000	6,4E-02	2,6E-03	4,00E-02	10	4,00E-03	4,2E-02
Norfloxacino	285	4,00E-02	1000	4,0E-05	7,1E+00	1,60E-03	10	1,60E-04	1,8E+00
Betametasona	11960	2,13E+02	1000	2,1E-01	5,6E-02	1,00E+01	10	1,00E+00	1,2E-02
Claritromicina	199	2,00E-03	1000	2,0E-06	1,0E+02	2,10E+00	10	2,10E-01	9,5E-04
Fenazona	33	6,17E+02	1000	6,2E-01	5,4E-05	9,62E+01	10	9,62E+00	3,4E-06
Fenilbutazona	275	7,09E+00	1000	7,1E-03	3,9E-02	1,02E+00	10	1,02E-01	2,7E-03
Fenofibrato	1388	1,69E-01	1000	1,7E-04	8,2E+00	2,50E-02	10	2,50E-03	5,6E-01
Fluconazol	1413	4,91E+00	1000	4,9E-03	2,9E-01	2,00E-01	10	2,00E-02	7,1E-02
Loratadina	486	1,30E-01	1000	1,3E-04	3,7E+00	2,40E-02	10	2,40E-03	2,0E-01
Prednisona	8105	5,46E+01	1000	5,5E-02	1,5E-01	3,28E+01	10	3,28E+00	2,5E-03
Cetoprofeno	1020	1,64E+02	1000	1,6E-01	6,2E-03	2,07E+01	10	2,07E+00	4,9E-04
Gemfibrozil	948	5,30E-01	1000	5,3E-04	1,8E+00	1,00E-03	10	1,00E-04	9,5E+00
Ibuprofeno	333	3,00E-02	1000	3,0E-05	1,1E+01	1,00E-03	10	1,00E-04	3,3E+00

¹Concentração máxima detectada por Reis *et al.* (2019).

Tabela 5-6 Máxima unidade tóxica (TU) e contribuição (%) (valores médios) dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento das estações de tratamento da Região Metropolitana de Belo Horizonte¹.

	Unidades Tóxicas (TU)						Contribuição (%)					
	Agudo			Crônico			Agudo			Crônico		
	Algas	Invertebrados	Peixes	Algas	Invertebrados	Peixes	Algas	Invertebrados	Peixes	Algas	Invertebrados	Peixes
Atorvastatina	5,5E-03	6,8E-04	1,8E-02	8,0E+00	1,0E+00	7,8E+01	34,41	29,96	47,36	25,17	48,95	49,05
Cafeína	9,2E-06	3,1E-03	2,0E-05	2,8E-01	2,8E-01	1,4E+02	1,32	1,58	1,52	1,59	1,59	1,59
Danofloxacino	1,8E-07	7,5E-08	3,7E-08	9,6E-07	1,2E-06	4,5E-07	1,60	1,59	1,59	1,61	1,60	1,59
Enoxacino	1,0E-07	3,3E-08	1,5E-08	6,2E-07	5,9E-07	2,0E-07	0,03	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00
Enrofloxacino	1,4E-03	6,2E-06	7,1E-07	3,6E-07	1,4E-05	7,1E-06	3,88	0,07	0,03	0,00	0,03	0,01
Metformina	5,2E-07	2,6E-06	1,1E-10	2,3E-08	9,8E-09	4,2E-03	0,18	0,01	0,00	0,00	0,00	0,02
Norfloxacino	7,5E-03	3,2E-04	9,2E-09	1,8E-01	2,4E-03	1,1E-01	20,63	10,06	1,59	30,33	4,26	3,93
Betametasona	5,6E-05	3,8E-05	2,1E-05	2,3E-04	4,1E-04	1,2E-03	10,37	8,75	10,28	10,10	9,97	9,26
Claritromicina	1,0E-01	2,4E-05	3,7E-06	1,5E-05	9,5E-05	3,3E-05	3,17	0,39	0,06	0,22	0,25	0,00
Fenazona	5,4E-08	2,3E-08	1,2E-08	2,7E-07	3,4E-07	1,4E-07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Fenilbutazona	2,9E-05	3,9E-05	2,5E-05	8,1E-05	2,7E-04	2,2E-04	0,02	0,06	0,01	0,03	0,01	0,00
Fenofibrato	1,8E-03	4,5E-03	8,2E-03	3,6E-03	3,6E-02	5,6E-02	1,17	1,94	1,55	1,30	1,15	1,16
Fluconazol	8,2E-07	1,4E-05	2,9E-04	4,6E-04	5,0E-06	7,1E-03	1,89	2,92	10,49	10,06	1,76	6,36
Loratadina	1,2E-03	3,7E-03	3,0E-03	2,2E-03	1,5E-02	2,0E-02	4,23	8,10	4,08	4,07	3,69	3,59
Prednisona	3,4E-05	1,5E-04	1,2E-05	1,4E-04	2,5E-04	1,3E-04	8,02	11,53	4,44	5,96	7,23	3,65
Cetoprofeno	5,7E-06	6,2E-06	3,9E-06	1,8E-05	4,9E-05	3,5E-05	2,62	1,93	1,69	1,73	2,68	1,61
Gemfibrozil	2,1E-04	1,8E-03	1,1E-03	3,0E-04	1,2E-02	9,5E-01	6,13	17,99	13,90	4,82	15,37	16,61
Ibuprofeno	1,1E-06	1,0E-02	4,9E-04	3,3E-02	2,7E-04	3,3E-01	0,32	3,12	1,40	3,00	1,45	1,57

¹Valores em negrito representam TU > 10⁻⁰³.

Tabela 5-7 Coeficiente de risco (RQ) dos fármacos detectados nos mananciais de abastecimento e na água tratada das Estações de Tratamento de Água (ETA) da Região Metropolitana de Belo Horizonte, considerando a faixa etária maior de 18 anos e as concentrações máximas

Fármaco	Manancial de abastecimento						Água tratada					
	ETA 1	ETA 2	ETA 3	ETA 4	ETA 5	ETA 6	ETA 1	ETA 2	ETA 3	ETA 4	ETA 5	ETA 6
Atorvastatina	1,5E+00	1,1E+00	2,5E-01	1,4E+00	2,4E+00	nd	1,2E+00	8,5E-01	nd	1,0E+00	1,5E+00	nd
Cafeína	nd	3,0E-04	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Enrofloxacino	1,8E-05	4,2E-05	nd	8,5E-06	4,6E-05	nd	nd	nd	nd	nd	1,1E-05	nd
Metformina	3,7E-03	nd	nd	5,0E-03	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Norfloxacino	1,8E-03	1,6E-03	1,0E-03	1,5E-03	3,2E-03	nd	1,5E-04	4,8E-04	nd	nd	2,4E-03	nd
Betametasona	1,5E+01	8,9E+00	2,6E+01	9,5E+00	1,7E+01	8,0E+00	4,7E+00	2,1E+00	4,3E+00	3,5E+00	5,7E+00	1,2E+00
Claritromicina	nd	3,9E-03	nd	4,6E-03	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Fenofibrato	nd	nd	nd	1,7E-02	6,8E-03	7,9E-02	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Fluconazol	1,6E-01	6,6E-02	nd	8,6E-02	1,5E-01	7,0E-03	7,1E-02	3,1E-02	nd	6,8E-02	8,4E-02	nd
Loratadina	2,9E-02	nd	1,3E-02	5,0E-02	nd	1,1E-01	1,6E-02	nd	nd	nd	nd	1,3E-02
Prednisona	1,2E+01	1,1E+01	9,6E+00	1,1E+01	3,7E+01	3,9E+00	5,1E+00	5,0E+00	6,0E+00	3,8E+00	2,9E+01	9,2E-02
Cetoprofeno	1,8E-02	9,7E-03	nd	3,3E-02	3,1E-02	7,2E-04	1,3E-02	nd	nd	1,5E-02	1,8E-02	nd
Gemfibrozil	2,1E-02	1,1E-02	5,1E-03	4,9E-03	2,2E-02	2,8E-04	1,0E-03	2,0E-03	nd	1,4E-03	6,8E-03	nd
Ibuprofeno	3,7E-02	nd	nd	3,4E-02	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

nd – não detectado; Valores em negrito indicam risco à saúde humana elevado.

Tabela 5-8 Valores do *Model deviation ratios* (MDR) e Índice de Combinação (CI) para diferentes efeitos das misturas binárias dos fármacos atorvastatina (ATO), loratadina (LOR), fenofibrato (FEN) e prednisona (PRE) no organismo *Ceriodaphnia dubia*.

Efeito (%)	MDR (Adição de Concentração)						CI (Índice de Combinação)					
	ATO + PRE	ATO + FEN	ATO + LOR	LOR + FEN	FEN + PRE	LOR + PRE	ATO + PRE	ATO + FEN	ATO + LOR	LOR + FEN	FEN + PRE	LOR + PRE
5	1,0	11,7	1,2	12,7	0,4	3,9	1,2	0,1	0,8	0,1	1,8	0,8
10	1,2	5,4	1,4	7,0	0,4	3,1	1,0	0,2	0,7	0,1	2,9	0,3
15	1,3	3,1	1,6	4,9	0,4	2,3	1,0	0,4	0,6	0,2	2,8	0,5
20	1,4	2,0	1,8	3,9	0,5	2,0	1,0	0,6	0,6	0,2	2,8	0,7
25	1,4	2,0	1,8	3,2	0,5	2,0	1,0	0,6	0,6	0,3	2,6	0,6
40	0,8	1,9	1,8	2,2	0,5	2,0	1,5	0,6	0,6	0,5	2,4	0,6
50	1,0	1,8	1,8	1,2	0,5	1,9	1,4	0,6	0,6	1,2	2,3	0,6

6 REFERÊNCIAS

ÅGERSTRAND, M.; KÜSTER, A.; BACHMANN, J.; BREITHOLTZ, M.; EBERT, I.; RECHENBERG, B.; RUDEN, C. Reporting and evaluation criteria as means towards a transparent use of ecotoxicity data for environmental risk assessment of pharmaceuticals. *Environmental pollution*, v. 159, n. 10, p. 2487-2492, 2011.

AGUIRRE-MARTÍNEZ, G. V.; BURATTI, S.; FABBRI, E.; DEL VALLS, T. A.; MARTÍN-DÍAZ, M. L. Stability of lysosomal membrane in *Carcinus maenas* acts as a biomarker of exposure to pharmaceuticals. *Environmental monitoring and assessment*, v. 185, n. 5, p. 3783-3793, 2013.

AHLUWALIA, A.; FLOWER, R. J. Investigations into the mechanism of vasoconstrictor action of the topical steroid betamethasone-17-valerate in the rat. *British journal of pharmacology*, v. 108, n. 2, p. 544, 1993.

AL AUKIDY, M.; VERLICCHI, P.; JELIC, A.; PETROVIC, M.; BARCELÒ, D. Monitoring release of pharmaceutical compounds: occurrence and environmental risk assessment of two WWTP effluents and their receiving bodies in the Po Valley, Italy. *Science of the Total Environment*, v. 438, p. 15-25, 2012.

AL-AIDAROOS, A. M.; SATHEESH, S.; DEVASSY, R. P. Effects of pharmacological compounds on the barnacle larval development, metabolism and settlement. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 117, p. 190-196, 2017.

ALTENBURGER, R.; BRACK, W.; BURGESS, R. M.; BUSCH, W.; ESCHER, B. I.; FOCKS, A.; ... & BACKHAUS, T. Future water quality monitoring: improving the balance between exposure and toxicity assessments of real-world pollutant mixtures. *Environmental Sciences Europe*, v. 31, n. 1, p. 1-17, 2019.

ANDO, T.; NAGASE, H.; EGUCHI, K.; HIROOKA, T.; NAKAMURA, T.; MIYAMOTO, K.; HIRATA, K. A novel method using cyanobacteria for ecotoxicity test of veterinary antimicrobial agents. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 26, n. 4, p. 601-606, 2007.

ANSELMO, C. S.; SARDELA, V. F.; SOUSA, V. P. DE; PEREIRA, H. M. G. Zebrafish (*Danio rerio*): A valuable tool for predicting the metabolism of xenobiotics in humans? *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, v. 212, p. 34-46, 2018.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2018. Anuário Estatístico do Mercado Farmacêutico 2017. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/medicamentos/publicacoes?tagsName=cmed>. Acesso em: 10 nov. 2019.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2020. Anuário Estatístico do Mercado Farmacêutico 2019/20 – Edição Comemorativa. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/cmed/informes/anuario-estatistico-2019-versao-final.pdf>. Acesso em: 26 set. 2021.

ARCHANA, G.; DHODAPKAR, R.; KUMAR, A. Ecotoxicological risk assessment and seasonal variation of some pharmaceuticals and personal care products in the sewage treatment

plant and surface water bodies (lakes). *Environmental monitoring and assessment*, v. 189, n. 9, p. 446, 2017.

ASGHAR, M. A.; ZHU, Q.; SUN, S.; SHUAI, Q. Suspect screening and target quantification of human pharmaceutical residues in the surface water of Wuhan, China, using UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. *Science of the total environment*, v. 635, p. 828-837, 2018.

ASHFAQ, M.; LI, Y.; REHMAN, M. S. U.; ZUBAIR, M.; MUSTAFA, G.; NAZAR, M. F.; YU, C.; SUN, Q. Occurrence, spatial variation and risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in urban wastewater, canal surface water, and their sediments: A case study of Lahore, Pakistan. *Science of The Total Environment*, v. 688, p. 653-663, 2019.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 13373: Ecotoxicologia aquática: toxicidade crônica: método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2017.

AZZOUZ, A.; BALLESTEROS, E. Influence of seasonal climate differences on the pharmaceutical, hormone and personal care product removal efficiency of a drinking water treatment plant. *Chemosphere*, v. 93, n. 9, p. 2046-2054, 2013.

BACKHAUS T, FAUST M. Predictive environmental risk assessment of chemical mixtures: a conceptual framework. *Environmental Science Technology*, v. 46, p. 2564-73, 2012.

BACKHAUS, T. Environmental Risk Assessment of Pharmaceutical Mixtures: Demands, Gaps, and Possible Bridges. *The AAPS journal*, v. 18(4), p. 804-813, 2016.

BACKHAUS, T.; KARLSSON, M. Screening level mixture risk assessment of pharmaceuticals in STP effluents. *Water research*, v. 49, p. 157-165, 2014.

BACKHAUS, T.; SCHOLZE, M.; GRIMME, L. H. The single substance and mixture toxicity of quinolones to the bioluminescent bacterium *Vibrio fischeri*. *Aquatic toxicology*, v. 49, n. (1-2), p. 49-61, 2000.

BACKHAUS, T.; SUMPTER, J.; BLANCK, H. (2008). On the ecotoxicology of pharmaceutical mixtures. In *Pharmaceuticals in the Environment*. Springer, Berlin, Heidelberg.

BAI, X.; LUTZ, A.; CARROLL, R.; KETELES, K.; DAHLIN, K.; MURPHY, M.; NGUYEN, D. Occurrence, distribution, and seasonality of emerging contaminants in urban watersheds. *Chemosphere*, v. 200, p. 133-142, 2018.

BAKIRE, S.; YANG, X.; MA, G.; WEI, X.; YU, H.; CHEN, J.; LIN, H. Developing predictive models for toxicity of organic chemicals to green algae based on mode of action. *Chemosphere*, v. 190, p. 463-470, 2018.

BAKKER-ARKEMA, R. G.; DAVIDSON, M. H.; GOLDSTEIN, R. J.; DAVIGNON, J.; ISAACSOHN, J. L.; WEISS, S. R.; KEILSON, L. M.; BROWN, W. V.; MILLER, V. T.; SHURZINSKE, L. J.; BLACK, D. M. Efficacy and safety of a new HMG-CoA reductase

inhibitor, atorvastatin, in patients with hypertriglyceridemia. *Jama*, v. 275, n. (2), p. 128-133, 1996.

BARRON, M. G. Bioconcentration. Will water-borne organic chemicals accumulate in aquatic animals? *Environmental Science & Technology*, v. 24, n. 11, p. 1612-8, 1990.

BECKERS, L. M.; BUSCH, W.; KRAUSS, M.; SCHULZE, T.; BRACK, W. Characterization and risk assessment of seasonal and weather dynamics in organic pollutant mixtures from discharge of a separate sewer system. *Water research*, v. 135, p. 122-133, 2018.

BEGHIN, M.; SCHMITZ, M.; BETOULLE, S.; PALLUEL, O.; BAEKELANDT, S.; MANDIKI, S. N.; ... & KESTEMONT, P. Integrated multi-biomarker responses of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to an environmentally relevant pharmaceutical mixture. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 221, 112454, 2021.

BELDEN, J. B.; GILLIOM, R. J.; LYDY, M. J. How well can we predict the toxicity of pesticide mixtures to aquatic life?. Integrated Environmental Assessment and Management: An *International Journal*, v. 3, n. 3, p. 364-372, 2007.

BERENBAUM, M. C. The expected effect of a combination of agents: the general solution. *Journal of theoretical biology*, v. 114, n. 3, p. 413-431, 1985.

BOOBIS, A.; BUDINSKY, R.; COLLIE, S.; CROFTON, K.; EMBRY, M.; FELTER, S.; PRICE, P. Critical analysis of literature on low-dose synergy for use in screening chemical mixtures for risk assessment. *Critical reviews in toxicology*, v. 41, n. 5, p. 369-383, 2011.

BOPP, S. K.; BAROUKI, R.; BRACK, W.; DALLA COSTA, S.; DORNE, J. L. C.; DRAKVIK, P. E.; ... & KOLOSSA-GEHRING, M. Current EU research activities on combined exposure to multiple chemicals. *Environment international*, v. 120, p. 544-562, 2018.

BOPP, S.; BERGGREN, E.; KIENZLER, A.; VAN DER LINDEN, S.; WORTH, A. Scientific methodologies for the combined effects of chemicals—a survey and literature review. EUR 27471 EN, 2015.

BOXALL, A. B.; RUDD, M. A.; BROOKS, B. W.; CALDWELL, D. J.; CHOI, K.; HICKMANN, S.; ... & VAN DER KRAAK, G. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: what are the big questions?. *Environmental health perspectives*, v. 120, n. (9), p. 1221-1229.

BREZOVŠEK, P.; ELERŠEK, T.; FILIPIČ, M. Toxicities of four anti-neoplastic drugs and their binary mixtures tested on the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata* and the cyanobacterium *Synechococcus leopoliensis*. *Water research*, v. 52, p. 168-177, 2014.

BRUN, G. L.; BERNIER, M.; LOSIER, R.; DOE, K.; JACKMAN, P.; LEE, H. B. Pharmaceutically active compounds in Atlantic Canadian sewage treatment plant effluents and receiving waters, and potential for environmental effects as measured by acute and chronic aquatic toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 25, n. 8, p. 2163-2176, 2006.

- BU, Q.; SHI, X.; YU, G.; HUANG, J.; WANG, B. Assessing the persistence of pharmaceuticals in the aquatic environment: Challenges and needs. *Emerging Contaminants*, v. 2, n. 3, p. 145-147, 2016.
- CALDAS, S. S.; ARIAS, J. L. O.; ROMBALDI, C.; MELLO, L. L.; CERQUEIRA, M. B.; MARTINS, A. F.; PRIMEL, E. G. Occurrence of pesticides and PPCPs in surface and drinking water in southern Brazil: data on 4-year monitoring. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 30, n. 1, p. 71-80, 2018.
- CALDAS, S. S.; BOLZAN, C. M.; GUILHERME, J. R.; SILVEIRA, M. A. K.; ESCARRONE, A. L. V.; PRIMEL, E. G. Determination of pharmaceuticals, personal care products, and pesticides in surface and treated waters: method development and survey. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 20, n. 8, p. 5855-5863, 2013.
- CAMPANHA, M. B.; AWAN, A. T.; DE SOUSA, D. N.; GROSSELI, G. M.; MOZETO, A. A.; FADINI, P. S. A 3-year study on occurrence of emerging contaminants in an urban stream of São Paulo State of Southeast Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 22, n. 10, p. 7936-7947, 2015.
- CAO, S. S.; DUAN, Y. P.; TU, Y. J.; TANG, Y.; LIU, J.; ZHI, W. D.; DAI, C. Pharmaceuticals and personal care products in a drinking water resource of Yangtze River Delta Ecology and Greenery Integration Development Demonstration Zone in China: Occurrence and human health risk assessment. *Science of The Total Environment*, v. 721, p. 137624, 2020.
- CARPENTER, D. O.; ARCARO, K.; SPINK, D. C. Understanding the human health effects of chemical mixtures. *Environmental health perspectives*, v. 110, p. 25-42, 2002.
- CEDERGREEN, N.; CHRISTENSEN, A. M.; KAMPER, A.; KUDSK, P.; MATHIASSEN, S. K.; STREIBIG, J. C.; SØRENSEN, H. A review of independent action compared to concentration addition as reference models for mixtures of compounds with different molecular target sites. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 27, n. (7), p. 1621-1632, 2008.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC), 2002. Center for Disease Control and Prevention, 2000 CDC Growth Charts for the United States: Methods and Development, Vital and Health Statistics, Series 11, Number 246. https://www.cdc.gov/nchs/data/series/sr_11/sr11_246.pdf. Accessed: 05 dec 2020.
- CHAVES, M. D. J. S.; BARBOSA, S. C.; MALINOWSKI, M. M.; VOLPATO, D.; CASTRO, Í. B.; FRANCO, T. C. R. S.; PRIMEL, E. G. Pharmaceuticals and personal care products in a Brazilian wetland of international importance: Occurrence and environmental risk assessment. *Science of the Total Environment*, v. 734, p. 139374, 2020.
- CHEN, Y.; VYMAZAL, J.; BŘEZINOVÁ, T.; KOŽELUH, M.; KULE, L.; HUANG, J.; CHEN, Z. Occurrence, removal and environmental risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in rural wastewater treatment wetlands. *Science of the Total Environment*, v. 566, p. 1660-1669, 2016.

CHOU, T. C. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacological reviews*, v. 58, n. 3, p. 621-681, 2006.

CHOU, T.C., MARTIN, N., 2005. CompuSyn for Drug Combinations and for General Dose-Effect Analysis - User's Guide. A Computer Program for Quantification of Synergism and Antagonism in Drug Combinations and the Determination of IC50, ED50 and LD50 Values. ComboSyn, Inc.

CLEUVERS, M. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 59, n. 3, p. 309-315, 2004.

COONEY, J. D. 1995. Freshwater tests. In: RAND, G. M. Ed. **Fundamentals of aquatic toxicology**. 2 th ed. 1125 p.

COORS, A.; VOLLMAR, P.; SACHER, F.; POLLEICHTNER, C.; HASSOLD, E.; GILDEMEISTER, D.; KÜHNEN, U. Prospective environmental risk assessment of mixtures in wastewater treatment plant effluents—Theoretical considerations and experimental verification. *Water research*, v. 140, p. 56-66, 2018.

CORCORAN, J.; WINTER, M. J.; TYLER, C. R. Pharmaceuticals in the aquatic environment: a critical review of the evidence for health effects in fish. *Critical reviews in toxicology*, v. 40, n. 4, p. 287-304, 2010.

CRAGO J, KLAPER R. Place-based screening of mixtures of dominant emerging contaminants measured in Lake Michigan using zebrafish embryo gene expression assay. *Chemosphere*, p. 1226-34, 2018.

CUNNINGHAM, V. L.; BINKS, S. P.; OLSON, M. J. Human health risk assessment from the presence of human pharmaceuticals in the aquatic environment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 53, n. 1, p. 39-45, 2009.

DAI, C.; LI, S.; DUAN, Y.; LEONG, K. H.; TU, Y.; ZHOU, L. Human health risk assessment of selected pharmaceuticals in the five major river basins, China. *Science of The Total Environment*, v. 801, p. 149730, 2021.

DAOUK, S.; CHEVRE, N.; VERNAZ, N.; BONNABRY, P.; DAYER, P.; DAALI, Y.; FLEURY-SOUVERAIN, S. Prioritization methodology for the monitoring of active pharmaceutical ingredients in hospital effluents. *Journal of Environmental Management*, v. 160, p. 324-332, 2015.

DAVID, A.; PANCHARATNA, K. Developmental anomalies induced by a non-selective COX inhibitor (ibuprofen) in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 27, n. 3, p. 390-395, 2009.

DE ALMEIDA, C. A.; OLIVEIRA, M. S.; MALLMANN, C. A.; MARTINS, A. F. Determination of the psychoactive drugs carbamazepine and diazepam in hospital effluent and

identification of their metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 22, n. 21, p. 17192-17201, 2015.

DE SOUZA, S. M. L.; DE VASCONCELOS, E. C.; DZIEDZIC, M.; DE OLIVEIRA, C. M. R. Environmental risk assessment of antibiotics: an intensive care unit analysis. *Chemosphere*, v.77, n. 7, p. 962-967, 2009.

DELLAGRECA, M. *et al.* Identification of phototransformation products of prednisone by Sunlight: toxicity of the drug and its derivatives on Aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 22, p. 534–539, 2002.

DONG, Z., SENN, D.B., MORAN, R.E., SHINE, J.P. Prioritizing environmental risk of prescription pharmaceuticals. *Regulatory toxicology and pharmacology*, v. 65, p. 60–67, 2013.

DRZYMAŁA, J.; KALKA, J. Ecotoxic interactions between pharmaceuticals in mixtures: diclofenac and sulfamethoxazole. *Chemosphere*, v. 259, p. 127407.

DUSSAULT, È. B.; BALAKRISHNAN, V. K.; SVERKO, E. D.; SOLOMON, K. R.; SIBLEY, P. K. Toxicity of human pharmaceuticals and personal care products to benthic invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*. v. 27, n. 2, p. 425-32, 2008.

ECHA (European Chemicals Agency), 2008. Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment Chapter R. 10: Characterization of Dose [Concentration] - Response for Environment.

ELLISON, C. M.; MADDEN, J. C.; CRONIN, M. T.; ENOCH, S. J. Investigation of the Verhaar scheme for predicting acute aquatic toxicity: Improving predictions obtained from Toxtree ver. 2.6. *Chemosphere*, v. 139, p. 146-154, 2015.

EMEA. Betamethasone-Summary Report. EMEA-Committee for veterinary medicinal products, London; 1999.

ENNA, S. J.; BYLUND, D. B. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference. Elsevier, 2008.

ERICSON, H.; THORSÉN, G.; KUMBLAD, L. Physiological effects of diclofenac, ibuprofen and propranolol on Baltic Sea blue mussels. *Aquatic Toxicology*, v. 99, n. 2, p. 223-231, 2010.

ESCHER, B. I.; HERMENS, J. L. Modes of action in ecotoxicology: their role in body burdens, species sensitivity, QSARs, and mixture effects. *Environmental Science & Technology*, v. 36 (20), p. 4201-4217, 2002.

EUROPEAN COMMISSION, 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment in Support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for New Notified Substances Part II. Commission Regulation (EC) No 1488/94 on risk assessment for existing substances and of directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing

of biocidal products on the market: Part II Environmental risk assessment. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA), 2016. Guideline on environmental impact assessment for veterinary medicinal products in support of the VICH guidelines GL6 and GL38. 2016. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-environmental-impact-assessment-veterinary-medicinal-products-support-vich-guidelines-gl6_en.pdf. Acesso em: 15 Mai 2019.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA), 2018. Draft. Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use. EMA / CHMP / SWP / 4447/00 Rev. 1. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-environmental-risk-assessment-medicinal-products-human-use-first-version_en.pdf. Acesso em: 06 Mai 2021.

FAO/WHO (1995) Evaluation of certain veterinary drug residues in food: 48th meeting report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, Switzerland.

FAQI, A. S. A comprehensive guide to toxicology in preclinical drug development. Elsevier, 2013.

FATTA-KASSINOS, D.; MERIC, S.; NIKOLAOU, A. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. *Analytical and bioanalytical chemistry*, v. 399, n. 1, p. 251-275, 2011.

FENT, K.; WESTON, A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic toxicology*, v. 76, n. (2), p. 122-159, 2006.

FERREIRA C. L.; RODRIGUES S. C.; SANTOS M. A. S. Análise do conhecimento da população sobre o descarte de medicamentos em Belo Horizonte – Minas Gerais. *Interfaces Científicas - Saúde e Ambiente*, n.2, v.3, p. 9-18, 2015.

FERREIRA, A. P. Environmental Investigation of Psychiatric Pharmaceuticals: Guandu River, Rio De Janeiro State, Southeast Brazil. *Journal of Chemical Health Risks*, v. 4, n. 3, p. 25-32, 2018.

FOCAZIO, M. J.; KOLPIN, D. W.; BARNES, K. K.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; ZAUGG, S. D.; THURMAN, M. E. A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States—II) Untreated drinking water sources. *Science of the Total Environment*, v. 402, n. 2-3, p. 201-216, 2008.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), 2021. FDA requests removal of strongest warning against using cholesterol-lowering statins during pregnancy; still advises most pregnant patients should stop taking statins. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/150774/download>. Acesso em 22 out 2021.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), Center for Drug Evaluation and Research (CDER) and Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)), 1998. Guidance for

Industry Environmental Assessment of Human Drug and Biologics Applications. CMC 6-Rev 1.

FOUREAUX, A. F. S.; REIS, E. O.; LEBRON, Y.; MOREIRA, V.; SANTOS, L. V.; AMARAL, M. S.; LANGE, L. C. Rejection of pharmaceutical compounds from surface water by nanofiltration and reverse osmosis. *Separation and Purification Technology*, v. 212, p. 171-179, 2019.

FURTADO, C. M.; VON MÜHLEN, C. Endocrine disruptors in water filters used in the Rio dos Sinos Basin region, Southern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v. 75, n. 2, p. 85-90, 2015.

FURUHAGEN, S.; FUCHS, A.; LUNDSTRÖM BELLEZA, E.; BREITHOLTZ, M.; GOROKHOVA, E. Are pharmaceuticals with evolutionary conserved molecular drug targets more potent to cause toxic effects in non-target organisms?. *PloS one*, v. 9, n. (8), e105028, 2014.

GAFFNEY, V. J.; ALMEIDA, C. M.; RODRIGUES, A.; FERREIRA, E.; BENOLIEL, M. J.; CARDOSO, V. V. Occurrence of pharmaceuticals in a water supply system and related human health risk assessment. *Water research*, v. 72, p. 199-208, 2015.

GAMARRA JR, J. S.; GODOI, A. F. L.; DE VASCONCELOS, E. C.; DE SOUZA, K. M. T.; DE OLIVEIRA, C. M. R. Environmental Risk Assessment (ERA) of diclofenac and ibuprofen: A public health perspective. *Chemosphere*, v. 120, p. 462-469, 2015.

GEIGER, E.; HORNEK-GAUSTERER, R.; SAÇAN, M. T. Single and mixture toxicity of pharmaceuticals and chlorophenols to freshwater algae *Chlorella vulgaris*. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 129, p. 189-198, 2016.

GLOBALY HARMONIZED SYSTEM (GHS). Globally Harmonized System for the classification and labelling of chemicals. Fourth revised edition. New York and Genebra, 2011.

GODOY, A. A.; DE OLIVEIRA, Á. C.; SILVA, J. G. M.; DE JESUS AZEVEDO, C. C.; DOMINGUES, I.; NOGUEIRA, A. J. A.; KUMMROW, F. 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.; PAMPLIN, P. A. Z. Ecotoxicological evaluation of propranolol hydrochloride and losartan potassium to *Lemna minor* L. (1753) individually and in binary mixtures. *Ecotoxicology*, v. 24, n. 5, p. 1112-1123, 2015.

GROS, M.; PETROVIĆ, M.; GINEBREDA, A.; BARCELÓ, D. Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environment international*, v. 36, n. 1, p. 15-26, 2010.

GURUGE, K. S.; GOSWAMI, P.; TANOUE, R.; NOMIYAMA, K.; WIJESEKARA, R. G. S.; DHARMARATNE, T. S. First nationwide investigation and environmental risk assessment of

72 pharmaceuticals and personal care products from Sri Lankan surface waterways. *Science of The Total Environment*, v. 690, p. 683-695, 2019.

HANEY, J.F. et al. "**An-Image-based Key to the Zooplankton of North America**" version 5.0 released 2013. University of New Hampshire Center for Freshwater Biology Disponível em: <cfb.unh.edu>. Acesso em: 25 Out. 2021.

HERNANDO, M. D.; MEZCUA, M.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R.; BARCELÓ, D. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*, v. 69, n. 2, p. 334-342, 2006.

HOUTMAN, C. J., KROESBERGEN, J., LEKKERKERKER-TEUNISSEN, K., & VAN DER HOEK, J. P. Human health risk assessment of the mixture of pharmaceuticals in Dutch drinking water and its sources based on frequent monitoring data. *Science of the Total Environment*, v. 496, p. 54-62, 2014.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009 – POF. Rio de Janeiro: IBGE.

IDE, A. H.; OSAWA, R. A.; MARCANTE, L. O.; DA COSTA PEREIRA, J.; DE AZEVEDO, J. C. R. Occurrence of pharmaceutical products, female sex hormones and caffeine in a subtropical region in Brazil. *CLEAN–Soil, Air, Water*, v. 45, n. 9, p. 1700334, 2017.

IESCE, M. R.; LAVORGNA, M.; RUSSO, C.; PISCITELLI, C.; PASSANANTI, M.; TEMUSSI, F.; ... & ISIDORI, M. Ecotoxic effects of loratadine and its metabolic and light-induced derivatives. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 170, n. 664-672, 2019.

IGAM - INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS. Portal INFOHIDRO – Informações sobre recursos hídricos. Ecotoxicologia aquática. Disponível em: <http://portalinfohidro.igam.mg.gov.br/sem-categoria/321-ensaios-ecotoxicologicos>. Acesso em: 25 Out. 2021.

IQVIA Institute. *The Global Use of Medicine in 2019 and Outlook to 2023: Forecasts and Areas to Watch*. 60 p. 2019. Disponível em: <https://informatori.it/wp-content/uploads/2019/03/the-global-use-of-medicine-in-2019-and-outlook-to-2023.pdf>. Acesso em 21/07/2021.

ISIDORI, M.; LAVORGNA, M.; NARDELLI, A.; PASCARELLA, L.; PARRELLA, A. Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Science of the total environment*, p. 346, n. (1-3), p. 87-98, 2005.

ISIDORI, M.; NARDELLI, A.; PASCARELLA, L.; RUBINO, M.; PARRELLA, A. Toxic and genotoxic impact of fibrates and their photoproducts on non-target organisms. *Environment international*, v. 33, n. 5, p. 635-641, 2007.

JACOB, R. S.; SANTOS, L. V. S.; DE SOUZA, A. F. R.; LANGE, L. C. 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.

JARDIM, W. F.; MONTAGNER, C. C.; PESCARA, I. C.; UMBUZEIRO, G. A.; BERGAMASCO, A. M. D. D.; ELDRIDGE, M. L.; SODRÉ, F. F. An integrated approach to evaluate emerging contaminants in drinking water. *Separation and Purification Technology*, v. 84, p. 3-8, 2012.

JIANG, X.; QU, Y.; ZHONG, M.; LI, W.; HUANG, J.; YANG, H.; YU, G. Seasonal and spatial variations of pharmaceuticals and personal care products occurrence and human health risk in drinking water-A case study of China. *Science of The Total Environment*, v. 694, p. 133711, 2019.

JURECZKO, M.; PRZYSTAŚ, W. Ecotoxicity risk of presence of two cytostatic drugs: Bleomycin and vincristine and their binary mixture in aquatic environment. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 172, p. 210-215, 2019.

KALASEKAR, S. M.; ZACHARIA, E.; KESSLER, N.; DUCHARME, N. A.; GUSTAFSSON, J. Å.; KAKADIARIS, I. A.; BONDESSON, M. Identification of environmental chemicals that induce yolk malabsorption in zebrafish using automated image segmentation. *Reproductive Toxicology*, v. 55, p. 20-29, 2015.

KHAN, U.; NICELL, J. Human health relevance of pharmaceutically active compounds in drinking water. *The AAPS journal*, v. 17, n. 3, p. 558-585, 2015.

KIENZLER, A.; BOPP, S. K.; VAN DER LINDEN, S.; BERGGREN, E.; WORTH, A. Regulatory assessment of chemical mixtures: requirements, current approaches and future perspectives. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 80, p. 321-334, 2016.

KIENZLER, A.; BOPP, S.; HALDER, M.; EMBRY, M.; WORTH, A. Application of new statistical distribution approaches for environmental mixture risk assessment: A case study. *Science of The Total Environment*, 693, 133510, 2019.

KIM, J. W.; ISHIBASHI, H.; YAMAUCHI, R.; ICHIKAWA, N.; TAKAO, Y.; HIRANO, M.; ARIZONO, K. Acute toxicity of pharmaceutical and personal care products on freshwater crustacean (*Thamnocephalus platyurus*) and fish (*Oryzias latipes*). *The Journal of toxicological sciences*, v. 34, n. 2, p. 227-232, 2009.

KORTENKAMP, A.; BACKHAUS, T.; FAUST, M. State of the art report on mixture toxicity. 2009. http://ec.europa.eu/environment/chemicals/pdf/report_Mixture%20toxicity.pdf. Acesso em: 30 Out 2021.

KUSTER, M.; AZEVEDO, D. D. A.; DE ALDA, M. L.; NETO, F. A.; BARCELÓ, D. Analysis of phytoestrogens, progestogens and estrogens in environmental waters from Rio de Janeiro (Brazil). *Environment international*, v. 35, n. 7, p. 997-1003, 2009.

LAMICHHANE, K.; GARCIA, S. N.; HUGGETT, D. B.; DEANGELIS, D. L.; LA POINT, T. W. Exposures to a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), sertraline hydrochloride, over multiple generations: changes in life history traits in *Ceriodaphnia dubia*. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 101, p. 124-130, 2014.

- LARSSON, D. J. Pollution from drug manufacturing: review and perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 369(1656), p. 20130571, 2014.
- LAWRENCE, J. R.; ZHU, B.; SWERHONE, G. D.; ROY, J.; TUMBER, V.; WAISER, M. J.; KORBER, D. R. Molecular and microscopic assessment of the effects of caffeine, acetaminophen, diclofenac, and their mixtures on river biofilm communities. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 31, n. 3, p. 508-517, 2012.
- LEUNG, H. W.; JIN, L.; WEI, S.; TSUI, M. M. P.; ZHOU, B.; JIAO, L.; CHEUNG, P. C.; CHUN, Y. K.; MURPHY, M. B.; LAM, P. K. S. Pharmaceuticals in tap water: human health risk assessment and proposed monitoring framework in China. *Environmental health perspectives*, v. 121, n. 7, p. 839 - 846, 2013.
- LI, Y.; ZHANG, L.; DING, J.; LIU, X. Prioritization of pharmaceuticals in water environment in China based on environmental criteria and risk analysis of top-priority pharmaceuticals. *Journal of environmental management*, v. 253, p. 109732, 2020.
- LIN, T.; YU, S.; CHEN, W. Occurrence, removal and risk assessment of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in an advanced drinking water treatment plant (ADWTP) around Taihu Lake in China. *Chemosphere*, v. 152, p. 1-9, 2016.
- LINDHOLM-LEHTO, P. C.; AHKOLA, H. S.; KNUUTINEN, J. S.; HERVE, S. H. Widespread occurrence and seasonal variation of pharmaceuticals in surface waters and municipal wastewater treatment plants in central Finland. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 23(8), p. 7985-7997, 2016.
- LIU, H. Q.; LAM, J. C.; LI, W. W.; YU, H. Q.; LAM, P. K. Spatial distribution and removal performance of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment plants in China. *Science of The Total Environment*, v. 586, p. 1162-1169, 2017.
- LIU, J.; LU, G.; WU, D.; YAN, Z. A multi-biomarker assessment of single and combined effects of norfloxacin and sulfamethoxazole on male goldfish (*Carassius auratus*). *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 102, p. 12-17, 2014.
- LOCATELLI, M. A. F.; SODRÉ, F. F.; JARDIM, W. F. Determination of antibiotics in Brazilian surface waters using liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Archives of environmental contamination and toxicology*, v. 60, n. 3, p. 385- 393, 2011.
- LOPES, L. G.; MARCHI, M. R.; SOUZA, J. B.; MOURA, J. A.; LORENZON, C. S.; CRUZ, C.; AMARAL, L. A. Estrogênios em águas naturais e tratadas da região de Jaboticabal-São Paulo. *Química Nova*, v. 33, n. 3, p. 639-643, 2010.
- LÓPEZ-SERNA, R.; PÉREZ, S.; GINEBREDA, A.; PETROVIĆ, M.; BARCELÓ, D. Fully automated determination of 74 pharmaceuticals in environmental and waste waters by online solid phase extraction–liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry. *Talanta*, v. 83, n. 2, p. 410-424, 2010.

LOWER, N. *The Effects of Contaminants on Various Life-Cycle Stages of Atlantic Salmon (Salmo salar L.)*. Tese (PhD). University of Portsmouth, UK. 350 p. 2008.

LU, G.; LI, Z.L.; IU, J. Effects of selected pharmaceuticals on growth, reproduction and feeding of *Daphnia magna*. *Fresenius Environmental Bulletin*, v. 22, n. 9, p. 2583-2589, 2013.

LUCKENBACH, T.; EPEL, D. Nitromusk and polycyclic musk compounds as long-term inhibitors of cellular xenobiotic defense systems mediated by multidrug transporters. *Environmental health perspectives*, v. 113 (1), p. 17-24, 2005.

MACHADO, K. C.; GRASSI, M. T.; VIDAL, C.; PESCARA, I. C.; JARDIM, W. F.; FERNANDES, A. N.; SODRÉ, F. F.; ALMEIDA, F. V.; SANTANA, J. S.; CANELA, M. C.; NUNES, C. R. O.; BICHINHO, K. M.; SEVERO, F. J.R. A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. *Science of the Total Environment*, v. 572, p. 138-146, 2016.

MACHADO, K. S.; CARDOSO, F. D.; AZEVEDO, J. C. R.; BRAGA, C. B. Occurrence of female sexual hormones in the Iguazu river basin, Curitiba, Paraná State, Brazil. *Acta Scientiarum. Technology*, v. 36, n. 3, p. 421-427, 2014.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. Determination of some organic contaminants in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Talanta*, v. 100, p. 38-44, 2012.

MCCARTY, L. S.; BORGERT, C. J. Review of the toxicity of chemical mixtures containing at least one organochlorine. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 45, n. (2), p. 104-118, 2006.

MEEK, M. E.; BOOBIS, A. R.; CROFTON, K. M.; HEINEMEYER, G.; VAN RAAIJ, M.; VICKERS, C. Risk assessment of combined exposure to multiple chemicals: a WHO/IPCS framework. *Regul Toxicol Pharmacol*, v. 60, p. S1-S14, 2011.

MELO, S. M.; BRITO, N. Analysis and occurrence of endocrine disruptors in Brazilian water by HPLC-fluorescence detection. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 225, n. 1, p. 1783, 2014.

MENDOZA, A.; RODRÍGUEZ-GIL, J.L.; GONZALEZ-ALONSO, S.; MASTROIANNI, N.; DE ALDA, M.L.; BARCELO, D.; VALCARCEL, Y. Drugs of abuse and benzodiazepines in the Madrid Region (Central Spain): seasonal variation in river waters, occurrence in tap water and potential environmental and human risk. *Environmental International*. v 70, p. 76-87, 2014.

MENZ, J.; BAGINSKA, E.; ARRHENIUS, Å.; HAIß, A.; BACKHAUS, T.; KÜMMERER, K. Antimicrobial activity of pharmaceutical cocktails in sewage treatment plant effluent—An experimental and predictive approach to mixture risk assessment. *Environmental pollution*, v. 231, p.1507-1517, 2017.

MILIĆ, N.; MILANOVIĆ, M.; RADONIĆ, J.; SEKULIĆ, M. T.; MANDIĆ, A.; ORČIĆ, D.; MIŠAN, A.; MILOVANOVIĆ, I.; LETIĆ, N. G.; MILORADOV, M. V. The occurrence of

selected xenobiotics in the Danube river via LC-MS/MS. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 25, n. 11, p. 11074-11083, 2018.

MONTAGNER, C. C., SODRÉ, F. F., ACAYABA, R. D., VIDAL, C., CAMPESTRINI, I., LOCATELLI, M. A., JARDIM, W. F. Ten years-snapshot of the occurrence of emerging contaminants in drinking, surface and ground waters and wastewaters from São Paulo State, Brazil. *J Brazil Chem Soc*, v. 30, n. (3), p. 614–632, 2019.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, 2011.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F.; VON DER OHE, P. C.; UMBUZEIRO, G. A. Occurrence and potential risk of triclosan in freshwaters of São Paulo, Brazil—the need for regulatory actions. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 21, n. 3, p. 1850-1858, 2014.

MOREIRA, D. S.; AQUINO, S. F.; AFONSO, R. J.; SANTOS, E. P.; DE PÁDUA, V. L. Occurrence of endocrine disrupting compounds in water sources of Belo Horizonte Metropolitan Area, Brazil. *Environmental Technology*, v. 30, n. 10, p. 1041-1049, 2009.

MOREIRA, M.; AQUINO, S.; COUTRIM, M.; SILVA, J.; AFONSO, R. Determination of endocrine-disrupting compounds in waters from Rio das Velhas, Brazil, by liquid chromatography/high resolution mass spectrometry (ESI-LC-IT-TOF/MS). *Environmental technology*, v. 32, n. 12, p. 1409-1417, 2011.

MULTIYAR, P. K.; GUPTA, S. K.; MITTAL, A. K. Fate of pharmaceutical active compounds (PhACs) from River Yamuna, India: An ecotoxicological risk assessment approach. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 150, p. 297-304, 2018.

MUNZ, N. A.; BURDON, F. J.; DE ZWART, D.; JUNGHANS, M.; MELO, L.; REYES, M.; STAMM, C. Pesticides drive risk of micropollutants in wastewater-impacted streams during low flow conditions. *Water research*, v. 110, p. 366-377, 2017.

NALLANI, G. C. *Determination of Bioconcentration Potential of Selected Pharmaceuticals in Fathead Minnow, Pimephales promelas, and Channel Catfish, Ictalurus punctatus*. Thesis (pHd) - University of North Texas, Denton, TX. 259 p. 2010.

NANTABA, F.; WASSWA, J.; KYLIN, H.; PALM, W. U.; BOUWMAN, H.; KÜMMERER, K. Occurrence, distribution, and ecotoxicological risk assessment of selected pharmaceutical compounds in water from Lake Victoria, Uganda. *Chemosphere*, v. 239, p. 124642, 2020.

NEGRO-ALVAREZ, J. M.; FUNES, E.; HERNÁNDEZ, J.; GARCÍA-SELLÉS, F. J.; PAGÁN, J. A.; LÓPEZ-SÁNCHEZ, J. D. Antiallergic properties of antihistamines. *Allergologia et immunopathologia*, v. 24, n. 4, p. 177-183, 1996.

NEVES, A. C.; MOL, M. P. G. Theoretical environmental risk assessment of ten used pharmaceuticals in Belo Horizonte, Brazil. *Environmental monitoring and assessment*, v. 191, n. 5, p. 275, 2019.

OECD - ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2018. Guidance document on aqueous-phase aquatic toxicity testing of difficult test chemicals. Disponível em: <https://www.oecd.org/env/guidance-document-on-aquatic-toxicity-testing-of-difficult-substances-and-mixtures-0ed2f88e-en.htm>. Acesso em 21 jan. 2021.

OVERTURF, M. D.; OVERTURF, C. L.; BAXTER, D.; HALA, D. N.; CONSTANTINE, L.; VENABLES, B.; HUGGETT, D. B. Early life-stage toxicity of eight pharmaceuticals to the fathead minnow, *Pimephales promelas*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, v. 62, n. 3, p. 455-464, 2012.

PADHYE, L. P.; YAO, H.; KUNG'U, F. T.; HUANG, C. H. Year-long evaluation on the occurrence and fate of pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disrupting chemicals in an urban drinking water treatment plant. *Water research*, v. 51, p. 266-276, 2014.

PAI, C. W.; LEONG, D.; CHEN, C. Y.; WANG, G. S. Occurrences of pharmaceuticals and personal care products in the drinking water of Taiwan and their removal in conventional water treatment processes. *Chemosphere*, v. 256, p. 127002, 2020.

PAPAGIANNAKI, D.; MORGILLO, S.; BOCINA, G.; CALZA, P.; BINETTI, R. Occurrence and Human Health Risk Assessment of Pharmaceuticals and Hormones in Drinking Water Sources in the Metropolitan Area of Turin in Italy. *Toxics*, v. 9, n. 4, p. 88, 2021.

PAPICH, M. G. Saunders handbook of veterinary drugs: small and large animal. 4th edition, Elsevier Health Sciences, 2016.

PARK, S; CHOI, K. Hazard Assessment of Commonly Used Agricultural Antibiotics on Aquatic Ecosystems. *Ecotoxicology*, v. 17, p. 526-538, 2008.

PAVAN, M.; NETZEVA, T. I.; WORTH, A. P. Validation of a QSAR model for acute toxicity. *SAR and QSAR in Environmental Research*, v. 17 (02), p. 147-171, 2006.

PEÑA-GUZMÁN, C.; ULLOA-SÁNCHEZ, S.; MORA, K.; HELENA-BUSTOS, R.; LOPEZ-BARRERA, E.; ALVAREZ, J.; RODRIGUEZ-PINZÓN, M. Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin America: A review of the current literature. *Journal of environmental management*, v. 237, p. 408-423, 2019.

PFIZER. Doing this differently. 2008. Disponível em: <<https://www.pfizer.com/sites/default/files/annualreport/2008/annual/review2008.pdf>>. Acesso em: 04 out. 21.

POMPEI, C. M. E.; CAMPOS, L. C.; DA SILVA, B. F.; FOGO, J. C.; VIEIRA, E. M. Occurrence of PPCPs in a Brazilian water reservoir and their removal efficiency by ecological filtration. *Chemosphere*, v. 226, p. 210-219, 2019.

PRAVEENA, S. M.; RASHID, M. Z. M.; NASIR, F. A. M.; YEE, W. S.; ARIS, A. Z. Occurrence and potential human health risk of pharmaceutical residues in drinking water from Putrajaya (Malaysia). *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 180, p. 549-556, 2019.

PRICE, P.; HAN, X.; JUNGHANS, M.; KUNZ, P.; WATTS, C.; LEVERETT, D. An application of a decision tree for assessing effects from exposures to multiple substances to the assessment of human and ecological effects from combined exposures to chemicals observed in surface waters and waste water effluents. *Environmental Sciences Europe*, v. 24, n. 1, p. 34, 2012.

QUADRA, G. R.; SILVA, P. S.; PARANAÍBA, J. R.; JOSUÉ, I. I.; SOUZA, H.; COSTA, R.; FERNANDEZ, M.; VILAS-BOAS, J.; ROLAND, F. Investigation of medicines consumption and disposal in Brazil: A study case in a developing country. *Science of The Total Environment*, v. 671, p. 505-509, 2019.

RADAME, F. 1977. *Ecotoxicologie*. Ed. Masson, Paris. 201p.

REICHERT, G.; MIZUKAWA, A.; ANTONELLI, J.; GOULART, F. D. A. B.; FILIPPE, T. C.; DE AZEVEDO, J. C. R. Determination of Parabens, Triclosan, and Lipid Regulators in a Subtropical Urban River: Effects of Urban Occupation. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 231, n. 3, p. 1-11, 2020.

REIS, E. O.; FOUREAUX, A. F. S.; RODRIGUES, J. S.; MOREIRA, V. R.; LEBRON, Y. A.; SANTOS, L. V.; AMARAL, M. C. S.; LANGE, L. C. Occurrence, removal and seasonal variation of pharmaceuticals in Brazilian drinking water treatment plants. *Environmental Pollution*, v. 250, p. 773 – 781, 2019.

REIS, E. O.; SANTOS, L. V.; LANGE, L. C. Prioritization and environmental risk assessment of pharmaceuticals mixtures from Brazilian surface waters. *Environmental Pollution*, 117803, 2021.

RICHARDS, S. M.; KELLY, S. E.; HANSON, M. L. Zooplankton chitobiase activity as an endpoint of pharmaceutical effect. *Archives of environmental contamination and toxicology*, v. 4, p. 637-644, 2008.

ROBINSON, A. A.; BELDEN, J. B.; LYDY, M. J. Toxicity of fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 24, n. 2, p. 423-430, 2005.

ROCCO, L.; FRENZILLI, G.; ZITO, G.; ARCHIMANDRITIS, A.; PELUSO, C.; STINGO, V. Genotoxic effects in fish induced by pharmacological agents present in the sewage of some Italian water-treatment plants. *Environmental toxicology*, v. 27, n. 1, p. 18-25, 2012.

RODEA-PALOMARES, I.; PETRE, A. L.; BOLTES, K.; LEGANÉS, F.; PERDIGÓN-MELÓN, J. A.; ROSAL, R.; FERNÁNDEZ-PIÑAS, F. Application of the combination index (CI)-isobologram equation to study the toxicological interactions of lipid regulators in two aquatic bioluminescent organisms. *Water research*, v. 44 (2), p. 427-438, 2010.

RODEA-PALOMARES, I.; PETRE, A. L.; BOLTES, K.; LEGANÉS, F.; PERDIGÓN-MELÓN, J. A.; ROSAL, R.; FERNÁNDEZ-PIÑAS, F. Application of the combination index (CI)-isobologram equation to study the toxicological interactions of lipid regulators in two aquatic bioluminescent organisms. *Water research*, v. 44, n. (2), p. 427-438, 2010.

ROOS, V., GUNNARSSON, L., FICK, J., LARSSON, D. G. J., & RUDÉN, C. Prioritising pharmaceuticals for environmental risk assessment: towards adequate and feasible first-tier selection. *Science of the Total Environment*, v. 421, p. 102-110, 2012.

ROSAL, R.; RODEA-PALOMARES, I.; BOLTES, K.; FERNÁNDEZ-PIÑAS, F.; LEGANÉS, F.; GONZALO, S.; PETRE, A. Ecotoxicity assessment of lipid regulators in water and biologically treated wastewater using three aquatic organisms. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 7, n. 1, p. 135-144, 2010.

SANDERSON, H., JOHNSON, D.J., REITSMA, T., BRAIN, R.A., WILSON, C.J., SOLOMON, K.R. Ranking and prioritization of environmental risks of pharmaceuticals in surface waters. *Regulatory toxicology and pharmacology*, v. 39, p. 158–183, 2004.

SANDERSON, H.; THOMSEN, M. Comparative analysis of pharmaceuticals versus industrial chemicals acute toxicity classification according to the United Nations classification system for chemicals. Assessment of the (Q)SAR predictability of pharmaceuticals acute aquatic toxicity and their predominant acute toxic mode-of-action. *Toxicology Letters*, v. 187, p. 84 – 93, 2009.

SANTOS, A. V.; COUTO, C. F.; LEBRON, Y. A. R.; MOREIRA, V. R.; FOUREAUX, A. F. S.; REIS, E. O.; SANTOS, L. V.; ANDRADE, L. H., AMARAL, M. C. S.; LANGE, L. C. Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in water supply systems in Brazil. *Science of The Total Environment*, v. 746, p. 141011, 2020.

SCHULTZ, T. W.; CRONIN, M. T. Quantitative structure-activity relationships for weak acid respiratory uncouplers to *Vibrio fischeri*. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 16 (2), p. 357-360, 1997.

SEIGNER, H.; CAROLL, K.; FENSKE, M.; JANSSEN, C. R.; MAACK, G.; PASCOE, D.; SCHÄFFERS, C.; VANDENBERGHC, G. F.; WATTSB, M.; WENZEL, A. (2003). Identification of endocrine-disrupting effects in aquatic vertebrates and invertebrates: report from the European IDEA project. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 54, n. 3, p. 302-314, 2003.

SEILER, J. P. Pharmacodynamic activity of drugs and ecotoxicology—can the two be connected? *Toxicology Letters*, v. 131, n. (1-2), p. 105-115, 2002.

SENGAR, A.; VIJAYANANDAN, A. Human health and ecological risk assessment of 98 pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) detected in Indian surface and wastewaters. *Science of The Total Environment*, p. 150677, 2021.

SHARMA, B. M.; BEČANOVÁ, J.; SCHERINGER, M.; SHARMA, A.; BHARAT, G. K.; WHITEHEAD, P. G.; ... NIZZETTO, L. Health and ecological risk assessment of emerging contaminants (pharmaceuticals, personal care products, and artificial sweeteners) in surface and

groundwater (drinking water) in the Ganges River Basin, India. *Science of the Total Environment*, v. 646, p. 1459-1467, 2019.

SILVA, E.; RAJAPAKSE, N.; KORTENKAMP, A. Something from “nothing” – eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects. *Environmental science & technology*, v. 36, n. (8), p. 1751-1756, 2002.

SILVA, P. R.; MOUNTEER, A. H.; DOS ANJOS BENJAMIN, L.; DE ALMEIDA, E. R.; VITORINO, F. B.; ARCANJO, G. S.; DOS SANTOS PETERSEN, V. R. Evaluation of toxicity and estrogenicity in UASB-Treated municipal sewage. *Chemosphere*, v. 268, p. 128778, 2021.

SIMAZAKI, D.; KUBOTA, R.; SUZUKI, T.; AKIBA, M.; NISHIMURA, T.; KUNIKANE, S. Occurrence of selected pharmaceuticals at drinking water purification plants in Japan and implications for human health. *Water research*, v. 76, p. 187-200, 2015.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO (SNIS). Paineis de informações sobre saneamento. 2019. Brasília. Disponível em: http://appsnis.mdr.gov.br/indicadores/web/agua_esgoto/mapa-esgoto. Acesso em: 26 set 2021.

SODRÉ, F. F.; PESCARA, I. C.; MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Assessing selected estrogens and xenoestrogens in Brazilian surface waters by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Microchemical Journal*, v. 96, n. 1, p. 92-98, 2010.

SOLANO, M. L.; MONTAGNER, C. C.; VACCARI, C.; JARDIM, W. F.; ANSELMO-FRANCI, J. A.; CAROLINO, R. O.; LUVIZUTTO, J. F.; UMBUZEIRO, G. A.; CAMARGO, J. L. Potential endocrine disruptor activity of drinking water samples. *Endocrine Disruptors*, v. 3, n. 1, e983384, 2015.

SOUSA, D. N. R.; MOZETO, A. A.; CARNEIRO, R. L.; FADINI, P. S. Spatio-temporal evaluation of emerging contaminants and their partitioning along a Brazilian watershed. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 25, n. 5, p. 4607-4620, 2018.

STARLING, M. C. V.; AMORIM, C. C.; LEÃO, M. M. D. Occurrence, control and fate of contaminants of emerging concern in environmental compartments in Brazil. *Journal of hazardous materials*, v. 372, p. 17-36, 2019.

STEINKEY, D.; LARI, E.; WOODMAN, S. G.; LUONG, K. H.; WONG, C. S.; PYLE, G. G. Effects of gemfibrozil on the growth, reproduction, and energy stores of *Daphnia magna* in the presence of varying food concentrations. *Chemosphere*, v. 192, p. 75-80, 2018.

STUMPF, M.; TERNES, T. A.; WILKEN, R. D.; RODRIGUES, S. V.; BAUMANN, W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Science of the total environment*, v. 225, n. 1-2, p. 135-141, 1999.

THOMAS, K. V.; DA SILVA, F. M. A.; LANGFORD, K. H.; DE SOUZA, A. D. L.; NIZZETO, L.; WAICHMAN, A. V. Screening for selected human pharmaceuticals and cocaine

in the urban streams of Manaus, Amazonas, Brazil. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, v. 50, n. 2, p. 302-308, 2014.

THRUPP, T. J.; RUNNALLS, T. J.; SCHOLZE, M.; KUGATHAS, S.; KORTENKAMP, A.; SUMPTER, J. P. The consequences of exposure to mixtures of chemicals: Something from 'nothing' and 'a lot from a little' when fish are exposed to steroid hormones. *Science of the total environment*, v. 619, p. 1482-1492, 2018.

TONG, C.; ZHUO, X.; GUO, Y. Occurrence and risk assessment of four typical fluoroquinolone antibiotics in raw and treated sewage and in receiving waters in Hangzhou, China. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 59, n. 13, p. 7303-7309, 2011.

TORRES, N. H.; AGUIAR, M. M.; FERREIRA, L. F. R.; AMÉRICO, J. H. P.; MACHADO, Â. M.; CAVALCANTI, E. B.; TORNISIELO, V. L. Detection of hormones in surface and drinking water in Brazil by LC-ESI-MS/MS and ecotoxicological assessment with *Daphnia magna*. *Environmental monitoring and assessment*, v. 187, n. 6, p. 379, 2015.

TROMBINI, C.; HAMPEL, M.; BLASCO, J. Evaluation of acute effects of four pharmaceuticals and their mixtures on the copepod *Tisbe battagliai*. *Chemosphere*, v. 155, p. 319-328, 2016.

UKIĆ, Š.; SIGURNJAK, M.; CVETNIĆ, M.; MARKIĆ, M.; STANKOV, M. N.; ROGOŠIĆ, M.; RASULEVB, A.; LONČARIĆ BOŽIĆA, H.; KUŠIĆA, T.; BOLANČA, T. (2019). Toxicity of pharmaceuticals in binary mixtures: assessment by additive and non-additive toxicity models. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 185, p. 109696.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA), 2002. Method 1002.0: Daphnid, *Ceriodaphnia dubia*, Survival and Reproduction Test; Chronic Toxicity. EPA-821-R-02-013 (4TH ed) (2002).

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA), 2011. Exposure Factors Handbook. <http://www.epa.gov/ncea/efh/pdfs/efh-complete.pdf>. Accessed: 05 dec 2020.

VALCÁRCEL, Y.; ALONSO, S. G.; RODRÍGUEZ-GIL, J. L.; CASTAÑO, A.; MONTERO, J. C.; CRIADO-ALVAREZ, J. J.; ... CATALÁ, M. Seasonal variation of pharmaceutically active compounds in surface (Tagus River) and tap water (Central Spain). *Environmental Science and Pollution Research*, v. 20(3), p. 1396-1412, 2013.

VASQUEZ, M. I.; LAMBRIANIDES, A.; SCHNEIDER, M.; KÜMMERER, K.; FATTA-KASSINOS, D. Environmental side effects of pharmaceutical cocktails: what we know and what we should know. *Journal of Hazardous Materials*, v. 279, p. 169-189, 2014.

VERHAAR, H. J. M., VAN LECUWEN, C. J., HERMENS, J. L. M. Classifying environmental pollutants. 1. Structure-activity relationships for prediction of aquatic toxicology. *Chemosphere*, v. 25, p. 471-491, 1992.

VERLICCHI, P.; AL AUKIDY, M.; GALLETI, A.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Hospital effluent: investigation of the concentrations and distribution of pharmaceuticals and environmental risk assessment. *Science of the total environment*, v. 430, p. 109-118, 2012.

VESTEL, J. S.; HONG, J. Y.; MENG, Q.; NAUMANN, B. D.; ROBSON, M. G.; SARGENT, E. V. The endocrine disruption potential of betamethasone using Japanese medaka as a fish model. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, v. 23, p. 879-894, 2017.

VESTEL, J.; CALDWELL, D. J.; CONSTANTINE, L.; D'ACO, V. J.; DAVIDSON, T.; DOLAN, D. G.; MILLARD, S. P.; MURRAY-SMITH, P.; PARKE, N. J.; RYAN, J. J.; STRAUB, J. O.; WILSON, P. Use of acute and chronic ecotoxicity data in environmental risk assessment of pharmaceuticals. *Environmental toxicology and chemistry*, v. 35, n. 5, p. 1201-1212, 2016.

VIENO, N. M.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, L. Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from a sewage treatment plant and in the recipient water. *Environmental science & technology*, v. 39(21), p. 8220-8226, 2005.

WANG, L.; YING, G. G.; ZHAO, J. L.; YANG, X. B.; CHEN, F.; TAO, R.; LIU, S.; ZHOU, L. J. Occurrence and risk assessment of acidic pharmaceuticals in the Yellow River, Hai River and Liao River of north China. *Science of the Total Environment*, v. 408, n. 16, p. 3139-3147, 2010.

WANG, S.; ZHU, Z.; HE, J.; YUE, X.; PAN, J.; WANG, Z. Steroidal and phenolic endocrine disrupting chemicals (EDCs) in surface water of Bahe River, China: distribution, bioaccumulation, risk assessment and estrogenic effect on *Hemiculter leucisculus*. *Environmental Pollution*, v. 243, p. 103-114, 2018.

WANG, Y.; CHEN, C.; QIAN, Y.; ZHAO, X.; WANG, Q. Ternary toxicological interactions of insecticides, herbicides, and a heavy metal on the earthworm *Eisenia fetida*. *Journal of hazardous materials*, v. 284, p. 233-240, 2015.

WATANABE, H.; TAMURA, I.; ABE, R.; TAKANOBU, H.; NAKAMURA, A.; SUZUKI, T.; ... & TATARAZAKO, N. Chronic toxicity of an environmentally relevant mixture of pharmaceuticals to three aquatic organisms (alga, daphnid, and fish). *Environmental toxicology and chemistry*, v. 35, n. (4), p. 996-1006, 2016.

WEN, Z. H.; CHEN, L.; MENG, X. Z.; DUAN, Y. P.; ZHANG, Z. S.; ZENG, E. Y. Occurrence and human health risk of wastewater-derived pharmaceuticals in a drinking water source for Shanghai, East China. *Science of the Total Environment*, v. 490, p. 987- 993, 2014.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Pharmaceuticals in Drinking Water**. Geneva, 2012. Relatório.

WIECZERZAK, M.; KUDŁAK, B.; YOTOVA, G.; NEDYALKOVA, M.; TSAKOVSKI, S.; SIMEONOV, V.; NAMIEŚNIK, J. Modeling of pharmaceuticals mixtures toxicity with deviation ratio and best-fit functions models. *Science of the Total Environment*, v. 571, p. 259-268, 2016.

YOUNG, D. J.; BANTLE, J. A.; HULL, M. A.; BURKS, S. L. Differences in sensitivity to developmental toxicants as seen in *Xenopus* and *Pimephales* embryos. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, v. 56, n. 1, p. 143-150, 1996.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. 2008. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. Ed. RiMa. 486p.

ZARRELLI, A. *et al.* Ecotoxicological Evaluation of Caffeine and Its Derivatives from a Simulated Chlorination Step. *Science of Total Environment*, v. 470, p. 453-458, 2014.

ZENKER, A.; CICERO, M. R.; PRESTINACI, F.; BOTTONI, P.; CARERE, M. Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. *Journal of environmental management*, v. 133, p. 378-387, 2014.

ZHANG, X.; ZHAO, H.; DU, J.; QU, Y.; SHEN, C.; TAN, F.; QUAN, X. Occurrence, removal, and risk assessment of antibiotics in 12 wastewater treatment plants from Dalian, China. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, n. 19, p. 16478-16487, 2017.

ZHU, B.; LIU, L.; GONG, Y. X.; LING, F.; WANG, G. X. Triazole-induced toxicity in developing rare minnow (*Gobiocypris rarus*) embryos. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 21, n. 23, p. 13625-13635, 2014.