

## EFEITOS TOXICOLÓGICOS DO CETOCONAZOL SOBRE ORGANISMOS AQUÁTICOS

Caio César Achilles do Prado<sup>1</sup>

Lucas Gonçalves Queiroz<sup>2</sup>

Teresa Cristina Brazil de Paiva<sup>3</sup>

### Grupo 1 – Tecnologia ambiental (Química Ambiental)

#### Resumo

As características toxicológicas de compostos micropoluentes, como os fármacos, apresentam estudos evidenciando sua ação direta sobre atividades endócrinas e toxicológicas, como observado em compostos imidazólicos, como o cetoconazol (CTZ), antifúngico de amplo espectro. A toxicologia dos fármacos apresenta variedade de danos sobre organismos vivos, tais como mutagênica, carcinogênica, citotóxica, histopatológica, entre outros, sobre organismos vivos não-alvo. Com a crescente demanda da poluição ambiental, os estudos foram intensificados para o desenvolvimento de técnicas de monitoramento e análises ambientais. Dessa forma, visando determinar os efeitos do CTZ comercial sobre organismos aquáticos, foi utilizado larvas do inseto *Chironomus sancticaroli* como organismo modelo, focando na premissa do potencial toxicológico sobre sedimentos em ecossistemas aquáticos. Foi realizado através de análises ecotoxicológicas o estudo do CTZ sobre organismos bentônicos sedimentares. Por meio de testes agudos e crônicos foi possível a identificação da toxicologia do CTZ a partir de 2,43 µg.L<sup>-1</sup>, apresentando uma CL<sub>50</sub> de 9,95 µg.L<sup>-1</sup>. Demonstrando causar deformidade na morfologia de organismos submetidos por longa exposição ao CTZ (10 dias). Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi estudar e identificar a capacidade toxicológica do CTZ comercial sobre organismo não-alvo aquáticos.

Palavra-chave: micropoluentes; fármacos; ecotoxicologia; *Chironomus* sp.

## INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas foi evidente que o grupo dos produtos farmacêuticos passaram a

<sup>1</sup> Aluno doutorando em Biotecnologia Industrial, Escola de Engenharia de Lorena – (EEL/USP), Departamento de Biotecnologia (Debiq), [caioachiles@usp.br](mailto:caioachiles@usp.br)

<sup>2</sup> Dr. Escola de Engenharia de Lorena – (EEL/USP), Departamento de Biotecnologia (Debiq), [lucasgoncalvesqueiroz@gmail.com](mailto:lucasgoncalvesqueiroz@gmail.com)

<sup>3</sup> Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Escola de Engenharia de Lorena – (EEL/USP), Departamento de Ciências Básicas e Ambientais (Debas), [teresapaiva@usp.br](mailto:teresapaiva@usp.br)

demonstrar maior presença em ambientes aquáticos próximos de regiões urbanizadas (CHINNAIYAN et al., 2018). Estes compostos demonstram capacidade de promover modificações fisiológicas sobre organismos não-alvo (LU et al., 2018).

Estudos analisando o impacto do cetoconazol (CTZ), um fármaco antifúngico da família imidazólica (YAN et al., 2013a) em meio ambiente, já foram observados e relatados por causarem danos a organismos vivos, tais como hepatotoxicidade (YAN et al., 2013a), descontroles endócrinos (DEs) (YAN et al., 2013b), bioacumulação (LIU et al., 2015) entre outros danos.

A utilização de organismos aquáticos em análises ecotoxicológicas vêm apresentando efetivos resultados para avaliação da qualidade e monitoramento ambiental de áreas estudadas, possivelmente impactadas (ADETORO; IKUABE; LAWAL, 2018). O uso de organismos aquáticos apresentam importantes biomarcadores biológicos em pesquisas de monitoramento ambiental de corpos hídricos (ADETORO; IKUABE; LAWAL, 2018). Como é o caso de insetos da espécie *Chironomus sancticaroli* que apresentam um desenvolvimento larval que ocorre em meio aos sedimentos de ecossistemas dulcícolas (MARIGO et al., 2019).

Os *Chironomus sancticaroli* são representantes frequentemente em estudos de impactos ambientais e qualidade de corpos aquáticos ao redor do mundo (AL-SHAMI et al., 2011). Assim, objetivou-se com esse trabalho analisar o impacto do fármaco CTZ comercial sobre organismos aquáticos não alvos, através de análises de toxicidade e morfologia.

## METODOLOGIA

Os procedimentos de cultivo e teste agudo foram realizados seguindo a metodologia descritas por Fonseca e Rocha (2004). Ao final do teste, o efeito agudo foi avaliado através da mortalidade dos organismos.

Os testes crônicos foram realizados expondo-se os organismos do 1º ínstar em três grupos de tratamento o A ( $0,60 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), B ( $1,21 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e C ( $2,43 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) do CTZ, valores já obtidos através do resultado de teste agudo, pelo período de 10 dias Assim foram preparados 8 recipientes para os testes, procedimento foi realizado seguindo o modelo descrito por Vermeulen et al. (2000). Foi avaliada após 10 dias a taxa de mortalidade e realizada as

lâminas semi-permanetes para análise de deformidades no mento da cápsula cefálica. A avaliação de deformidade repetiu os critérios de adição, ausência ou fendas nos dentes dos organismos, em comparação ao teste controle (CORBI et al., 2019).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do teste de sensibilidade aguda, foi possível observar a toxicidade do CTZ em doses acima de  $2,43 \mu\text{g.L}^{-1}$ , demonstrando  $CL_{50}$  de  $9,95 \pm 0,52 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

Após 10 dias de teste, foi realizada a contabilização da mortalidade dos testes. Foi observada a mortalidade de 5 organismos (6,25%) do controle, 8 organismos (16,8%) no grupo de tratamento A e B, e 26 organismos (32,5%) no grupo C (Tabela 1). Não foram identificadas diferença quanto ao crescimento dos organismos e nem a massa corporal quando comparado ao controle pelo teste de Dunnet ( $p < 0,05$ ). Através de lâminas semipermanentes foi analisada a deformidade ocorrente na capsula cefálica dos organismos, mais especificamente no mento, na qual apresentou 100% de deformidade tipo fenda (de maior e menor intensidade) e deformidade tipo ausência apenas no grupo C em 25% dos organismos (Figura 1).

Tabela 1. Análises somáticas do *C. sancticaroli* após exposição crônica ao CTZ

Concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Tamanho (mm)	Peso (mg)
2,43	$5,2 \pm 0,9$ a	$0,145 \pm 0,036$ a
1,21	$4,6 \pm 0,8$ a	$0,133 \pm 0,010$ a
0,60	$5,6 \pm 1,2$ a	$0,147 \pm 0,008$ a
Controle	$5,1 \pm 0,5$ a	$0,237 \pm 0,022$ a

Estatística analisada por teste de Fisher apresentada com média  $\pm$  desvio padrão  $p < 0,05$ . As letras representam médias dos tratamentos, letras iguais apresentam médias iguais, enquanto diferentes diferem-se entre elas.

No trabalho de Kuhlmann et al. (2019) foi analisado a toxicologia do fungicida imazalil (composto imidazólico) em *Chironomus riparus*, no qual apresentou uma  $CL_{50}$  de  $1,95 \text{ mg.L}^{-1}$  do composto teste, mostrando se tratar de um organismo de menor sensibilidade que o *C. sancticaroli*, que apresentou  $CL_{50}$   $9,95 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

No trabalho de Al-Shami et al. (2011) foram analisados indicativos de toxicidade através dos danos e deformidades ocorrentes por organismos do gênero *Chironomus* spp. Os danos apresentados pelos autores foram também observados no presente trabalho, no qual em

todos os grupos de teste (A, B e C) mostraram-se de classe III (presença de ao menos dois danos classe II presentes) representando graves danos toxicológicos.

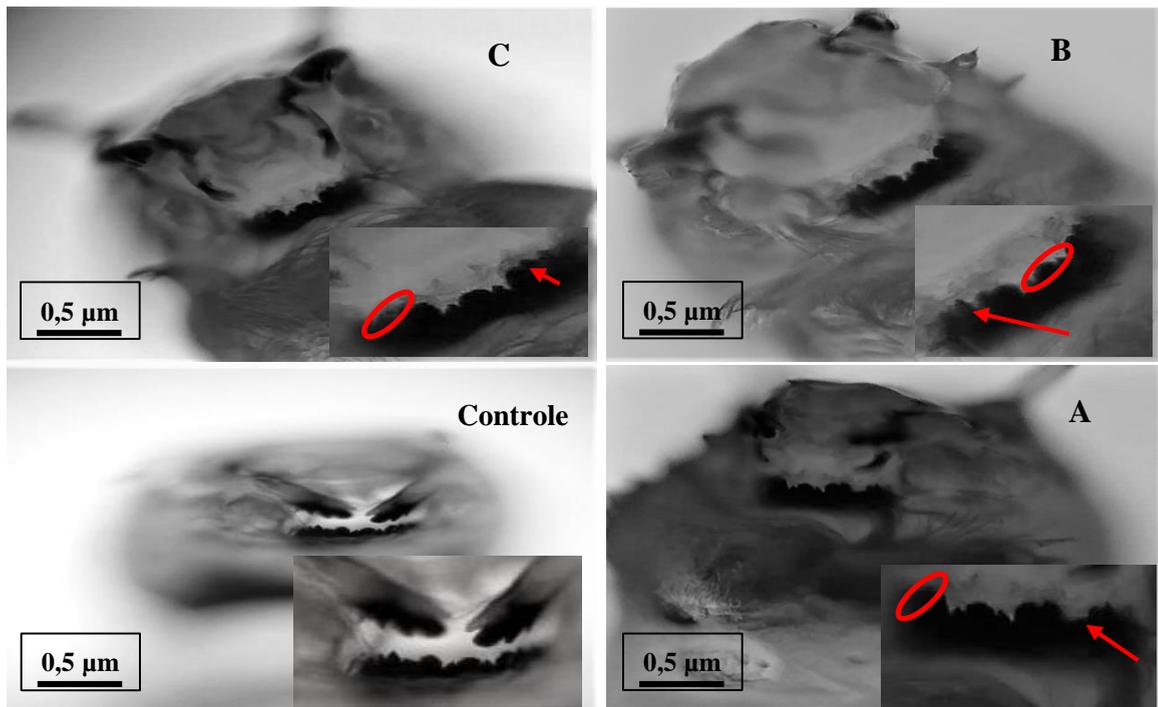


Figura 2. Análise da deformidade no mento após exposição do teste crônico em *C. sancticaroli*. A)  $0,60 \mu\text{g.L}^{-1}$ , B)  $1,21 \mu\text{g.L}^{-1}$  e C)  $2,43 \mu\text{g.L}^{-1}$ . As setas indicam deformidades de gap, formadas pela falta de formação de dente. Os círculos indicam deformidade na arcada dentária, na qual representa danos leves e graves na evidenciação de dentes aumentado 100x.

## CONCLUSÕES

Foi possível observar, mesmo sob baixas dosagens, o potencial toxicológico do CTZ, nos organismos *C. sancticaroli*. Os danos foram principalmente observados quando testados em análises crônicas, evidenciando como um potencial agente cumulativo sob organismos aquáticos não-alvos. Assim, a presença do CTZ testado apresentou toxicidade a nível somático, evidenciando os danos pela deformidade do mento. Demonstrando dessa forma como o efeito antrópico pode agir no meio ambiente e demonstrando a necessidade do uso da ecotoxicologia para se analisar impactos ambientais.

## REFERÊNCIAS

- ADETORO, F. A.; IKUABE, B. O.; LAWAL, R. A. Toxicological Response of *Poecilia reticulata*, *Hyla* species and *Culex* species to Leachates from Olusosun Landfill, Lagos State, Nigeria. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 22, n. 5, p. 817, 2018.
- AL-SHAMI, S. A. et al. Evaluation of mentum deformities of *Chironomus* spp. (Chironomidae: Diptera) larvae using modified toxic score index (MTSI) to assess the environmental stress in Juru River Basin, Penang, Malaysia. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 177, n. 1–4, p. 233–244, 2011.
- CHINNAIYAN, P. et al. Pharmaceutical products as emerging contaminant in water: relevance for developing nations and identification of critical compounds for Indian environment. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 5, 2018.
- CORBI, J. J. et al. *Chironomus sancticaroli* (Diptera, Chironomidae) as a Sensitive Test Species: Can We Rely on Its Use After Repeated Generations, Under Laboratory Conditions? **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 103, n. 2, p. 213–217, 2019.
- FONSECA, A. L.; ROCHA, O. Laboratory cultures of the native species *Chironomus xanthus* Rempel, 1939 (Diptera-Chironomidae). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 16, n. 2, p. 153–161, 2004.
- KUHLMANN, J. et al. Enantioselective mixture toxicity of the azole fungicide imazalil with the insecticide A-cypermethrin in *Chironomus riparius*: Investigating the importance of toxicokinetics and enzyme interactions. **Chemosphere**, v. 225, p. 166–173, 2019.
- LIU, J. et al. Occurrence, bioaccumulation and risk assessment of lipophilic pharmaceutically active compounds in the downstream rivers of sewage treatment plants. **Science of the Total Environment**, v. 511, p. 54–62, 2015.
- LU, G. et al. Bioaccumulation and biomagnification of 2-ethylhexyl-4-dimethylaminobenzoate in aquatic animals. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 11, 2018.
- PUCKOWSKI, A. et al. Bioaccumulation and analytics of pharmaceutical residues in the environment: A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 127, p. 232–255, 2016.
- VAN DE STEENE, J. C.; STOVE, C. P.; LAMBERT, W. E. A field study on 8 pharmaceuticals and 1 pesticide in Belgium: Removal rates in waste water treatment plants and occurrence in surface water. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 16, p. 3448–3453, 2010.
- VERMEULEN, A. C. et al. Exposure of *Chironomus riparius* larvae (diptera) to lead, mercury and  $\beta$ -sitosterol: Effects on mouthpart deformation and moulting. **Chemosphere**, v. 41, n. 10, p. 1581–1591, 2000.
- YAN, J. Y. et al. Ketoconazole associated hepatotoxicity: A systematic review and meta-analysis. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 26, n. 7, p. 605–610, 2013a.
- YAN, Z. et al. Interaction of  $17\beta$ -estradiol and ketoconazole on endocrine function in goldfish (*Carassius auratus*). **Aquatic Toxicology**, v. 132–133, p. 19–25, 2013b.
- YAO, L. et al. Personal care products in wild fish in two main Chinese rivers: Bioaccumulation potential and human health risks. **Science of the Total Environment**, v. 621, p. 1093–1102, 2018.