

Logística operacional para avaliação ecotoxicológica dos medicamentos mais utilizados por parte da população de Santos/SP.

Giovanna Christina Costa da Silva Mazzeo¹, Camila Ramos Lopes Nunes¹, Wesley de Almeida Mazur¹, Walter Barrella¹, Fernando Sanzi Cortez², Fábio Hermes Pusceddu², Camilo Dias Seabra Pereira^{1,2}, Luciana Lopes Guimarães^{1,3}, Walber Toma^{1,3}

¹*Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade de Ecossistemas Costeiros e Marinheiros – Universidade Santa Cecília (UNISANTA)*

²*Laboratório de Ecotoxicologia – Universidade Santa Cecília (UNISANTA)*

³*Faculdade de Educação e Farmácia – Universidade Santa Cecília (UNISANTA)*

Resumo

Os estudos ecotoxicológicos são de grande importância na determinação dos efeitos adversos provocados às comunidades aquáticas, causados pela emissão de substâncias tóxicas ao meio ambiente. Ainda no sentido de garantir um nível elevado de proteção a saúde humana e ao meio ambiente, a União Européia colocou em prática o sistema REACH (Registro, Avaliação, Autorização e Restrição de Substâncias Químicas). Esta política tem como objetivo gerar um melhor conhecimento das substâncias químicas comercializadas, uma vez que exige uma série de análises físicas, químicas e biológicas para liberação dos produtos, assim como a tomada das medidas necessárias para gerir todos os riscos que forem identificados. Este sistema abre caminho para uma maior competitividade e inovação das indústrias de produtos químicos, sintetizando compostos cada vez mais eficientes e menos tóxicos ao meio ambiente e à saúde humana, tanto para países da União Européia, como outros não integrantes que pretendam exportar ou importar produtos químicos. No âmbito dessa política, está inserida a diretiva 93/67/ECC que classifica as substâncias de acordo com os resultados pontuais de toxicidade (CE50, CI50). A partir disso, foi proposto um roteiro de disciplina de campo para alunos de graduação do curso de farmácia, a fim de verificar os possíveis danos ambientais causados a partir da liberação de medicamentos excretados no estuário de Santos, utilizando a diretiva 93/67/ECC para classificação dos compostos mediante ensaios ecotoxicológicos agudos realizados em laboratório.

Palavras-chave: Avaliação ecotoxicológica; Ecologia; Ecologia humana; Etnoecologia; Etnofarmacologia

Operational logistics for ecotoxicological assessment of the drugs most used by the population of Santos/SP.

Abstract

Ecotoxicological studies are of great importance in determining the adverse effects caused to aquatic communities, caused by the emission of toxic substances in the environment. With the purpose to ensure a high level of protection to human health and the environment, the European Union has put in place the REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals). This policy aims to generate a

better understanding of marketed chemical substances , since it requires a number of physical, chemical and biological analysis for the release of products , as well as taking the necessary measures to manage any risks that are identified. This system opens the way to greater innovation and competitiveness of the chemicals industry, synthesizing more efficient and less toxic compounds to the environment and human health, both for European Union countries, as well for non- members wishing to export or import products chemicals. Under this policy, the policy 93/67/ECC that classifies substances according to the specific results of toxicity (EC50, IC50) is inserted. From this, we propose a script discipline of field research for undergraduate students of pharmacy course in order to verify the possible environmental damage from the release of excreted drugs in Santos estuary, using 93/67/ECC policy to classify compounds by acute ecotoxicological tests performed in the laboratory.

Keywords: Ecotoxicological assessment; ecology; Human ecology; ethnoecology; Ethnopharmacology

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da indústria farmacêutica, que hoje disponibiliza para o mercado milhões de substâncias com propósito terapêutico, acarretou colateralmente um grave problema ambiental, o qual vem crescendo em atenção e preocupação nas agências controladoras do ambiente em várias nações (Garric et al., 2003). O aporte de substâncias farmacologicamente ativas no ambiente advém do uso intenso e extensivo no tratamento de doenças em seres humanos e animais sendo excretadas na forma metabólitos ou não e introduzidas, principalmente, a partir do lançamento via efluentes municipais e industriais nos corpos hídricos receptores das águas servidas (Champan, 2006; Petrovic et al., 2005; Calamari et al., 2003).

O monitoramento de substâncias farmacêuticas residuais em matrizes ambientais tem sido abordado em vários trabalhos de pesquisas desde o final da década de 90, tornando-se um tema bastante discutido devido ao fato de muitas dessas substâncias serem frequentemente encontradas em estações de tratamento de esgoto (ETE's) e abastecimento de água (ETA's), bem como em outras matrizes ambientais tais como solo, sedimento e águas naturais em concentrações na faixa de $\mu\text{g/L}^{-1}$ e ng/L^{-1} . A grande preocupação da presença destes fármacos residuais na água são os potenciais efeitos adversos para a saúde humana, animal e de organismos aquáticos (Ponezi et al., 2006; Bila et al., 1990).

Segundo Beausse, 1994, a ecotoxicologia vem estudando o comportamento e as transformações de agentes químicos no ambiente, assim como seus efeitos sobre os organismos vivos. Sendo assim para identificar os efeitos dessas substâncias sobre a biota aquática, tem se utilizado nessas últimas décadas, testes de toxicidade aguda e crônica com organismos de águas continentais, estuarinas e marinhas, em condições laboratoriais e/ou de campo. Tais testes têm permitido estabelecer limites permissíveis

para várias substâncias químicas e, ainda se avaliar o possível impacto de misturas de poluentes sobre os organismos aquáticos dos corpos receptores. As principais aplicações para os testes de toxicidade são as avaliações dos riscos potenciais de substâncias químicas ao meio ambiente, o monitoramento da qualidade das águas superficiais e subterrâneas, a fiscalização de efluentes, a identificação de fontes poluidoras e a investigação de sinergismos e antagonismos de substâncias.

Tendo em vista as preocupações no que tange às questões ambientais quanto ao uso de compostos com propriedades terapêuticas pode-se supor que os resultados mediante avaliação ecotoxicológica desses medicamentos poderão servir como base para futuros estudos com o intuito de propor métodos para reduzir tais danos ambientais possivelmente observados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Procedimento

1º dia: Após aprovação do comitê de ética, primeiramente serão passadas em sala de aula as informações necessárias para a realização do trabalho. Partindo do objetivo e descrição da área de estudo, assim como a importância do trabalho, análise das fichas de campo e identificação das questões fundamentais a serem respondidas sobre os assuntos abordados nos próximos dias.

Divisão de grupos: Em uma classe com 40 alunos, a divisão será de 8 alunos por grupo, totalizando 5 grupos.

Na segunda parte do dia, após o almoço, os alunos irão ao campo para a realização do trabalho. Serão selecionadas algumas farmácias e drogarias de maior rotatividade da região para realização das entrevistas. (Questionário - tabela 1). Cada aluno deverá realizar uma entrevista individualmente com os clientes das farmácias e drogarias previamente determinadas dentro de determinado período de tempo. Após o fechamento de todas as fichas de campo, cada aluno deverá se reunir com seu grupo para discutir quais os medicamentos mais citados e dentre a relação desses medicamentos listados como os mais utilizados pelos entrevistados, cada grupo deverá escolher um medicamento dessa relação para a realização dos ensaios. Após essa definição, os alunos estarão dispensados.

Nome:	Idade:
1) Você utiliza medicamentos de uso contínuo? Quais?	
2) Sabe qual a finalidade dos medicamentos que utiliza?	
3) O que veio comprar aqui hoje?	

Tabela 1: Questionário de avaliação.

2º dia: Cada grupo deverá comparecer no horário marcado no laboratório de ecotoxicologia da UNISANTA, com seus respectivos medicamentos de escolha. A prática se inicia com a diluição dos medicamentos, cada grupo realizará o seu separadamente. Deve ser pesado 10mg de cada medicamento e diluído na água

reconstituída em laboratório do organismo teste utilizado do ensaio, no caso a *Daphnia similis* ABNT NBR 12713.

Após realização das diluições iniciais, será previamente determinada uma variação de concentrações do composto testado com 4 réplicas por concentração, e posteriormente a inserção dos organismos teste em contato com o composto. Desse modo, serão coletadas as neonatas de *Daphnia similis* e adicionadas nos tubos de ensaio em contato com o composto. Serão adicionados 5 organismos por réplica, totalizando 20 organismos por concentração.

Os organismos deverão ficar em contato com o composto por um período de 48h para ensaio agudo, com temperatura controlada (+/- 20°C) e fotoperíodo de 16h luz/8h escuro.

3º dia: O terceiro dia será livre para dar início ao relatório que deverá ser entregue ao final da disciplina, enquanto os alunos aguardam o período necessário de exposição da *Daphnia* ao composto.

4º dia: Obtenção dos resultados laboratoriais por meio da observação de efeito causado nos organismos (morte ou paralisação) em cada réplica. A partir da contagem de organismos afetados, é calculada a Concentração média de efeito (CE50) a partir de um programa estatístico (Método *trimmed* Spearman-Kärber) e posteriormente enquadrada na classificação de substância tóxica da diretiva 93/67/EEC da União Européia (Tabela 2), a qual classifica uma substância como: Não tóxico; Nocivo; Tóxico; Muito tóxico e Extremamente tóxico a partir dos resultados da CE50 de cada medicamento analisado.

Nãotóxico	Nocivo	Tóxico	Muito tóxico	Extremamentetóxico
CE50 > 100	CE50 entre 10 e 100	CE50 entre 1,0 e 10	CE50 entre 0,1 e 1,0	CE50 < 0,1
mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹

Tabela 2: Classificação de substância tóxica da diretiva 93/67/EEC da União Européia.

5º dia: Prazo final para envio dos relatórios por e-mail.

DIA/HORÁRIO	ATIVIDADES	GASTOS (R\$)
1º DIA 9:30 HRS	<p>Primeira parte: Aula em sala na universidade</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Descrição e entendimento das áreas de estudo de campo nos próximos dias. 2. Análise das de fichas de campo. 3. Identificação das questões fundamentais a serem respondidas sobre cada um dos assuntos abordados nos próximos dias/divisão dos grupos para trabalho. <p style="text-align: center;">ALMOÇO</p> <p>Segunda parte: Farmácias e drogarias selecionadas da região</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Trabalho de campo - Entrevistas 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Deslocamento da Universidade às farmácias de ônibus locado (R\$20,00/pessoa). 2. Almoço por conta do aluno próximo a universidade. 3. Aquisição do medicamento de escolha para análise.
2º DIA 8:00 HRS	<ol style="list-style-type: none"> 1. Trabalho de campo – Laboratório de ecotoxicologia da UNISANTA (Parte I: Diluição dos medicamentos) <p style="text-align: center;">ALMOÇO</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. Trabalho de campo – Laboratório de ecotoxicologia da UNISANTA (Parte II: Ensaio agudo com <i>Daphnia similis</i>) 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Almoço por conta do aluno próximo a universidade.
3º DIA	Livre para dar início ao relatório final da disciplina.	-----
4º DIA 09:00 HRS	<ol style="list-style-type: none"> 1. Trabalho de campo – Laboratório de ecotoxicologia da UNISANTA (Parte I: Observação e discussão dos resultados). 2. Finalização de Trabalho de campo. 	-----
5º DIA	<ol style="list-style-type: none"> 1. Prazo final para entrega dos relatórios. 	-----

Tabela 3: Roteiro da disciplina de campo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resultados esperados

Os resultados esperados dos ensaios ecotoxicológicos devem variar de acordo com a CE50 obtida de cada medicamento. Quanto aos resultados esperados em relação às expectativas dos alunos, é de 100% de aproveitamento teórico-prático, onde eles poderão ter contato com a população e o meio em que irão atuar como farmacêuticos e também terão a oportunidade de ampliar suas visões e perspectivas relacionadas às questões ambientais, podendo utilizar aos máximos os conhecimentos adquiridos na

disciplina para auxiliar futuramente na criação e colaboração de métodos eficazes de preservação ambiental, desenvolvimento sustentável e comprometimento com a saúde da população, visando sempre à ecologia como foco principal.

Segundo, Carvalho et al., 2009, os agentes terapêuticos são de grande importância para a população, porém, geram um passivo ambiental significativo, devido a descartes indevidos e também após sua excreção. Por isso, é fundamental que alunos da graduação estejam cientes desta problemática ambiental e saibam como identificar as fontes do problema, criando possibilidades para futuras pesquisas, envolvendo soluções para o problema. Além disso, para que o aluno também se sensibilize e se envolva com essa questão ambiental, ele precisa passar por experiências que o coloquem em contato direto com o ambiente, relacionando o bem estar do homem com os contextos sociais, culturais e econômicos (Pereira, 1993). Durante a pesquisa de campo proposta no presente trabalho, os alunos terão a oportunidade de observar a inserção do ser humano dentro dos contextos citados acima.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos orientadores que colaboraram na elaboração desse roteiro, também ao laboratório de ecotoxicologia da Unisanta por dispor do espaço e material para a futura concretização dos ensaios e principalmente a CAPES pela oportunidade fornecida para a realização do curso e estruturação de inúmeros projetos como esse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) NBR 12713 (2004). Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda. Método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustácea – Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT. 21 p.

BEAUSSE, J. **Pharmaceuticals** - horizontal – 26 July 2004.

CARVALHO, E.V./Revista Brasileira de Toxicologia 22, n.1-2 (2009)

CEC (Commission of the European Communities). Technical guidance document in support of commission directive 93/67/ EEC on risk assessment for new notified substances. Part II, environmental risk assessment. Luxembourg: Office for official publication of the European Communities; 1996

CHAPMAN, P.M.. Emergin substances – Emergin Problems. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n.6, p. 1445-1447, 2006

FENT K, WESTON AA, Caminada D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat Toxicol* 76: 122–159.

GARRIC, J.; Tilghman, A.; Cogoluégnès, A. In: European Conference on Human & Veterinary Pharmaceuticals in the Environment (Envirpharma), 2003, Lyon. **Final Report: Summary of the Scientific.** Lyon [s/n], 2003.

PEREIRA, A. B.; Aprendendo Ecologia Através da Educação Ambiental, ed. Sagra-DC Luzzatto: Porto Alegre, 1993.

PONEZI, A.N.; Duarte, M.C.T.; Claudino, M.C. **Fármacos em Matrizes Ambientais - Resumos – CPQBAUNICAMP – 2006.** Resumos – CPQBAUNICAMP – 2006.