

## Como citar esse artigo:

Oliveira EM, Bernardes MFF. AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EMBRIO-LARVAL DO FÁRMACO VETERINÁRIO CEFTRIAXONA NO PEIXE DANIO RERIO (ZEBRAFISH). Anais do 24º Simpósio de TCC do Centro Universitário ICESP. 2022(24); 859-866.

**Elias Marques de Oliveira**  
**Mariana Furio Franco Bernardes**

**Resumo**

**Introdução:** O termo “contaminantes de preocupação emergente” tem sido usado pela Environmental Protection Agency (EPA) para identificar produtos químicos e outras substâncias que ainda não têm padrão regulatório. Dentre as classes de contaminantes de preocupação emergente, incluem-se os produtos farmacêuticos para uso veterinário, como o antibiótico Ceftriaxona. Para avaliar os efeitos de substâncias presentes no ambiente aquático em organismos não alvo, pode-se utilizar como bioindicador o peixe Danio rerio (zebrafish). O objetivo do presente projeto foi avaliar os efeitos da Ceftriaxona no desenvolvimento de embriões e larvas de zebrafish. Foi realizado o método FET (Fish Embryotoxicity Test), de acordo com o protocolo da OECD n. 236. Ovos de zebrafish recém fertilizados foram expostos ao antibiótico nas concentrações de 0,05 mg/L, 0,5 mg/L, 5 mg/L, 50 mg/L e 100 mg/L, e aos controles positivo e negativo por um período de 96 horas. Os resultados mostraram que as concentrações testadas de Ceftriaxona não provocaram efeitos letais e subletais nos embriões e larvas de zebrafish. Ainda assim, os cuidados com o uso e descarte desse antibiótico não podem ser negligenciados, pois já foi mostrado efeitos tóxicos em outros bioindicadores, é largamente utilizado, e já foi encontrado no ambiente.

**Palavras-Chave:** 1. Contaminantes; 2. Cefalosporinas; 3. Danio rerio; 4. Ambiente.

**Abstract**

**Introduction:** The term “contaminants of emerging concern” has been used by the Environmental Protection Agency (EPA) to identify chemicals and other substances that do not have already a regulatory standard. Among the classes of contaminants of emerging concern, we have pharmaceutical products for veterinary use, such as the antibiotic Ceftriaxone. To assess the effects of substances on non-target organisms in the aquatic environment, zebrafish (Danio rerio) can be used as a bioindicator. The aim of this project was to evaluate the effects of ceftriaxone on the development of embryos and larvae of zebrafish. The Fish Embryotoxicity Test (FET) was performed according to OECD protocol n. 236. Freshly fertilized Zebrafish eggs were exposed to antibiotic (0.05 mg/L, 0.5 mg/L, 5.0 mg/L, 50 mg/L and 100 mg/L) plus positive and negative controls for a period of 96 hours. The results showed that the tested concentrations of Ceftriaxone did not cause lethal and sublethal effects on zebrafish embryos and larvae. Even so, conscious use and adequate disposal after use of this antibiotic cannot be neglected, as it has already shown toxic effects in other organisms. Since widely used, it has already been found in the environment.

**Keywords:** 1. Contaminants; 2. Cephalosporins; 3. Danio rerio; 4. Environment.

**Contato:** mariana.bernardes@icesp.edu.br; elias.oliveira@suouicesp.com.br

**Introdução**

Os ecossistemas aquáticos perenemente estão passando por intensas mudanças devido a perturbações ambientais provocadas por atividades do ser humano como os resíduos de mineradoras, construção de barragens, mudanças nos cursos de rios, lançamentos de resíduos domésticos e industriais não tratados, e desmatamentos. Diversas bacias hidrográficas brasileiras, como a bacia do Rio doce, Rio São Francisco e Rio Amazonas sofreram grandes impactos antropogênicos (CALISTO et al., 2002; GOULART e CALLISTO, 2003). Essas alterações podem gerar uma diminuição perceptível na biodiversidade de populações como também alterações em seus ciclos biológicos (CALISTO e ESTEVES, 1996).

Para CHIVIAN e BERNSTAIN (2008) existem alguns grandes impactos negativos da ação do homem no meio ambiente:

- (1) Perda e alteração de habitats e da biodiversidade;
- (2) Exploração predatória de recursos;
- (3) Introdução de espécies exóticas nos ecossistemas. Acrescem atualmente mais três grandes impactos negativos:

- (4) Aumento de patógenos;
- (5) Aumento de compostos tóxicos no ambiente;
- (6) Mudanças Climáticas.

Em relação ao aumento dos compostos químicos tóxicos no ambiente, substâncias que geram preocupação podem ser denominadas “contaminantes de preocupação emergente”, que são compreendidas por praguicidas, retardantes de chama, corantes sintéticos e produtos de origem farmacêutica de uso humano e veterinário (YAN et al., 2010).

Fármacos são substâncias muito permanentes e muito pouco biodegradáveis. Após sua utilização, parte significativa do fármaco original e seus resíduos metabólicos são excretados tanto pela urina e fezes humanas quanto de animais, chegando nos esgotos sanitários e efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs), por meio de esgotos domésticos, mas principalmente hospitalares. Podem ser encontrados nos sistemas naturais de água devido ao descarte das indústrias farmacêuticas e seu uso para tratamentos em humanos e animais (ZAPPAROLI et al 2011).

Uma das classes de contaminantes que a cada dia tem gerado mais preocupação dos pesquisadores e governos, são os antibióticos. O

descarte antropogênico de antibióticos humanos e veterinários tem se tornado um sério problema ambiental.

Muitos dos antibióticos aplicados nos animais não são totalmente metabolizados (REGITANO e LEAL, 2010). A contaminação no ambiente por antibióticos veterinários pode ocorrer diretamente quando excretados pelos animais no pastejo sendo escoados para corpos hídricos, ou indiretamente quando utilizado o esterco para adubação (BLACKWELL et al., 2007). Outro aspecto bastante importante e discutido é o possível desenvolvimento de estirpes de bactérias resistentes a antibióticos, provocada pela constante presença de baixas concentrações do agente antibiótico no ambiente. Quantidades de resíduos no ambiente podem favorecer o compartilhamento de plasmídeos extra-cromossômicos com os microrganismos não resistentes (REGITANO e LEAL, 2010).

Os antibióticos da classe das cefalosporinas são comumente administrados em animais acometidos por diversas infecções. Inicialmente as cefalosporinas foram isoladas de culturas do fungo *Cephalosporium acremonium* na ilha de Sardenha na Itália no ano de 1945, pelo professor da Universidade de Cagliari, Giuseppe Brotzu. Após três anos pesquisadores da Universidade de Oxford isolaram alguns outros antibióticos produzidos por este fungo (AZEVEDO, 2014).

As cefalosporinas possuem caracterização segundo sua geração, que está relacionada a sua atividade microbiana (SPINOSA et al., 2006). A Ceftriaxona se insere na classe de cefalosporinas de terceira geração e expressa um espectro contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Seu mecanismo de ação biológica está incluso a classe de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, impedindo a síntese da parede celular bacteriana (SILVA et al., 2014). Possui algumas capacidades como a passagem pelo líquido cefalorraquidiano, boa eficácia contra meningite em crianças e capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica em cães saudáveis como também acometidos por meningite (RINGGER et al., 1996).

Amostras de água coletadas do Rio Bélico situado em Cuba detectaram a Ceftriaxona na concentração de 6,7206  $\mu\text{g/L}$  (MARTÍNEZ et al., 2016). Em águas residuais oriundas de um hospital em Buenos Aires foi isolado Ceftriaxona na concentração de 3,339 mg/L. Em estações de tratamento de esgoto localizadas em Berazategu (Buenos Aires), a concentração encontrada foi de 0,0184 ng/L (MAGDALENO et al., 2014).

A presença de Ceftriaxona no meio aquático apresenta um importante risco a biologia aquática. Dias et al (2015) observaram que concentrações de 0,2 mg/L, 0,4 mg/L e 1,6 mg/L inibiram o crescimento de *Microcystis aeruginosa*.

Dentro desse contexto se insere a

importância dos bioindicadores. O termo bioindicador pode-se constituir como espécies sentinelas que podem ser empregadas como principais indicadores dos resultados da contaminação no seu habitat (ADAMS, 2002 apud LINS, 2010). Em relação ao meio aquático, algas, peixes, bivalves, cladóceros e microorganismos podem ser usados para estudos de biomonitoramento (MAGALHÃES e FILHO, 2008).

Dentre diversos tipos de organismos utilizados como bioindicadores, destaca-se o peixe da espécie *Danio rerio* (zebrafish). O zebrafish é um peixe ornamental, de tamanho pequeno, vive naturalmente em rios do sul da Ásia (BARRIONUEVO et al., 2010), teve sua descrição inicialmente em 1822 realizada por Francis Hamilton e sua utilização como modelo de pesquisa foi proposta pelo biólogo molecular George Streisinger, tendo bastante uso nas pesquisas genéticas e embrionárias (FONSECA, 2018).

Essa espécie tem sido empregada em vários estudos há mais de trinta anos, por sua alta disponibilidade, baixo custo de manutenção e facilidade de cultivo em laboratórios (BARRIONUEVO et al., 2010). Algumas características desta espécie favorecem seu uso nas pesquisas como, sua fertilização e desenvolvimento excepcionalmente externo, elevado percentual de fecundidade e seu rápido desenvolvimento (eclosão ocorrendo até 72 horas pós-fertilização (FONSECA, 2018). É um modelo ideal para estudos de embriotoxicidade, pois tem o córion translúcido, o que facilita a visualização e identificação de todas as fases da embriogênese (KIMMEL et al., 1995).

Assim como ocorre a transferência placentária de agentes químicos em mamíferos, os peixes em seu estágio inicial de vida podem ser acometidos pela transferência de substâncias por via tecido materno, como também por absorção na água por meio do córion. Estas características presentes no Zebrafish tornam um modelo para estudos toxicológicos e para o biomonitoramento eco-ambiental de poluentes, pois possui bastante sensibilidade para detecção de ambientes contaminados (FONSECA, 2018).

O presente trabalho objetivou avaliar os efeitos da Ceftriaxona, fármaco de uso veterinário, no desenvolvimento de embriões e larvas de Zebrafish. Os objetivos específicos foram: avaliar letalidade da Ceftriaxona no desenvolvimento de embriões e larvas de Zebrafish por meio do teste de toxicidade aguda em embrião de peixe (FET); avaliar efeitos subletais Ceftriaxona no desenvolvimento de embriões e larvas de Zebrafish por meio do teste de toxicidade aguda em embrião de peixe (FET).

A hipótese é a de que determinadas concentrações de Ceftriaxona provocam efeitos toxicológicos em embriões de Zebrafish, tais

como: teratogenicidade, edema, ovos coagulados, dentre outros parâmetros que poderão ser observados.

## **Materiais e Métodos**

### ***Fármaco***

O fármaco utilizado foi a Ceftriaxona na forma comercial, sob nome TRIAXTON®.

### ***Teste de toxicidade aguda em embrião de peixe (FET)***

Os embriões de zebrafish foram fornecidos pelo biotério do laboratório de Genética Toxicológica do Departamento de Genética e Morfologia da Universidade de Brasília.

O cultivo e manutenção dos peixes ocorrem em biotério específico para zebrafish, com recirculação de água da marca ZebTech (Tecniplast, Itália). São mantidos em aquários com água filtrada por osmose reversa e filtros de carvão ativado. A temperatura constantemente a  $26,0 \pm 1$  C, amônia  $<0,01$  mg/L, condutividade a  $750 \pm 50$  mS/cm, pH a  $7,5 \pm 0,5$  e oxigênio dissolvido igual ou acima de 95% de saturação. Os peixes são mantidos em um ciclo de fotoperíodo de 12:12 h (claro: escuro).

Os peixes adultos não foram utilizados no experimento, apenas para a produção dos embriões. Os embriões de zebrafish, que foram utilizados no experimento, foram obtidos da fecundação externa no sistema de coleta de desovas Ispawn (Tecniplast, Itália). No dia anterior à reprodução, machos e fêmeas foram sequencialmente adicionados ao equipamento e mantidos separados por um divisor, em uma proporção de dois machos para uma fêmea. No início da manhã, o divisor foi removido para iniciar a desova e fecundação.

Os embriões foram coletados imediatamente após a fecundação natural, enxaguados em água e verificados a sua viabilidade sob um estereomicroscópio (Microscópio de Zoom Estereoscópico e Stemi 2000, Zeiss, Alemanha). Os ovos não fertilizados ( $<20\%$ ) e aqueles embriões com irregularidades de clivagem ou lesões foram descartados. Os embriões não utilizados para os experimentos foram mantidos no biotério para criação.

O teste de toxicidade de embriões de peixe foi realizado conforme as recomendações da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD), segundo o que preconiza o seu guia para testes de substâncias químicas (OECD n° 236).

Embriões de zebrafish foram expostos ao controle positivo, ao controle negativo, e às amostras de Ceftriaxona. O teste foi realizado com 72 embriões por exposição, divididos em 3 replicatas em microplacas de 24 poços (1 embrião por poço da placa). Um total de 20 poços foram preenchidos com 2 mL da amostra a ser exposta (controle ou amostra). Os 4 poços restantes de cada placa compreendem o controle interno da placa e foram preenchidos com 2 mL de água do próprio sistema dos peixes (conforme exigido pela diretriz da OECD). Cada poço recebeu um embrião.

O teste foi iniciado imediatamente após a fertilização e continuou por 96 horas em uma câmara climática (SL-24 Solab Científica, Brasil). Embriões e larvas foram observados diariamente sob um estereomicroscópio.

Parâmetros de desenvolvimento foram utilizados para avaliação dos embriões durante o período de teste usando uma ampliação de 70X para embriões e 40X para embriões eclodidos (larvas). Os parâmetros foram avaliados segundo o protocolo da OECD n° 236 (Organisation for Economic Co-operation and Development, 2013), sendo esses:

- Letalidade: ovo coagulado, cauda não desprendida, ausência de somitos e batimentos cardíacos.
- Subletalidade: desenvolvimento dos olhos, movimentos espontâneos, circulação sanguínea, pigmentação e inflação da bexiga natatória.
- Teratogenicidade: malformação na cabeça, otólitos, cauda ou coração, escoliose, raquitismo, deformidade no saco vitelínico e alterações no crescimento.

A distinção entre desenvolvimento embrionário normal e anormal foi seguido de acordo com a descrição da embriogênese de Danio rerio publicada por Kimmel et al. (1995). O controle negativo era composto apenas por água do sistema de cultivo dos peixes e o controle positivo se tratava da solução de 3,4 dicloroanilina, 4 mg/L em água do do cultivo.

### ***Análise estatística***

O teste ANOVA one-way foi usado para detectar as diferenças entre os grupos para conjuntos de dados normalmente distribuídos. Quando os dados não passaram no teste de normalidade de Kolmogorov Smirnov e no teste de homogeneidade de variância de Levene, foi utilizado o teste de Kruskal Wallis. Se resultados significativos foram encontrados, o teste de

Dunnett ou Dunn's (para testes paramétricos ou não paramétricos, respectivamente) foi usado para detectar diferenças significativas entre as concentrações testadas e o controle ( $p < 0,05$ ) usando o pacote estatístico Sigmaplot 12.5 (SYSTAT, nd). Projeto aprovado pelo Comitê de Ética do Uso Animal em Pesquisa da Universidade de Brasília, protocolo nº 022/2020

## Resultados

Nas análises de toxicidade em embriões de *Danio rerio* submetidos as concentrações de 0,05 mg/L, 0,5 mg/L, 5,0 mg/L, 50 mg/L e 100 mg/L de Ceftriaxona, não foram observados efeitos tóxicos (letalidade ou subletalidade).

O desenvolvimento dos embriões ocorreu de forma fisiológica em todas as concentrações testadas do antibiótico. Diferenças estatísticas ( $p < 0,05$ ) foram observadas apenas no controle positivo em relação ao controle negativo após 48, 72 e 96 h de exposição.

A figura 1 mostra embriões/larvas de zebrafish expostos ao controle positivo, controle negativo, e à 100 mg/L de Ceftriaxona.

As imagens da Figura 1 (A – D) mostram embriões/larvas de zebrafish expostos ao controle positivo (3,4 dicloroanilina, 4 mg/L). Na imagem A o embrião apresenta malformação em sua face, edema e alteração no saco vitelínico. A imagem B mostra um embrião com deformidades em sua cauda, edema e alteração no saco vitelínico. A imagem C traz um embrião com edema e alteração no saco vitelínico. A imagem D expõe um embrião com edema e alteração no saco vitelínico.

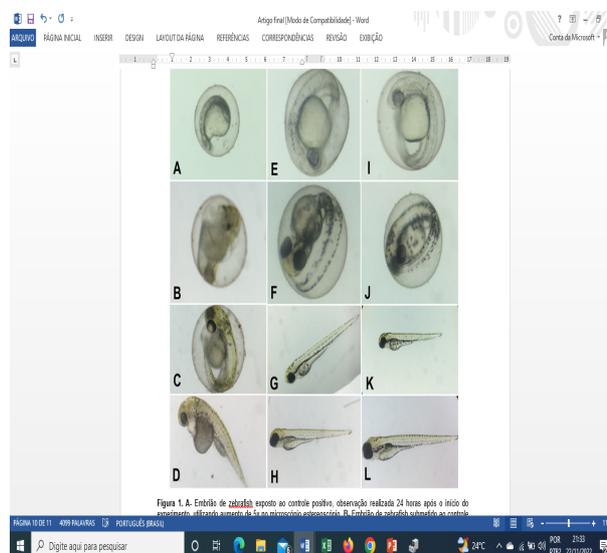
As imagens da Figura 1 (E – H) mostram embriões/larvas de zebrafish expostos ao controle negativo (apenas água do sistema de cultivo dos peixes). Nas imagens E e F, os embriões, após 24 e 48 horas de exposição ao controle negativo, respectivamente, são saudáveis e sem malformações. Nas imagens G e H, as larvas, após 72 e 96 horas de exposição ao controle negativo, respectivamente, também são saudáveis e sem malformações.

As imagens da Figura 1 (I – L) mostram embriões/larvas de zebrafish expostos à 100 mg/L de Ceftriaxona. Nas imagens I e J os embriões foram submetidos a maior concentração testada de Ceftriaxona durante 24 horas e 48 horas respectivamente, não apresentando alterações. Semelhantemente, as imagens J e K, que mostram larvas após 72 e 96 horas de exposição ao antibiótico, também apresentam o desenvolvimento fisiológico de zebrafish, sem alterações / malformações durante o

desenvolvimento.

A figura 2 mostra uma visão geral do FET. Nesta imagem, pode-se observar ocorrência expressiva de mortalidade apenas no controle positivo. Indivíduos expostos ao controle negativo e às diferentes concentrações de Ceftriaxona não apresentaram mortalidade expressiva.

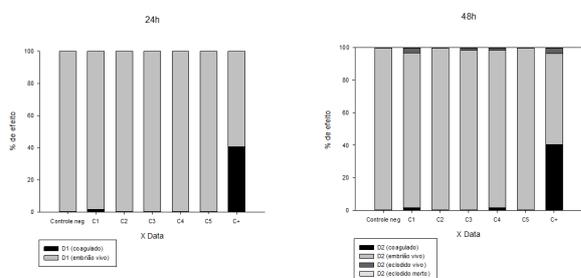
**Fig 1.** Desenvolvimento embrionário *Danio rerio* exposto ao controle positivo, controle negativo e Ceftriaxona (100 mg/L)



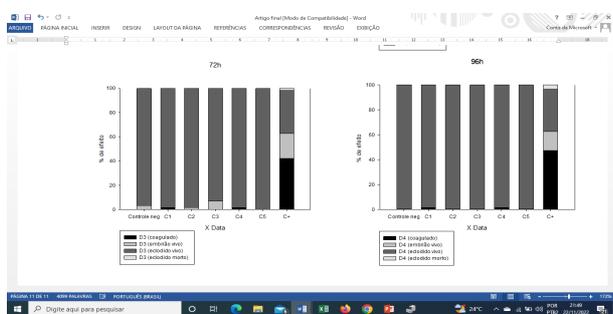
**Figura 1.** A- Embrião de zebrafish exposto ao controle positivo, observação realizada 24 horas após o início do experimento, utilizando aumento de 5x no microscópio estereoscópio. B- Embrião de zebrafish submetido ao controle positivo, observado 48 horas após o início do experimento, utilizando aumento de 5x no microscópio estereoscópio. C- Embrião de zebrafish exposto ao controle positivo, observação realizada 72 horas após o início do experimento aumento de 4x no microscópio estereoscópio. D- Embrião de zebrafish exposto ao controle positivo, observado 96 horas após o início do experimento, sob o aumento de 4x no microscópio estereoscópio. E- Embrião de zebrafish exposto ao controle negativo, observado 24 horas após o início do experimento, aumento de 5x no microscópio estereoscópio. F- Embrião de zebrafish submetido ao controle negativo com aumento de 5x no microscópio estereoscópio, observado 48 horas após o início do experimento. G- Larva de zebrafish exposta ao controle negativo, observada 72 horas após o início do experimento, com aumento de 4x no microscópio estereoscópio. H- Larva de zebrafish exposta ao controle negativo, observação realizada 96 horas após o início do experimento, aumento de 4x horas após o início do experimento, sob o aumento de 4x no microscópio estereoscópio. I- Embrião de zebrafish exposto ao controle negativo, observado 24 horas após o experimento, aumento de 5x no microscópio estereoscópio. J- Embrião de zebrafish submetido ao controle negativo com aumento de 5x no microscópio

estereoscópio, observado 48 horas após o início do experimento. **G-** Larva de zebrafish exposta ao controle negativo, observada 72 horas após o início do experimento, com aumento de 4x no microscópio estereoscópio. **H-** Larva de zebrafish exposta ao controle negativo, observação realizada 96 horas após o início do experimento, aumento de 4x no microscópio estereoscópio. **I-** Embrião de zebrafish exposto a concentração de 100mg/L de Ceftriaxona, observado 24 horas após o início do experimento com aumento de 5x no microscópio estereoscópio. **J-** Embrião de zebrafish asubmetido a 100mg/L de ceftriaxona, observado 48 horas após o início do experimento com aumento de 5x no microscópio estereoscópio. **K-** Larva de zebrafish exposta a 100mg/L de ceftriaxona, observação realizada 72 horas após o início do experimento com aumento de 4x no microscópio estereoscópio. **L-** Larva de zebrafish exposta a concentração de 100mg/L de ceftriaxona, observada 96 horas após o início do experimento com aumento de 4x no microscópio estereoscópio

**Fig 2.** Visão geral dos efeitos da Ceftriaxona nos estágios iniciais da vida de zebrafish durante 96 h de exposição.



**Figura 2.** A proporção (em porcentagem) de organismos mortos, vivos e eclodidos está representada pelas diferentes cores das barras.



## Discussão

Como observado na literatura, foram encontradas concentrações ambientais de Ceftriaxona. Esses estudos realizados com amostras colhidas de diversos países evidenciam

o quão esses compostos são comuns nos ambientes aquáticos. Segundo Gozlan et al (2013) os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos ao qual a Ceftriaxona está inserida correspondem a 50%-70% do consumo total de antibióticos utilizados em medicina humana e veterinária.

O antibiótico Ceftriaxona foi encontrado nas concentrações de 6,7206  $\mu\text{g/L}$  em rio (MARTÍNEZ et al., 2016), 0,0184 ng/L em estações de tratamento de esgoto, e 3,339 mg/L em águas residuais oriundas de hospital (MAGDALENO et al.,2014).

Além disso, dados recolhidos da literatura mostraram que outros pesquisadores também avaliaram efeitos de diferentes concentrações de Ceftriaxona em organismos aquáticos.

De acordo com uma pesquisa de Dias et al (2015), realizada com a cianobactéria *Microcystis aeruginosa*, a Ceftriaxona em concentrações de 0,2 mg/L, 0,4 mg/L e 1,6 mg/L foi capaz de inibir o crescimento deste bioindicador. Além disso, no trabalho realizado por Martínez et al (2017), notou-se que a Ceftriaxona, nas concentrações de 10 g/L e 1 g/L provocaram alta toxicidade em *Physa cubensis* Pfeiffer.

No presente trabalho, no entanto, não foi observada toxicidade nos embriões de zebrafish expostos às concentrações de 0,05 mg/L, 0,5 mg/L, 5,0 mg/L, 50 mg/L e 100 mg/L.

Os resultados do presente trabalho indicam inocuidade da Ceftriaxona nas condições testadas, diferentemente de estudos de Dias et al (2015) e Martínez et al (2017) que observaram alterações provocadas por ceftriaxona em outros bioindicadores, o que mostra a importância no cuidado com o uso e descarte desse antibiótico, pois pode atingir diferentes organismo aquáticos não alvo.

É importante também mencionar que as concentrações testadas no presente trabalho foram da ordem de  $\mu\text{g/L}$  à mg/L, sendo a mais baixa 0,05 mg/L (que corresponde à 50  $\mu\text{g/L}$ ) e a mais alta 100 mg/L (que corresponde à 100000  $\mu\text{g/L}$ ). Assim, as concentrações testadas no presente trabalho foram próximas às concentrações relatadas na literatura (ordem de  $\mu\text{g/L}$  à mg/L).

As concentrações de Ceftriaxona encontradas no ambiente são da ordem de ng/L à mg/L, sendo que a Ceftriaxona foi encontrada na concentração de 3,339 mg/L em águas residuais oriundas de um hospital em Buenos Aires (MAGDALENO et al.,2014), o que mostra que em determinados ambientes é possível encontrar concentração mais elevada de antibióticos.

A preocupação a respeito desse assunto é importante, pois calcula-se que o mercado mundial de antibióticos beta-lactâmicos receba US\$ 15 bilhões sendo que US\$ 9,9 bilhões estão relacionados a venda de cefalosporinas, o que

torna esse composto de grande utilização tanto em medicina humana como veterinária (LONGHIN, 2014; GOZLAN, ROTSTEIN, AVISAR,2013).

Contrariando a hipótese inicial, os resultados do presente trabalho mostraram que concentrações de 0,05 mg/L à 100 mg/L de Ceftriaxona não provocaram efeitos tóxicos evidenciados pelo teste FET em embriões e larvas de zebrafish.

Apesar disso, considerando dados na literatura com outros bioindicadores, e o fato de antibióticos da classe das cefalosporinas serem largamente utilizados, ainda é importante ter cautela no uso e no descarte de Ceftriaxona.

### **Conclusão:**

O presente trabalho, por meio do teste FET, permitiu concluir que o antibiótico Ceftriaxona, nas concentrações de 0,05; 0,5; 5,0; 50 e 100 mg/L, não induziu efeitos letais e subletais em embriões e larvas de zebrafish.

### **Agradecimentos:**

Ao Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa (NIP) do Centro Universitário ICESP por proporcionar projetos de iniciação científica do programa institucional de bolsas de iniciação científica. Essa pesquisa foi financiada por meio do Edital número 02/2019.

Aos meus orientadores Prof<sup>a</sup> Dr. Mariana Bernardes e Prof<sup>o</sup> Msc. Eduardo Pickler por todo conhecimento compartilhado durante esse tempo juntos, e também ao Prof. Cesar Koppe Grisolia chefe do laboratório de Genética Toxicológica da UnB, por gentilmente ceder as instalações do laboratório.

### **Referências:**

AZEVEDO, M.M.S. **Farmacologia dos antibióticos Beta-lactâmicos**. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas). Faculdade de ciências da saúde da Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2014.

BARRIONUEVO, W.R.; FERNANDES, M.N.; ROCHA, O. Aerobic and anaerobic metabolism for the zebrafish, *Danio rerio*, reared under normoxic and hypoxic conditions and exposed to acute hypoxia during development. **Brazilian Journal of Biology**, 70: 425- 434, 2010.

BERENDOK, T.U.; MANAIA, M.C.; MERLIN, C.; KASSINOS, F.D.; CYTRYN, E.; WALSH, F.; BURGAMANN, H.; SØRUM, H.; NOSTROM, M.; MARIENOELLE, P.; KREUZINGER, N.; HUOVINEN, P.; STEFANI, S.; SCHAWATZ, T.; KISAND; BAQUEIRO, F.; MARTINEZ, L.J. Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. **Nature**, v.13, p. April, 2015.

BLACKWELL, A.P.; KAY, P.; ALISTAR, B.A.; BOXALL. The dissipation and transport of veterinary antibiotics in sandy loam soil. **Chemosphere**, v.67, p.292-299, Ukraine, 2007.

- BOSCO, S. M. D. **Degradação de ivermectina por processos oxidativos avançados**. 2012. Tese. (Doutorado em Engenharia civil). Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo da Unicamp. Campinas. 2012.
- BRASIL. **Lei nº5517 de 23 de outubro de 1968**. Dispõe sobre o exercício da profissão de Médico-Veterinário e cria os Conselhos Federal e Regionais de Medicina Veterinária
- CALISTO,M.;ESTEVES ,F.A.Macroinvertebrados bentônicos em dois lagos amazônicos: Lago batata( Um ecossistema impactado por rejeito de bauxita) e lago Mussurá (BRASIL).**Acta,Limnologia Brasiliensia**,v.8,p.137-147. Rio de Janeiro,1996.
- CALISTO,M.;FERREIRA,W.R.;MORENO,P.;GOULART,M.;PETRUCIO,M.Aplicação de um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em atividade de ensino e pesquisa.**Acta.Limnologia Brasiliensia**,v.14,p.91-98.Belo Horizonte,2002.
- CHIVIAN, E.; BERNSTEIN, A. (Ed.) How human health depends on biodiversity. New York: Oxford University Press, 2008.
- DIAS,E.;OLIVEIRA,M.;DIASJONES,D.;VASCONCELOS,V.;FERREIRA,E.;MANAGEIRO,V.;CANIÇA.M.Asse sing the antibiotic suceptibility of freshwater Cyanobacteria spp.**Frontiers in Microbiology**.v.6.august,2015.
- FONSECA,S.R.**Exposição de embriões e larvas de Zebrafish a compostos bisfenólicos para elucidação de mecanismos neurotoxicológicos**.Dissertação. (Mestrado em Zoologia). Faculdade de biociências da pontifícia, Universidade católica do rio grande do sul. Porto Alegre,2018.
- GOULART, M.D. & CALLISTO, M.. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **Revista da FAPAM**,n.01,2003.
- GOZLAN,I.;ROTSTEIN.A,AVISAR,D. Amoxicillinn-degradation products formed under controlled environmental conditions: Identification and determination in te aquatic environment. **Chemosphere**. n.91,p.985-992,2013.
- LINS,N.P.A.J.;KIRSCHNIK,G.P.;QUEIROZ,S.V.;CIRIO,M.S.Usos de peixes como biomonitoramento ambiental aquático.**Rev.Acad.,Ciênc.Agrár.Ambient**. v.8,p.469-448.Out/Dez,2010.
- LONGHIN,R.S. **Estudos da degradação de antibióticos beta-lactâmicos amoxicilina e ampicilina e avaliação da toxicidade e biodegradabilidade dos seus produtos**.(Doutorado em Química).Instituto de Química,Universidade de Brasília.Brasília.2008.
- MARTÍNEZ,M.E.H.;GARCÍA,L.D.C.;SUÁREZ,B.M;GUTIÉRREZ,W.M.;JIMÉNEZ,E.A. Ecotoxicidad aguda en semillas de *Lactuca sativa* L. de antibacterianos con riesgo ambiental.**Rev.Toxicol**.v.33,p.59-66.Cuba,2016.
- MARTÍNEZ,E.M.H;GARCÍA,D.I.C;GONZÁLEZ,R.G;LÓPEZ,A.G;CHANG,O.M;JIMÉNEZ,A.E;MONTEAGUDO ,A.M;LÓPEZ,Y.H. Ecotoxicidad aguda en *Physa cubensis* P. y *Artemia salina* L. de 8 antibacterianos con riesgo ambiental.**Revista de toxicologia**.v.34,n.2,p.118-123,2017,Pamplona,espanha.
- MAGDALENO,A.;JÚAREZ,B.A.;DRAGANI,V.;SAENZ,E.M.;PAZ,M.;MORETTON,J. Ecotoxicological and Genotoxic Evaluation of Buenos Aires City (Argentina) Hospital Wastewater.**Journal of Toxicology**.v.2014,p.10.Agust,2014.
- MAGALHÃES,P.D.;FILHO FERRÃO,S.A.A Ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos.**Oecol.Bras**.v.12,p.355-381.Rio de janeiro 2018.
- MARÇAL,W.S. (2006). Atuação pericial do médico veterinário em ações de biomonitoramento ambiental. **Revista CFMV, XII** (39). Brasília, DF: Conselho Federal de Medicina Veterinária.
- POSSAMAI, Mari Helen Pagani. O papel do médico veterinário na educação e formação na vigilância ambiental em saúde. **Revista Electrónica de Investigación y Docencia (REID)**, 2011.
- REGITANO,B.J.;LEAL,P.M.R.Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira.**R.Bras.Ci.Solo**.v.34,p.601-616.Fvereiro,2010.

RINGGER, C.N.; PEARSON, G.E.; GRONWALL, R.; KOHLEPP, S.J. Pharmacokinetics of ceftriaxone in healthy horses. **Equine veterinary journal**. v.28, p.476-479. 1996.

SILVA, T.A.A.; FILHO, M.A.A.; BRITO, M.R.M.B.; FREITA, R.M. Mecanismos de ação, efeitos farmacológicos e reações adversas da ceftriaxona: uma revisão de literatura. **Revista eletrônica de farmácia**. v.11, p.48-57. 2014.

SPINOSA, H. de S.; GÓRNIK, Silvana Lima; BERNARDI, Maria Martha. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. **Ed. Rio de Janeiro**, 1999.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. 13, p. 57-149, 2003.

SYSTAT, n.d. SigmaPlot, Systat Software, Inc., San Jose California USA, [www.sigmaplot.com](http://www.sigmaplot.com)

WEESE, S.J.; DUIJKEREN, V.E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. **Veterinary Microbiology**. n.140, p.418-429, 2010.

YAN, S.; SUBRAMANIAN, S. B.; TYAGI, R. D.; SURAMPALLI, R. Y.; ZHANG, T. C. **Emerging Contaminants of Environmental Concern: Source, Transport, Fate, and Treatment. Practice periodical of hazardous, toxic, and radioactive waste management**. 14 (1): 2-20. 2010.

ZAPPAROLI, D.I.; CAMARA, M.R.G.; BECK, C. Medidas Mitigadoras para a Indústria de Fármacos Comarca de Londrina-PR, Brasil: Impacto Ambiental do Despejo de Resíduos em Corpos Hídricos. 3<sup>rd</sup> international workshop advances in cleaner production. **Anais**. São Paulo, 2011.