

## Atividade de antimicrobianos sobre o crescimento da microalga (*Chlorophyta: Chlorella vulgaris*), Beijerinck, 1890

Antimicrobial activity of microalgae growth (*Chlorophyta: Chlorella vulgaris*), Beijerinck, 1890

Actividade antimicrobiana sobre el crecimiento de microalga (*Chlorophyta: Chlorella vulgaris*), Beijerinck, 1890

Recebido: 30/05/2022 | Revisado: 11/05/2022 | Aceito: 17/05/2022 | Publicado: 22/05/2022

**Mayara Fabiana de Melo Furtado**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1832-5025>

Universidade Federal do Amapá, Brasil

E-mail: mayarafabiana@gmail.com

**Silvia Maria Mathes Faustino**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3216-749X>

Universidade Federal do Amapá, Brasil

E-mail: fitomathes@yahoo.br

### Resumo

Os antimicrobianos de uso doméstico, hospitalar, veterinário e na agricultura têm despertado crescente preocupação, devido à presença desses resíduos no ambiente aquático, mesmo em concentrações muito baixas, podem potencialmente interferir no equilíbrio da biota aquática, afetando populações de produtores primários. Dos microrganismos, as microalgas são consideradas umas das mais sensíveis, além de serem mais suscetíveis, por estarem distribuídas por todo o ambiente aquático. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de substâncias antibióticas sobre o crescimento da microalga *Chlorella vulgaris*. Os resultados apontam que os antibióticos, Amoxicilina, Ampicilina e Cefalexina monoidratada, pertencentes ao grupo beta-lactâmicos apresenta uma densidade celular superior em relação ao tratamento controle, inibindo o crescimento de *C. vulgaris*. O estudo sugere a realização de monitoramentos nas matrizes ambientais, principalmente da região norte, por apresentar um baixo percentual no tratamento convencional de esgotos sanitário, evitando assim, riscos sobre a biota aquática e a saúde humana.

**Palavras-chave:** Antibióticos; Matriz aquática; Microalgas; Inibição de crescimento.

### Abstract

Antimicrobials for domestic, hospital, veterinary and agricultural use have aroused increasing concern, due to the presence of these residues in the aquatic environment, even at very low concentrations, they can potentially interfere with the balance of aquatic biota, affecting populations of primary producers. Of the microorganisms, microalgae are considered one of the most sensitive, in addition to being more susceptible, as they are distributed throughout the aquatic environment. The present study was to evaluate the effects of antibiotic substances on the growth of the microalgae *Chlorella vulgaris*. The results indicate that the antibiotics, Amoxicillin, Ampicillin and Cephalexin monohydrate, belonging to the beta-lactam group, have a higher cell density compared to the control treatment, inhibiting the growth of *C. vulgaris*. The study suggests carrying out monitoring in the environmental matrices, mainly in the northern region, as it presents a low percentage in the conventional treatment of sanitary sewage, thus avoiding risks to the aquatic biota and human health.

**Keywords:** Antibiotics; Aquatic matrix; Microalgae; Growth inhibition.

### Resumen

Los antimicrobianos de uso doméstico, hospitalario, veterinario y agrícola han despertado una creciente preocupación, debido a que la presencia de estos residuos en el medio acuático, aún en muy bajas concentraciones, pueden potencialmente interferir en el equilibrio de la biota acuática, afectando poblaciones de productores primarios. De los microorganismos, las microalgas se consideran uno de los más sensibles, además de ser más susceptibles, ya que se encuentran distribuidas por todo el medio acuático. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de sustancias antibióticas sobre el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*. Los resultados indican que los antibióticos Amoxicilina, Ampicilina y Cefalexina monohidrato, pertenecientes al grupo de los betalactámicos, presentan una mayor densidad celular en comparación con el tratamiento control, inhibiendo el crecimiento de *C. vulgaris*. El estudio sugiere realizar monitoreos en las matrices ambientales, principalmente en la región norte, ya que presenta un

bajo porcentaje en el tratamiento convencional de las aguas residuales sanitarias, evitando así riesgos a la biota acuática y la salud humana.

**Palabras clave:** Antibióticos; Matriz acuática; Microalgas; Inhibición del crecimiento.

## 1. Introdução

O uso generalizado e descontrolado de antibióticos contribui para sua presença nas matrizes ambientais e sua ocorrência tem sido relatada em todo o mundo, com concentrações variando de nanograma por litro ( $\text{ng/L}^{-1}$ ) a níveis de micrograma por litro ( $\mu\text{g/L}^{-1}$ ), onde sua exposição a organismo não-alvo pode ocorrer (Monteiro & Boxall, 2010). Os antimicrobianos têm despertado interesse devido seus efeitos na biota de ambientes impactados, visto que não há seletividade, podendo atuar sobre os microrganismos aquáticos da mesma forma que agem sobre os patógenos humanos (Kummerer, 2010; Wang & Chu, 2016). A poluição por antimicrobianos é um problema sério e urgente, devido as suas ameaças imediatas e potenciais a segurança ambiental e a saúde humana (Michael et al., 2013).

Estudos apontam que em comparação as espécies de peixes e invertebrados (Crane, Watts & Boucard, 2006; Santos et al., 2010), as algas exibem maior sensibilidade a perturbação ambiental, devido as suas funções ecológicas, como a produção primária e a transformação de nutrientes (Guo, 2015). As algas utilizadas em testes apresentam vantagens, por terem sensibilidade às alterações ocorridas no meio, reprodução rápida, ampla distribuição e são suscetíveis a medicamentos que chegam ao ambiente, tanto de forma direta, quanto indireta (Grinten et al., 2010).

*Chlorella vulgaris* é uma microalga eucariótica, unicelular e fotossintética amplamente distribuída em ambientes de água doce, medindo de 2-10 $\mu\text{m}$  de diâmetro que apresenta uma rápida taxa de reprodução. Em um período de 24 horas uma célula de *C. vulgaris* cultivada em condições ótimas se multiplica por autosporeulação (Yamamoto et al., 2004). O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito dos diferentes antibióticos no cultivo da microalga *C. vulgaris*, observando a inibição ou crescimento populacional, durante 30 dias de experimento.

## 2. Metodologia

Esta pesquisa, sob o aspecto metodológico é aplicada quantitativa, descritiva e experimental, pois foram utilizados meios práticos para solução dos problemas, testes estatísticos para avaliar a relação dos resultados e elaboração do experimento elencando quais seriam os fatores influentes a serem controlados em laboratório (Barros Neto, Scarmino & Bruns, 2010; Severino, 2018).

A microalga utilizada *C. vulgaris* foi coletada na Área de Proteção Ambiental (APA) Lagoa dos Índios ( $0^{\circ}01'50,8''\text{N}$  e  $51^{\circ}06'20,17''\text{W}$ ), no estado do Amapá, município de Macapá, isolada e cultivada no Laboratório de Cultivos de Algas (LACAL) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), em temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ , sob fotoperíodo contínuo (Lourenço, 2006) e mantida em meio de cultura L.C Oligo (ABNT, 2018). A microalga estava em fase exponencial de crescimento com concentração inicial de  $10^6$  células/ml no primeiro dia de experimento. Os ensaios para averiguação dos efeitos de exposição da *C. vulgaris* a antibióticos foram realizados de acordo com o proposto no protocolo de Associação Brasileira de Normas e Técnicas, de Ecotoxicologia Aquática-Toxicidade crônica-Método de Ensaio com algas (Chlorophyceae) (ABNT, 2018).

Foram selecionados dez antibióticos que constam na Tabela 1, através de uma pesquisa informal com médicos que atuam no atendimento direto da população amapaense. Os antibióticos foram macerados e pesados separadamente. Cada concentração dos respectivos antibióticos foi diluída em 1 litro de água deionizada. As concentrações de antibióticos utilizados foram divididas em quatro concentrações de acordo com porcentagem em mg/L de cada antibiótico. Foi adicionado 1 ml de cada uma das concentrações diluídas em frascos para cultivos celulares contendo 40ml da solução algal com *C. vulgaris*. Dessa forma para cada antibiótico haviam quatro frascos com as diferentes concentrações de antibióticos e mais um frasco controle,

ou seja, cinco frascos para cada tratamento, foram analisados 10 antibióticos, ao todo 50 frascos (Figura 1). Experimentos semelhantes foram realizados no laboratório (LACAL) para avaliação de toxicidade de outros compostos como os trabalhos de Oliveira et al., (2017), Pessoa et al., (2018) e Araújo et al., (2020).

Para acompanhar a densidade celular, primeiramente, cada frasco foi homogeneizado manualmente e posteriormente era retirada uma alíquota de 2ml de cada frasco, em intervalos de 24 horas até o quinto dia e após o quinto dia, a contagem foi realizada em intervalos de cinco em cinco dias, no mesmo horário. As contagens celulares foram realizadas em câmara de Neubauer, usando microscópio óptico, com observação realizada na objetiva de aumento 40x.

**Figura 1** – Experimento da microalga *Chlorella vulgaris*, com tratamento de antibióticos nas concentrações estabelecidas, um frasco contendo o controle, os quatro frascos contendo os antibióticos.



Fonte: Autores (2022).

**Tabela 1** – Concentrações dos antibióticos testados para o experimento.

Antibióticos	Tratamento	Concentrações diluídas (mg/L)			
Azitromicina di-hidratada	T1	50	100	250	500
Cloridrato de ciprofloxacino	T2	50	100	250	500
Sulfametoxazol + trimetoprima	T3	200	400	600	960
Cefalexina monoidratada	T4	50	100	250	500
Metronidazol	T5	40	100	250	400
Ampicilina	T6	50	100	250	500
Cloridrato de tetracilina	T7	50	100	250	500
Clavulanato de potássio + Amoxicilina	T8	100	300	600	1000
Amoxilina	T9	50	100	250	500
Levofloxacino	T10	50	100	250	500

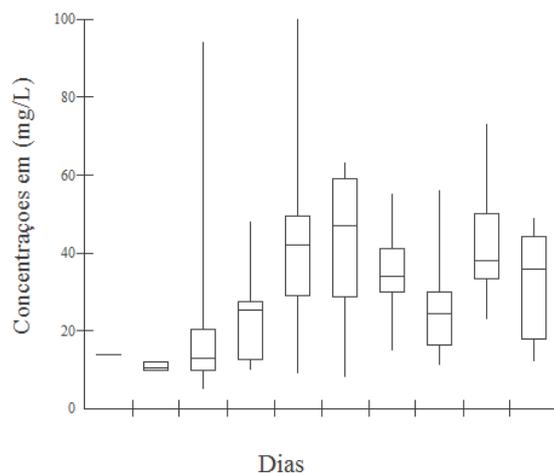
Fonte: Autores (2022).

A partir dos resultados das contagens celulares, a tabulação dos dados foi realizada pelo Excel e utilizada uma análise estatística para determinar se houve diferenças significativas entre os tratamentos e os dias de experimento, bem como os tratamentos entre si, o teste estatístico ANOVA Two- Ways, seguido do teste a post-hoc de Turkey, em nível de significância de 0,05, através do programa BioEstat 5.0 (Ayres et al., 2007).

### 3. Resultados

Quando avaliada a microalga *C. vulgaris*, ao final do experimento com 30 dias de exposição, foram verificadas densidades celulares significativas ( $p \leq 0,0001$ ) entre o controle e os tratamentos (Figure 2). Os antibióticos com maior significância ( $p \leq 0,01$ ), foram (T5), para o 3º dia, (T4) e (T6), para o 5º dia e (T9), para o 25º dia.

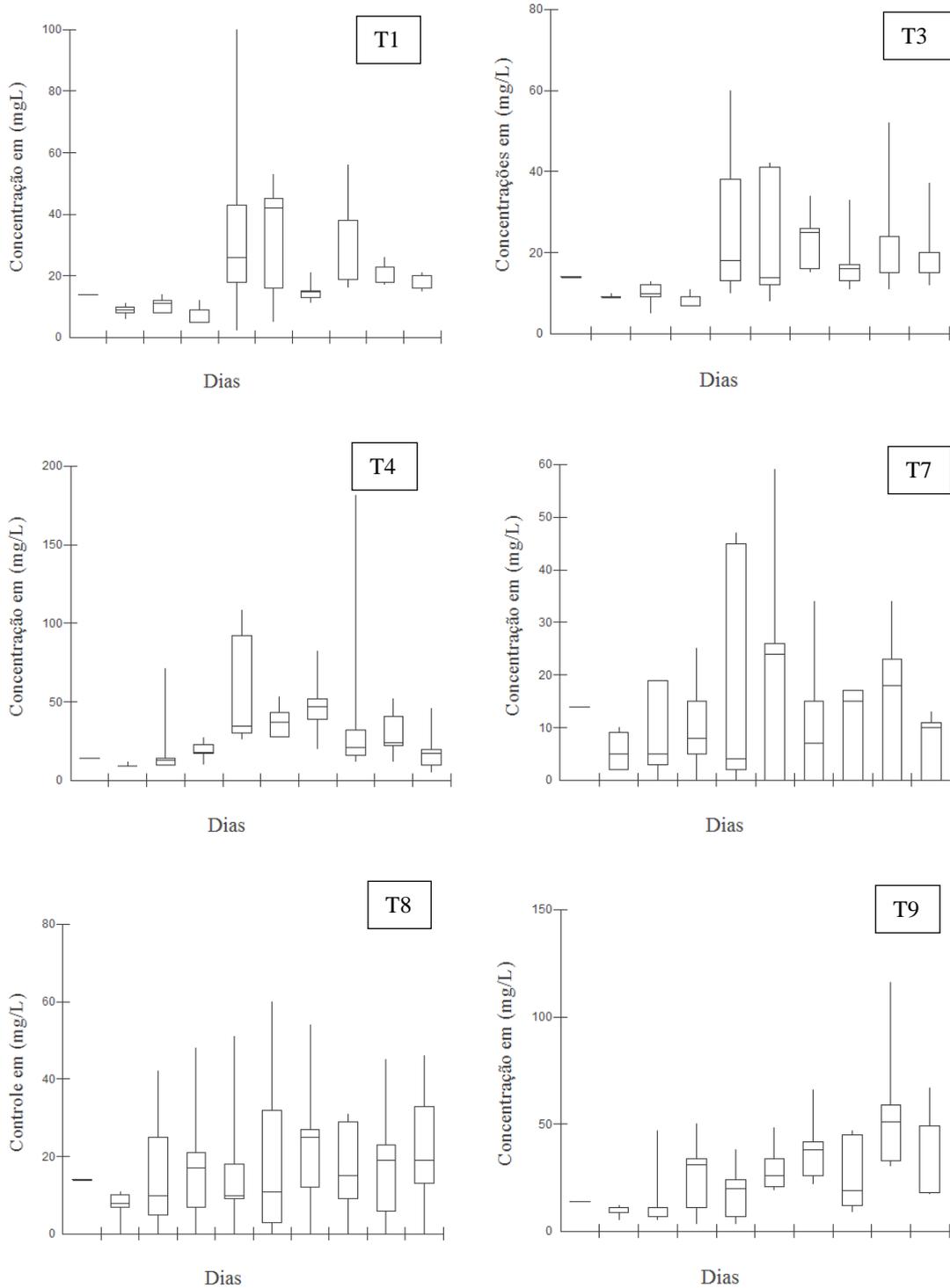
**Figura 2** - Densidade da microalga *Chlorella vulgaris* (cel mL<sup>-1</sup>) com todos os tratamentos nos 30 dias de exposição.



Fonte: Autores (2022).

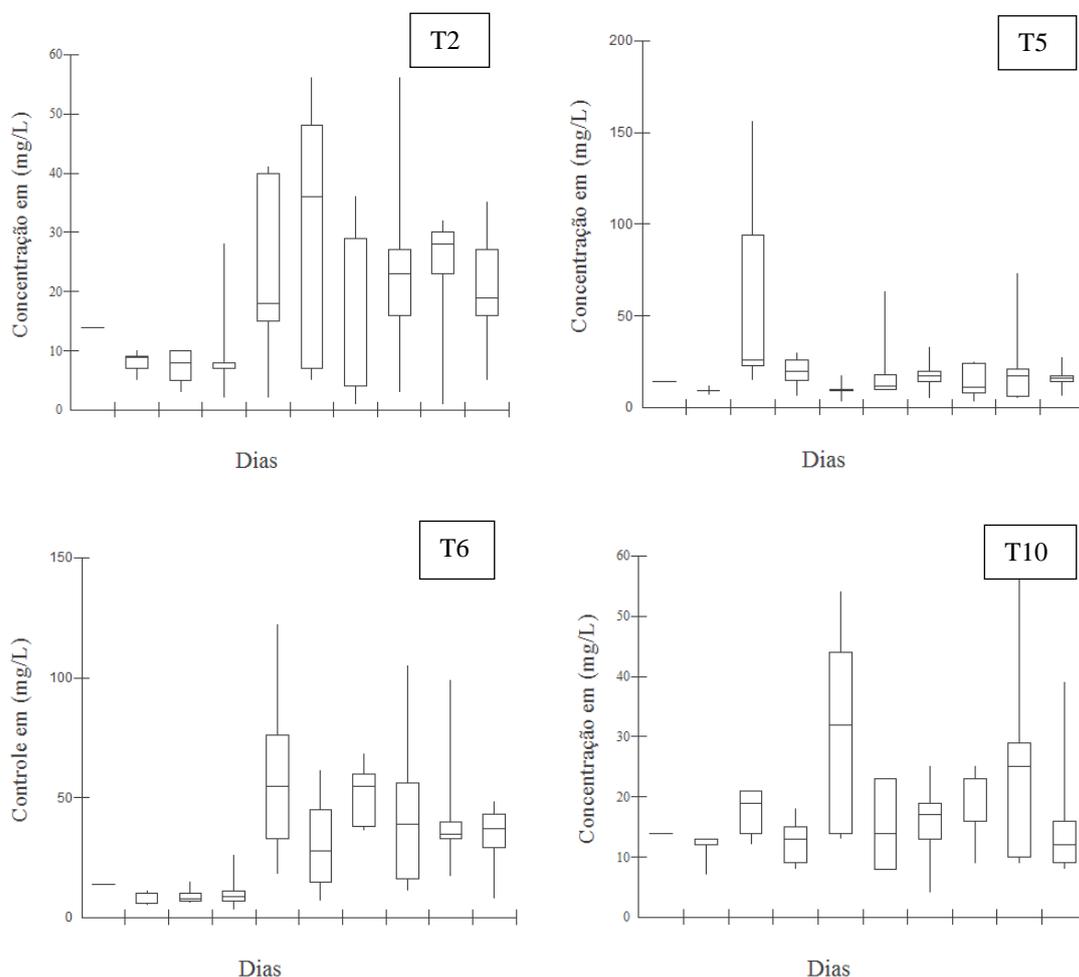
Na comparação dos tratamentos analisados separadamente em relação ao controle, foi observado que há benefícios e ou inibição no crescimento populacional. Os antibióticos (T1), (T3), (T4), (T7), (T8) e (T9) não apresentaram diferenças significativas ( $p=0.0067$ ), ( $p=0.0603$ ), ( $p=0.1998$ ), ( $p=0.3885$ ) e ( $p=0.0075$ ), respectivamente, entre os tratamentos e o tempo de exposição (Figura 3a). Os antibióticos (T2), (T5), (T6) e (T10) apresentaram diferenças significativas ( $p=0.023$ ), ( $p=0.0236$ ), ( $p=0.003$ ) e ( $p=0.0378$ ), respectivamente, entre o tratamento e o tempo de exposição (Figura 3b).

**Figura 3a** - Densidade da microalga *Chlorella vulgaris* (cel mL<sup>-1</sup>) para os tratamentos T1, T3, T4, T7, T8 e T9 que não apresentaram diferenças significativas.



Fonte: Autores (2022).

**Figura 3b** - Densidade da microalga *Chlorella vulgaris* (cel mL<sup>-1</sup>) para os tratamentos T2, T5, T6 e T10 que apresentaram diferenças significativas.



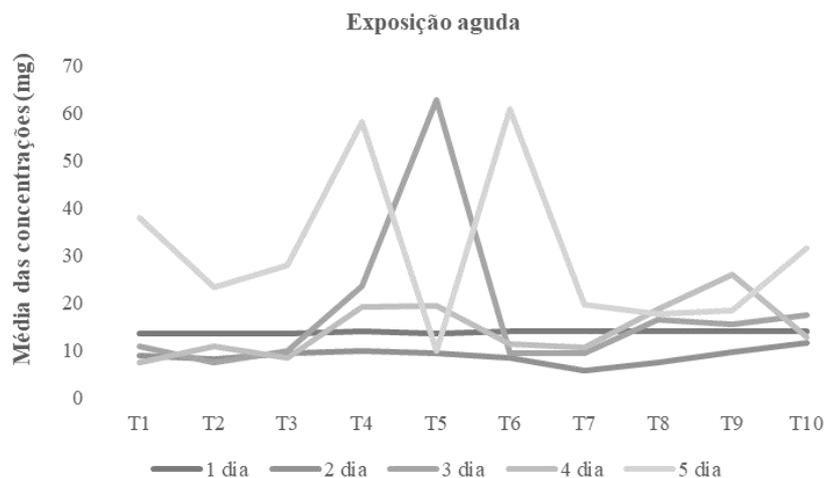
Fonte: Autores (2022).

Os frascos contendo as concentrações dos antibióticos (T1) e (T8), apresentaram crescimento inferior em relação ao tratamento controle, mas houve crescimento observado ao longo dos dias indicando que *C. vulgaris* foi tolerante e capaz de crescer na presença desses antibióticos, com exceção (T8) na concentração de 1000mg que inibiu o crescimento algal, desde o segundo dia do experimento. Os antibióticos (T4), (T6) e (T9) apresentaram uma densidade celular superior em relação ao tratamento controle, principalmente as concentrações, 100mg com 20 dias de exposição, 50mg com 5 dias de exposição e 100mg com 25 de exposição, respectivamente, indicando um efeito inibitório no crescimento de *C. vulgaris*.

Os antibióticos (T2), (T5) e (T7), favoreceram o crescimento algal, no entanto, as dosagens 50mg (T2), (T7) e 40mg (T5), apresentam uma densidade de *C. vulgaris* maior que o controle, mas (T2) no 20º dia, (T5) 3º dia e (T7) 10º dia apresentaram efeito inibitório. O antibiótico (T3) 400mg, 10º dia e 600mg, 5ºdia, inibiram o crescimento algal e (T10) 50mg e 500mg, 10º dia e 100mg, 5ºdia, inibiram o crescimento algal, durante o experimento.

O tempo de crescimento da exposição aguda para (T4) e (T6) foram os que apresentaram maiores densidades celulares para o 5º dia e o (T5) apresentou maior densidade celular para o 3º dia (Figura 4).

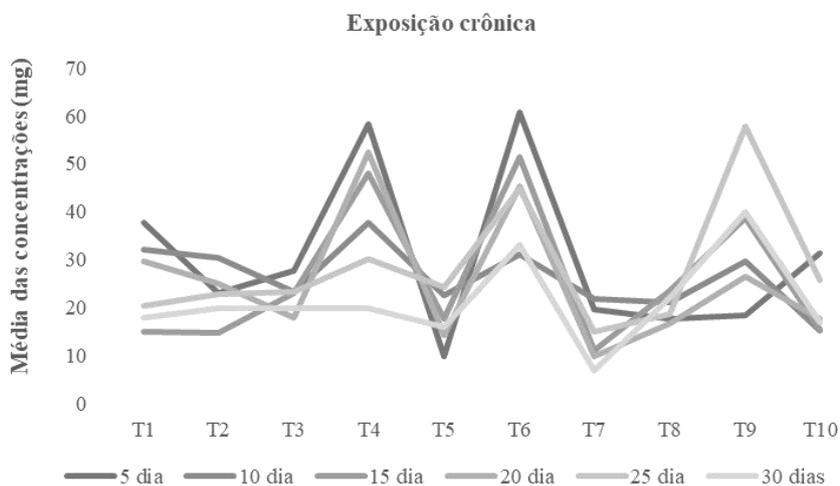
**Figura 4** - Tempo de exposição aguda (1°-5° dias) para os tratamentos da microalga *Chlorella vulgaris*.



Fonte: Autores (2022).

O tempo de crescimento da exposição crônica, foi observado para os antibióticos (T4), (T6) e (T9), os quais, apresentaram maiores densidades celulares para todos os 30 dias de experimento. O (T4), apresentou maiores densidades celulares para o 5º, 15º, 20º e 25º dia. o (T6), apresentou maiores densidades para o 5º, 15º, 20º e 25º e o (T9), apresentou maiores densidades celulares para 15º, 25º e 30º dias (Figura 5).

**Figura 5** - Tempo de exposição crônica (5°-30° dias) para os tratamentos da microalga *Chlorella vulgaris*.



Fonte: Autores (2022).

#### 4. Discussão

As densidades celulares foram significativas entre o controle e os tratamentos comprovando que os antibióticos testados causam a inibição do crescimento da microalga *C. vulgaris*. Muitas algas toleram maiores concentrações de antibióticos do que as bactérias em um curto tempo de exposição a altas concentrações (Lai et al., 2009). O benefício observado no crescimento celular para os tratamentos T1 e T8, mostram que suas concentrações favorecem o crescimento da microalga, em comparação aos tratamentos T4, T6, T9 que inibem o crescimento da microalga *C. vulgaris*. Segundo Drillet et al., (2011) a obtenção de microalgas livres de bactérias, exclui a competição entre os organismos, beneficiando o crescimento da espécie de interesse. A

baixa concentração de antibióticos pode aumentar o crescimento de microalgas, enquanto a alta concentração de antibióticos pode inibir o seu crescimento (Cheng et al., 2017).

Os tratamentos com os antibióticos T4, T6 e T9, foram os que apresentaram densidade celular superior em relação ao tratamento controle e são pertencentes ao grupo beta-lactâmicos. Os antibióticos amoxicilina, ampicilina e cefalexina são usados tanto em terapias humanas, quanto nas veterinárias, sendo facilmente encontrados nos sistemas hídricos, visto que, a metabolização desses antimicrobianos é baixa, cerca de 80 a 90% é excretada, atingindo os efluentes na sua forma inalterada (Pérez-Parada et al., 2011; Miao et al., 2016).

O levantamento realizado por Castro e Neves et al., (2020), listou os antibióticos mais consumidos no Brasil: amoxicilina (40%), cefalexina (22,5%), azitromicina (21,8%), sulfametoxazol e trimetoprima (4,7%), eritromicina, ciproflaxacina e levofloxacina (3,5%) e tetraciclina (2,9%), o estudo de Locatelli, Sodr e e Jardim (2011), encontraram amoxicilina e cefalexina, como as maiores concentrações analisadas durante o estudo, o trabalho de Branco et al., (2021), mostram que os antimicrobianos ciprofloxacina e sulfametoxazol, foram os mais detectados no estudo. Branco, Albert & Romão (2021) realizaram um levantamento de literatura com os dados gerados de antibióticos detectados em algumas matrizes ambientais na Ásia, Europa e na América do Sul, confirmando a existência e o consumo desses antibióticos, tanto pela população brasileira, quanto pelos demais países.

Estudos recentes sobre monitoramento desses antimicrobianos nas matrizes aquáticas brasileiras, tais como, Locatelli, Sodr e & Jardim (2011), Queiroz et al., (2012), Rodrigues (2012), Dias (2014), Jank et al., (2014), Quaresma (2014), Queiroz et al., (2014), Torres (2014), Monteiro et al., (2016), Silva (2016) e Branco et al., (2021) (Tabela 2), foram realizados região sul e sudeste do Brasil, conseqüentemente, em algumas regiões do Brasil, como a região Norte, há uma escassez de dados sobre antimicrobianos nas matrizes aquáticas, o que impede uma estimativa das concentrações, onde as características de poluição divergem de uma região para a outra (Chaves, 2020).

**Tabela 2** - Antibióticos detectados em matriz aquática dos estados da região sul e sudeste do Brasil.

Antimicrobianos	Max. (ng.L <sup>-1</sup> )	Matriz	Localidade	Referência
Amoxicilina	8,9	Água tratada	Campinas/SP	Locatelli, Sodr�e & Jardim (2011)
Ampicilina	<0,45	Água superficial	Campinas/SP	Locatelli, Sodr�e & Jardim (2011)
Azitromicina	8.172,61	Água superficial	Frei Inocêncio/MG	Quaresma (2014)
	39,7	Água superficial	Porto Alegre/RS	Jank et al., (2014)
	29,0	Água superficial	Campinas/SP	Locatelli, Sodr�e & Jardim (2011)
Cefalexina	494	Esgoto bruto	Porto Alegre/RS	Jank et al., (2014)
	119	Água superficial	Campinas/RS	Locatelli, Sodr�e & Jardim (2011)
Ciprofloxacina	66,1	Água superficial	Porto Alegre/RS	Jank et al., (2014)
	11,68	Água superficial	Rio Doce/MG	Quaresma (2014)
	>100	Água residual		
	<100	Água superficial	Rio de Janeiro/RJ	Branco et al., (2021)
	<100	Esgoto bruto		
Levofloxacino	581,89	Água superficial	Rio Doce/MG	Quaresma (2014)
Eritromicina	515	Esgoto bruto	Porto Alegre/RS	Jank et al., (2014)
	51	Água superficial	Campinas/RS	Locatelli, Sodr�e & Jardim (2011)
Norfloxacina	54,4	Água superficial	Porto Alegre/RS	Jank et al., (2014)
	26	Água superficial	Piracicaba/SP	Torres (2014)
	70,58	Água superficial	Rio Doce/MG	Quaresma (2014)
	149,72	Água superficial	São Paulo/SP	Silva (2016)
	<100	Esgoto bruto	Rio de Janeiro/RJ	Branco et al., (2021)

Oxitetraciclina	44,1	Água superficial	Rio de Janeiro/RJ	Monteiro et al., (2016)
	106	Água superficial	Campinas/SP	Locatelli, Sodré & Jardim (2011)
	150,8	Esgoto bruto	Belo Horizonte/MG	Queiroz et al., (2012)
	297,0	Água superficial	Rio Doce/MG	Rodrigues (2012)
Sulfametoxazol	1.826,30	Água superficial	Nova Lima/MG	Dias (2014)
	2.592,60	Água tratada		
	13,0	Esgoto bruto	Belo Horizonte/MG	Queiroz et al., (2014)
	1367,63	Água superficial	Rio Doce/MG	Quaresma (2014)
	572	Água superficial	Porto Alegre/RS	Jank et al., 2014
	467,0	Água superficial	Rio Claro/RJ	Monteiro et al., (2016)
	22,265	Água superficial	São Paulo/SP	Silva (2016)
	<100	Água residual		
<100	Água superficial	Rio de Janeiro/RJ	Branco et al., 2021	
<100	Esgoto bruto			
Tetraciclina	11	Água superficial	Campinas/SP	Locatelli, Sodré & Jardim (2011)
	27,8	Esgoto bruto	Porto Alegre/RS	Jank et al., (2014)
Trimetoprima	484	Água superficial	Campinas/SP	Locatelli, Sodré & Jardim (2011)
	113,7	Esgoto bruto	Belo Horizonte/MG	Queiroz et al., (2012)
	1.754,0	Água superficial	Rio Doce/MG	Rodrigues (2012)
	1.573,86	Água superficial	Nova Iguaçu/RJ	
	1.409,06	Água superficial	São Paulo/SP Nova	
	624,60	Água superficial	Lima/ MG	Dias (2014)
	1.781,00	Água tratada	Nova Iguaçu/RJ	
	4.381,21	Água tratada	São Paulo/SP	
	876,39	Água tratada	Nova Lima/ MG	
	19,61	Água superficial	Rio Doce/MG	Quaresma (2014)
93,7	Água superficial	Porto Alegre/RS	Jank et al., (2014)	
61,0	Esgoto bruto	Belo Horizonte/MG	Queiroz et al., (2014)	

Fonte: Adaptado de Lima et al., (2017) e Farto et al., (2021).

Países em desenvolvimento como o Brasil, onde crescem o consumo de antimicrobianos, são potencialmente impactados pela segurança ambiental (Castro e Neves et al., 2020). A integridade da saúde ambiental e humana, está relacionada com o nível satisfatório de saneamento básico e a saúde das matrizes aquáticas, segundo a Organiza o Mundial de Saúde (OMS), cerca de 85% das doenças conhecidas estão associadas a  gua (Crestana & Silva, 2011). A contamina o dos recursos hídricos, pode ocorrer tanto por águas residuárias descartadas diretamente sem o devido tratamento de origem, seja ela, doméstica, hospitalar ou industrial, quanto por efluentes de esta es de tratamento com baixa remo o desses microcontaminantes (Melo et al., 2009; Bottoni et al., 2010), além desses, lixiviados de aterros e das drenagens agrícolas (Gavrilescu et al., 2015). Contudo, sabemos que os processos convencionais de tratamento de esgoto não estão sendo efetivos na remo o total dos microcontaminantes, o Brasil apresenta um sério problema no tratamento de saneamento básico, onde grande parte da popula o não tem acesso ao abastecimento público de tratamento de água e esgoto (Branco et al., 2021), do esgoto gerado no país, apenas 50,8% foram tratados (SNIS, 2020), restando 49,2% sendo liberados diretamente nos corpos hídricos. Agrava-se o fato que esses tratamentos no Brasil são poucos eficientes, principalmente para a região Norte, onde

apenas 13,1 % da população é atendida com a rede pública de esgoto e a cidade de Macapá, apresenta apenas 7,7% de seu atendimento urbano com rede de esgoto, sendo uma das mais críticas do ranking de saneamento básicos, ocupando a 100ª colocação (SNIS, 2020).

A partir do momento em que esses microcontaminantes estiverem presentes e alcançarem corpos hídricos utilizados para o abastecimento da população, cabe as estações de tratamento de água a tarefa de garantir que as concentrações dos antimicrobianos, não excedam os valores considerados tóxicos a biota aquática e a saúde humana (Lima et al., 2017), tendo em vista que podem causar diversos efeitos para a fauna aquática, como danos morfológicos e alterações metabólicas e sexuais (Santos, 2011). Quando os antimicrobianos são descartados no ambiente, podem causar toxicidade biológica, indução de resistência a antibióticos em bactérias patogênicas e genotoxicidade que é a capacidade de algumas substâncias químicas produzirem alterações genéticas (Bottoni et al., 2010; Who, 2011; Kim et al., 2012).

Contudo, a ineficiência de políticas efetivas para o recolhimento desses antimicrobianos vencidos, aumenta a chance de serem encontrados nos corpos hídricos (Lima et al., 2017), bem como, a automedicação pelo uso indiscriminado por antibióticos, estando relacionado com aumento de bactérias resistentes (Menezes et al., 2021). No Brasil, os antimicrobianos não possuem uma legislação que regulamente o monitoramento desses microcontaminantes nos corpos hídricos. No entanto, a União Europeia vem avançando na questão do controle de monitoramento, listando 15 substâncias prioritárias, com a inclusão de antibióticos e o Estado Unidos está iniciando essa regulamentação, incluiu somente um antibiótico em seu monitoramento, a eritromicina (Branco et al., 2021), sendo esse antimicrobiano detectado no esgoto bruto no estado de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Segundo Suárez et al., (2008), o conhecimento das características desses microcontaminantes é de suma importância para a validação dos mecanismos de degradação e transporte para os tratamentos sanitários.

## 5. Conclusão

Nosso experimento demonstrou que alguns antimicrobianos podem interferir no crescimento da microalga *Chlorella vulgaris*, e dessa forma podem causar alterações no ciclo de vida de outros organismos, afetando o equilíbrio da biota aquática caso sejam liberados e ou descartados de forma inadequada. Dessa forma, é de grande importância considerar e caracterizar a eficiência dos processos empregados nas estações de efluentes sanitários, com a implantação de técnicas auxiliares ao tratamento convencional, para promover a remoção total ou pelo menos uma parte desses microcontaminantes.

A presença de antimicrobianos nas matrizes aquáticas é motivo de grande preocupação, principalmente pelo risco de desenvolvimento de resistência bacteriana e pela contaminação da água destinada ao consumo humano, reforçando a importância da preservação dos recursos hídricos e sua biota. Considerando que, somente uma parte do esgoto do estado do Amapá é tratado, e em outras localidades do Brasil essa situação também ocorre, sugerimos que mais estudos sejam realizados para a implementação de medidas de monitoramento nos corpos hídricos, tendo em vista, que não há legislação específica que regule a presença dessas substâncias nesses locais.

Esperamos que as conclusões desse experimento, sirvam de alerta para a comunidade científica e instituições governamentais responsáveis para que estejam cientes ao fato de que podem haver proporções de resíduos antibióticos em nossos recursos hídricos e nos efluentes de água residuais. A realização de pesquisas com essa temática no Brasil, se faz necessária pois temos poucos dados sobre o monitoramento de antimicrobianos e principalmente no estado do Amapá, por termos o Rio Amazonas como responsável pela principal fonte de abastecimento de água para o consumo da população amapaense e a pior cobertura de rede de saneamento básico do país.

Diante do exposto, estudos futuros seriam importantes para avaliar os efeitos dos antimicrobianos na fisiologia da microalga *Chlorella vulgaris*, bem como analisar o efeito de outros poluentes emergentes e avaliar a qualidade microbiológica da água para consumo e o perfil de resistência antimicrobiana.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), e ao Programa de Pós-Graduação de Ciências Farmacêuticas (PPGCF), pelo apoio financeiro para a pesquisa, por meio da bolsa concedida a primeira autora, do Programa de Demanda Social.

## Referências

- Araújo, I. F., Loureiro, H. A., Marinho, V. H. S., Neves, F. B., Sarquis, R. S. F., Faustino, S. M. M., Yoshioka, S. A., Ferreira, R. M. A., Souto, R. N. P. & Ferreira, I. M. (2020). Larvicidal activity of the methanolic, hydroethanolic and hexanic extracts from *Acmella oleracea*, solubilized with silk fibroin, against *Aedes aegypti*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 101550. doi: 10.1016/j.bcab.2020.101550
- Associação Brasileira de Normas Técnicas, ABNT-NBR 12648. (2018). Informação e documentação: *Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlophyceae)*. Rio de Janeiro. <https://www.normas.com.br/autorizar/visualizacao-nbr/4940/identificar/visitante>
- Ayres, M. Ayres Jr. M., Ayres, D. L. & Santos, A. A. S. (2007). *Bioestat 5.0 Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas*. Belém, Pará: IDSM.
- Barros Neto, B., Scarmínio, I. S. & Bruns, R. E. (2010). *Como fazer experimentos*. Porto Alegre: Bookman.
- Branco, N. M. C., Albert, A. L. M. & Romão, C. M. C. P. A. (2021). Poluentes emergentes: Antimicrobianos no ambiente, a educação ambiental e o aspecto regulatório nacional e internacional. *Research, Society and Development*, 10(8), 1-13. doi: 10.33448/rsd-v10i8.17083
- Branco, N. M. C., Pereira, M. G., Ferreira, R. G., Spisso, B. F., Albert, A. L. M. & Romão, C. M. C. P. A. (2021). Ocorrência de antimicrobianos em águas superficiais e residuais do Município do Rio de Janeiro: uma questão de vulnerabilidade ambiental e de saúde pública. *Research, Society and Development*, 10(10), 1-15. doi: 10.33448/rsd-v10i10.19000
- Bottoni, P., Caroli, S. & Caracciolo, A. B. (2010) Pharmaceuticals as priority water contaminants. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 92(3), 549-565. doi: 10.1080/02772241003614320
- Chaves, J. R. (2020). *Ocorrência de fármacos em mananciais e abastecimento e em água para consumo humano: Complexo Bolonha, Belém*. Dissertação (Mestrado no Instituto de Tecnologia). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Pará.
- Cheng, J., Ye, Q., Yang, Z., Yang, W., Zhou, J. & Cen, K. (2017). Microstructure and antioxidant capacity of the mutant microalgae *Chlorella* PY-ZU1 during the removal of tilmicosin from wastewater under 15% CO<sub>2</sub>. *Journal of Hazardous Materials*, 324, 414-419. doi: 10.1016/j.jhazmat.2016.11.006
- Crane, M., Watts, C. D. & Boucard, T. (2006). Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals. *Science of the Total Environment*, 367(1), 23-41. doi: 10.1016/j.scitotenv.2006.04.010
- Crestana, G. B. & Silva, J. H. (2011). Fármacos residuais: Panorama de um cenário negligenciado. *Revista Internacional de Direito e Cidadania*, (9): 55-65.
- Dias, R. V. V. (2014). *Avaliação da ocorrência de microcontaminantes emergentes em sistemas de abastecimento de água e da atividade estrogênica do estinilestradiol*. 158 p. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Drillet, G. S., Frouël, M. H., Sichlau, P. M., Jepsen, J. K., Højgaard, A. K., Joarder & Hanser, B. W. (2011). Status and recommendations on marine copepod cultivator for use as live feed. *Aquaculture*, 315, 155-166. doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.02.027
- Gavrilescu, M., Demnerová, K., Asmad, J., Agathos, S. & Fava, F. (2015). Emerging pollutants in the environment: Present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New Biotechnology*, 32(1), 147-156. doi: 10.1016/j.nbt.2014.01.001
- Grinten, E., Pikkemaat, M. G., Van Den Brandhof, E. J., Stroomborg, G. J. & Kraak, M. H. (2010). Comparing the sensitivity of algal, cyanobacterial and bacterial bioassays to different groups of antibiotics. *Chemosphere*, 80(1), 1-6. doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.04.011
- Guo, J. (2015). *Impact of Pharmaceuticals on Algal Species*. 242 p. PhD thesis, University of York.
- Jank, L., Hoff, R. B., Costa, F. J. & Pizzolato, T. M. (2014). Simultaneous determination of eight antibiotics from distinct classes in surface and wastewater samples by solid-phase extraction and high performance liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 94(10), 1013-1037. doi: 10.1080/03067319.2014.914184
- Kim, T. H., Kim, S. D., Kim, H. Y., Lim, S. J., Lee, M. & Yu, S. (2012) Degradation and toxicity assessment of sulfamethoxazole and chlortetracycline using electron beam, ozone and UV. *Journal of Hazardous Materials*, 227-228, 237-242. doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.05.038
- Kummerer, K. (2010). Pharmaceuticals in the Environment. *Annual Review of Environment and Resources*, 35, 57-75. doi: 1543-5938/10/1121-0057

- Lai, H. T., Hou, J. H., Su, C.I. & Chen, C. L. (2009). Effects of chloramphenicol, florfenicol, and thiamphenicol on growth of algae *Chlorella pyrenoidosa*, *Isochrysis galbana*, and *Tetraselmis chui*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(2), 329-34. doi: 10.1016/j.ecoenv.2008.03.005
- Lima, D. R. S., Tonucci, M. C., Libânio, M. & Aquino, S. F. (2017). Fármacos e desreguladores endócrinos em águas brasileiras: ocorrência e técnicas de remoção. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 22(6), 1043-1054. doi: 10.1590/S1413-41522017165207
- Locatelli, M. A. F., Sodré, F. F. & Jardim, W. F. (2011). Determination of antibiotic in Brazilian surface Waters using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Archives of Environment Contamination and Toxicology*, 60(3), 385-393. doi: 10.1007/s00244-010-9550-1
- Lourenço, S. O. (2006). *O cultivo de microalgas marinhas – princípios e aplicações*. São Carlos: RiMa.
- Melo, S. A. S., Trovó, A. G., Bautitz, I. R. & Nogueira, R. F. P. (2009). Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. *Química Nova*, 32(1), 188-197. doi: 10.1590/S0100-40422009000100034
- Menezes, A. S., Bonanni, I. A., Souza, M. S. G. C., Carneiro, S. V. G., Alves, S. M., Oliveira, T. A. & Souza, M. B. R. (2021). A automedicação da população mundial: uma revisão integrativa. *Research, Society and Development*, 10(10), 1-9. doi: 10.33448/rsd-v10i10.18660
- Miao, M. S., Liu, Q., Shu, L., Wang, Z., Liu, Y. Z. & Kong, Q. (2016). Removal of cephalexin from effluent by activated carbon prepared from aligátor weed: Kinetics, isotherms, and thermodynamic analysis. *Process Safety and Environmental Protection*, 104, 481-489. Doi: 10.1016/j.psep.2016.03.017
- Michael, I., Rizzo, L., McArdell, C. S., Manaia, C. M., Merlin, C., Schwart, T., Dagot, C. & Fatta-Kassinos, D. (2013). Urban wastewater treatment plants as hotspots for release of antibiotics in the environment: a Review. *Water Research*, 47(3), 957-995. doi: 10.1016/j.watres.2012.11.027
- Monteiro, S. C. & Boxall, A. B. A (2010). Occurrence and fate of human pharmaceuticals in the environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 202(1), 53-145. doi: 10.1007/978-4419-1157-6\_2
- Monteiro, M. A., Spisso, B. F., Santos, J. R. M. P., Costa, R. P., Ferreira, R. G., Pereira, M. U., Miranda, T. S., Andrade, B. R. G. & D'Avila, L. A. (2016). Occurrence of antimicrobials in river water samples from rural region of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Environment Protection*, 7230-241. doi: 10.4236/jep.2016.72020
- Neve e Castro, P. B. N., Rodrigues, D. A. S., Roeser, H. M. P., Santiago, A.F. & Afonso, J.R.C.F. (2020). Antibiotic consumption in developing countries defies global commitments: an overview on Brazilian growth in consumption. *Environment Science and Pollution Research*, 27(17), 21013-21020. doi: 10.1007/s11356-020-08574-x
- Oliveira, A. E. M. F. M., Duarte, J. L., Cruz, R. A. S., Souto, R. N. P., Ferreira, R. M. A., Peniche, T., Conceição, E. C., Oliveira, L. A. R., Faustino, S. M. M., Florentino, A. C., Carvalho, J. C. T. & Fernandes, C. P. (2017). *Pterodon emarginatus* oleoresin-based nanoemulsion as a promising tool *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) control. *Journal of Nanobiotechnology*, 15(2). doi: 10.1186/s12951-016-0234-5
- Pérez-Parada, A. Agüera, A., Gómez-Ramos, M. D. M., García-Reyes, J. F., Heinzen, H. & Fernández-Alba, A. R. (2011). Behavior of amoxicillin in wastewater and river water: identification of its main transformation products by liquid chromatography/electrospray quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 25(6), 731-742. doi: 10.1002/rcm.4902
- Pessoa, L. Z. S., Duarte, J. L., Ferreira, R. M. A., Oliveira, A. E. M. F. M., Cruz, R. A. S., Faustino, S. M. M., Carvalho, J. C. T., Fernandes, C. P., Souto, R. N. P., Araújo, R. S. (2018). Nanosuspension of quercetin: preparation, characterization and effects against *Aedes aegypti* larvae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 28(5), 618-625. doi: 10.1016/j.bjp.2018.07.003
- Quaresma, A. V. (2014). *Monitoramento de microcontaminantes orgânicos por métodos cromatográficos acoplados a espectrometria de massa e elementos inorgânicos por fluorescência de raio-X por reflexão total nas águas da bacia do Rio Doce*. 186 p. Dissertação (mestrado em Engenharia Ambiental e Sanitária). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto.
- Queiroz, F. B., Brandt, E. M. F., Aquino, S. F., Chemicharo, C. A. L. & Afonso, R. J. C. F. (2012). Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disruptors in raw sewage and their behavior in UASB reactors operated at different hydraulic retention times. *Water Science & Technology*, 66(12), 2562-2569. doi: 10.2166/wst.2012.482
- Queiroz, F. B., Silvia, J. C., Aquino, S. F., Coutrim, M. X. & Afonso, R. J. C. F. (2014). Determination of endocrine disruptors and pharmaceuticals in sewage samples by tandem solid phase clean up/Extraction and high performance liquid chromatography-negative and positive electropray high-resolution mass spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 25(2), 298-312. doi: 10.5935/0103-5053.20130297
- Rodrigues, K. L. T. (2012). *Desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação simultânea de microcontaminantes emergentes em águas superficiais por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas*. 156p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto.
- Santos, H. M. L. M., Araújo, A. N., Fachini, A., Delerue-Matos, C. & Montenegro, C. B. S. M. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 175, 45-95. Doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.10.100
- Santos, E. P. C. C. (2011). *Remoção de etinilestradiol no tratamento de água para o consumo humano: estudo em escala piloto*. 150p. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Severino, A. J. (2018). *Metodologia do trabalho científico*. São Paulo: Cortez.
- Silva, L. F. (2016). *Análise Quimiométrica da distribuição de Quimioterápicos Antimicrobianos (Fluoroquinolonas e Sulfonamidas) na Baía de Ubatuba-SP*. 63 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Snis, Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. (2020). *Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgoto 2020*. Ministério do Desenvolvimento Regional. <http://www.snis.gov.br/diagnósticos/agua-e-esgotos>.

Suárez, S., Carballa, M., Omil, F. & Lema, J. M. (2008). How are pharmaceutical and personal care products (PPCPs) removed from urban wastewaters? *Reviews in Environment Science and Biotechnology*, 7, 125-138. doi: 10.1007/s11157-008-9130-2

Torres, N. H. (2014). *Determinação de hormônios e antimicrobianos no Rio Piracicaba e testes de toxicidade aguda com Daphnia magna*. 100f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo.

Wang, J. & Chu, L. (2016). Irradiation treatment of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in water and wastewater: An overview. *Radiation Physics and Chemistry*, 125, 56-64. doi: 10.1016/j.radphyschem.2016.03.012

Who. (2011). *Guidelines for drinking-water quality*. Geneva: World Health Organization.

Yamamoto, M. Fujishita, M., Hirata, A. & Kawano, S. (2004). Regeneration and maturation of daughter cell walls in the autospore-forming green alga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Journal of Plant Research*, 117(4), 257-64. doi: 10.1007/s10265-004-0154-6