

Medicamentos antirretrovirais: concentração ambiental estimada e avaliação de risco ecológico em Estações de Tratamento de Esgotos de Cubatão, São Paulo, Brasil

Antiretroviral drugs: predicted environmental concentration and ecological risk Assessment in Sewage Treatment Plants in Cubatão, São Paulo, Brazil

Medicamentos antirretrovirales: concentración ambiental estimada y evaluación del riesgo ecológico en Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales en Cubatão, São Paulo, Brasil

Recebido: 03/03/2022 | Revisado: 12/03/2022 | Aceito: 17/03/2022 | Publicado: 25/03/2022

André Luiz de Freitas Marzabal

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4055-7124>

Universidade Santa Cecília, Brasil

Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, Brasil

E-mail: freitasmarzabal@yahoo.com.br

Vinicius Roveri

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7812-8467>

Universidade Metropolitana de Santos, Brasil

Universidade Fernando Pessoa, Portugal

Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Portugal

E-mail: viniciusroveri@bol.com.br

Monike Silva de Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6583-1257>

Universidade Santa Cecília, Brasil

E-mail: monikesfreitas@yahoo.com.br

Walber Toma

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5265-7739>

Universidade Santa Cecília, Brasil

E-mail: walbertoma@gmail.com

Luciana Lopes Guimarães

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7230-9571>

Universidade Santa Cecília, Brasil

E-mail: lucianafarm@unisanta.br

Resumo

Os modelos preditivos têm sido mundialmente utilizados como uma importante abordagem para investigar a presença de fármacos nos ecossistemas aquáticos, principalmente através do descarte de efluentes gerados por Estações de Tratamento de Esgoto (ETE). Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi estimar as concentrações ambientais e os potenciais riscos ecológicos de quatorze medicamentos antirretrovirais (ARV) lançados nos ecossistemas aquáticos de Cubatão, através de duas ETE. A Concentração Ambiental Estimada (CAE) dos ARVs foi calculada de acordo com as diretrizes da Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e a partir dos dados obtidos foi realizada a avaliação de risco ecológico (ARE) considerando três níveis tróficos: algas, crustáceos e peixes. Os resultados indicaram que os quatorze ARVs (CAE entre 0,05 e 20,29 µg/L) excederam os limites de segurança ecológica estabelecidos pela diretiva EMA. Os resultados da ARE demonstraram a seguinte tendência: 71,43% das avaliações indicaram risco agudo alto para os três níveis tróficos testados. Em relação à toxicidade crônica, 57,14% das avaliações também indicaram altos riscos. Os dados obtidos permitiram a criação de uma lista de priorização dos ARVs mais tóxicos. O ranking final dos ARVs mais tóxicos ficou assim estabelecido: Lopinavir e Ritonavir (1ª colocação); Maraviroque (2ª colocação); Efavirenz, Darunavir, Dolutegravir e Zidovudina (3ª colocação); Atazanavir, Etravirina e Nevirapina (4ª colocação); Abacavir, Raltegravir e Tenofovir (5ª colocação) e, por fim, a Lamivudina, que indicou a menor preocupação ambiental. Os dados obtidos poderão fornecer subsídios para o planejamento de ações visando a melhoria da qualidade dos ecossistemas costeiros e marinhos do país.

Palavras-chave: Fármacos no meio ambiente; Antirretrovirais; Concentração ambiental estimada; Risco Ecológico.

Abstract

Predictive models have been used worldwide as an important approach to investigate the presence of drugs in aquatic ecosystems, mainly due to the disposal of effluents generated by Sewage Treatment Plants (STP). The objective of this study was to estimate the environmental concentrations and potential ecological risks of fourteen antiretroviral drugs (ADs), which are released in the aquatic ecosystems of Cubatão, through two STPs. The Predicted

Environmental Concentration (PEC) was calculated according to the guidelines of the European Medicines Agency (EMA) and the Ecological Risk Assessment (ERA) was predicted considering three trophic levels: algae, crustaceans and fish. The results indicated that the fourteen ADs (PEC ranges between 0.05 and 20.29 µg/L) exceeded the ecological safety limits established by the EMA guideline (PEC > 0.01 µg/L). After performing the ERA, the results showed the following trend: (i) 71.43% of the assessments indicated high acute risk for the three trophic levels tested. Regarding chronic toxicity, 57.14% of the evaluations also indicated high risks. Based on the results a prioritization list of the most toxic ADs was created. The final ranking of the most toxic ADs was established as follows: 1st place, Lopinavir and Ritonavir (top priority); Maraviroc (2nd place); Efavirenz, Darunavir, Dolutegravir and Zidovudine (3rd place); Atazanavir, Etravirine and Nevirapine (4th place); Abacavir, Raltegravir and Tenofovir (5th place) and, finally, Lamivudine, which indicated the least environmental concern. The data obtained may provide subsidies for the planning of actions aimed at improving the quality of coastal and marine ecosystems in the country.

Keywords: Drugs in the environment; Antiretrovirals; Predicted environmental concentration; Ecological Risk.

Resumen

Los modelos predictivos se han utilizado en todo el mundo como un enfoque importante para investigar la presencia de drogas en los ecosistemas acuáticos, principalmente a través de la disposición de efluentes generados por las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (ETE). El objetivo del presente estudio fue estimar las concentraciones ambientales y los riesgos ecológicos potenciales de catorce medicamentos antirretrovirales (ARV) liberados en los ecosistemas acuáticos de Cubatão, a través de dos ETE. La Concentración Ambiental Estimada (CAE) se calculó según las directrices de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y se realizó una evaluación de riesgo ecológico (ARE) considerando tres niveles tróficos. Los resultados indicaron que los catorce ARV excedieron los límites de seguridad ecológica establecidos por la guía EMA. Los resultados del ARE mostraron la siguiente tendencia: el 71,43% de las evaluaciones indicaron riesgo agudo alto para los tres niveles tróficos evaluados. En cuanto a la toxicidad crónica, el 57,14% de las valoraciones también indicaron riesgos elevados. Los datos obtenidos permitieron la creación de una lista de priorización de los ARV más tóxicos. La clasificación final de los ARV más tóxicos quedó establecida de la siguiente manera: Lopinavir y Ritonavir (1er lugar); Maraviroc (2do lugar); Efavirenz, Darunavir, Dolutegravir y Zidovudine (3er lugar); Atazanavir, Etravirina y Nevirapina (4º lugar); Abacavir, Raltegravir y Tenofovir (5º lugar) y, finalmente, Lamivudina, que indicó la menor preocupación ambiental. Los datos obtenidos podrán brindar subsidios para la planificación de acciones encaminadas a mejorar la calidad de los ecosistemas costeros y marinos del país.

Palabras clave: Drogas en el medio ambiente; Antirretrovirales; Concentración ambiental estimada; Riesgo Ecológico.

1. Introdução

Em todo o mundo, apesar dos esforços generalizados para controlar a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) uma condição crônica, potencialmente fatal, causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), a luta contra esta doença continua sendo um sério desafio para a saúde pública (Unaid, 2020). Desde o primeiro diagnóstico, em 1980, o vírus HIV matou mais de 25 milhões de pessoas em todo mundo (Unaid, 2020).

Especificamente no Brasil, a doença também causa sérias preocupações para a saúde pública. Em uma escala global, Brasil está em uma lista de 15 países que representam cerca de 75% do número de pessoas vivendo com HIV no planeta (Unaid, 2020). Em uma escala regional, o país responde por cerca de 49% de todas as novas infecções estimadas na América Latina (Unaid, 2020). Entre 1980 e 2019, foram registrados mais de 960.000 casos de contaminação pelo vírus HIV em todo o país. Somente em 2017, foram estimadas 48.000 novas infecções por HIV e 14.000 mortes relacionadas à AIDS (Benzaken et al., 2019; Mangal et al., 2019; Unaid, 2020).

Com o advento da Lei nº 9.313/1996 (conhecida como Lei Sarney), os medicamentos antirretrovirais (ARV) passaram a ser distribuídos gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (Brasil, 2017). Atualmente, o orçamento do Programa Brasileiro de HIV/AIDS é de aproximadamente US\$ 408 milhões por ano, onde cerca de US\$ 302 milhões são destinados exclusivamente aos ARV (Benzaken et al., 2019). O SUS conta com uma infraestrutura de 953 centros oficiais de distribuição dos ARV, fazendo com que estes medicamentos cheguem a todos os 5.570 municípios do país (Brasil, 2017; Benzaken et al., 2019).

A descoberta da terapia antirretroviral (TARV) no início dos anos 2000, foi um importante avanço no cuidado e

tratamento de pessoas vivendo com HIV (Phillips et al., 2017). A TARV tem como objetivo a redução da carga viral, melhorando o sistema imunológico do hospedeiro (Phillips et al., 2017; Benzaken et al., 2019; Mangal et al., 2019). Com base em seu mecanismo molecular de ação, três classes de ARV são amplamente utilizadas em todo o mundo: (i), os inibidores de transcriptase reversa nucleosídeo/nucleotídeo (em inglês NRTI: Nucleoside reverse transcriptase inhibitors), representadas por ARV como o Abacavir, o Lamivudina, o Tenofovir e a Zidovudina; (ii) os inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa (em inglês NNRTI: Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors), nomeadamente, Efavirenz, Etravirina e Nevirapina; e (iii) os inibidores de protease (em inglês PI: protease inhibitor), nomeadamente Atazanavir, Darunavir, Lopinavir e Ritonavir. Cada uma dessas classes, tem como alvo uma fase do ciclo de vida do vírus HIV (Phillips et al., 2017; Benzaken et al., 2019; Mangal et al., 2019). Os avanços no tratamento com a TARV, essencialmente após o desenvolvimento da Terapia Antirretroviral de Alta Atividade (do inglês HAART: highly active antiretroviral therapy), um regime de tratamento que compreende a combinação de três ou mais ARV, permitiu transformar uma doença intratável, em uma doença crônica gerenciável (Phillips et al., 2017; Benzaken et al., 2019; Mangal et al., 2019).

Embora os ARV tenham se tornado uma solução para o tratamento da HIV/AIDS, nos últimos anos, a sua presença nas diferentes matrizes ambientais tornou-se uma grande preocupação ambiental. Depois de consumidos, os ARV são apenas parcialmente metabolizados pelos organismos humanos. Consequentemente, uma parcela destes medicamentos é excretada pelos organismos humanos, sendo, portanto, direcionadas para as Estações de Tratamento de Esgotos (ETE). Estas ETE, por sua vez, não são projetadas para a remoção destes micropoluentes orgânicos, fazendo com que uma significativa carga destes poluentes emergentes, sejam continuamente lançadas nos ecossistemas aquáticos (Nannou et al., 2019; Omotola e Olatunji, 2019; Redd et al., 2021).

Estudos com o objetivo de identificar a ocorrência e o risco ecológico dos ARV em ETE, têm aumentado nos Estados Unidos, na Europa (nomeadamente: Alemanha, Polônia e Finlândia), Japão, mas principalmente na África, com destaque para a África do Sul e o Quênia (Nannou et al., 2019; Omotola & Olatunji, 2019; Redd et al., 2021). À exceção do estudo conduzido por Cid et al. (2021), que estimaram a concentração e o risco ecológico potencial de treze ARV nas águas superficiais da Baía de Santos, litoral de São Paulo, Brasil, os estudos sobre os riscos dos ARV nos ecossistemas costeiros do país, são praticamente inexistentes (Nannou et al., 2019; Omotola & Olatunji, 2019; Redd et al., 2021).

Diante deste contexto, o presente estudo tem como objetivo geral estimar as concentrações ambientais e os potenciais riscos ecológicos de quatorze ARV utilizados no tratamento da HIV/AIDS no Brasil, e que são comumente lançados nos ecossistemas aquáticos de Cubatão, litoral de São Paulo, através de duas ETE, nomeadamente as ETE Lagoa e a ETE Casqueiro. Desta maneira, os objetivos específicos foram: (i) Calcular a Concentração Ambiental Estimada (CAE) dos quatorze ARV, de acordo com as diretrizes da Agência Europeia de Medicamentos (EMA); (ii) Prever, através da Avaliação de Risco Ecológico (ARE), os potenciais riscos agudos e crônicos destes ARV, considerando três níveis tróficos: algas, crustáceos e peixes; (iii) Criar uma lista de priorização dos ARV mais tóxicos, a partir das propriedades intrínsecas destes compostos, ou seja: persistência (P), bioacumulação (B) e toxicidade (T).

Os dados obtidos poderão fornecer subsídios para o planejamento de ações visando a melhoria da qualidade dos ecossistemas costeiros e marinhos do país. Essas ações devem envolver a implementação de programas de monitoramento ambiental para o rastreamento dos ARV nas áreas costeiras.

2. Metodologia

2.1 Concentração Ambiental Estimada (CAE)

Para este fim, foram realizados cálculos da CAE de cada um dos 14 medicamentos: Abacavir, Atazanavir, Darunavir, Dolutegravir, Efavirenz, Etravirina, Lamivudina, Lopinavir, Ritonavir, Maraviroque, Nevirapina, Raltegravir, Tenofovir e

Zidovudina. A CAE baseia-se em uma substância medicamentosa, não considerando sua rota de administração, fórmula, excreção e demais aspectos. Dessa forma, é possível verificar sua exposição em variados ambientes que podem ser lançados (Chmp, 2006).

Para o cálculo da CAE, foram seguidas as diretrizes determinadas pela EMEA, que especifica valores potenciais de risco de fármacos no ambiente, evidenciando seu potencial risco ecológico (Chmp, 2006).

A fórmula especificada para CAE é (Eq. 1):

$$\text{CAE águas superficiais} = \frac{\text{Dose máxima consumida por habitante (mg)} \times \text{Fpen}}{\text{resíduos líquidos (L)/habitante} \times \text{fator de diluição}} \quad (\text{Eq. 1})$$

Sendo que:

Fpen = fator de penetração no mercado

O Fpen por sua vez, é cálculo mediante a fórmula (Eq. 2):

$$\text{Fpen [\%]} = \frac{\text{consumo (mg/ano)} \times 100}{\text{DDD (mg/dxhab)} \times \text{Pop} \times 365 \text{ dias}} \quad (\text{Eq.2})$$

Sendo que:

DDD = Dose Diária Definida (segundo Organização Mundial da Saúde).

Pop = número de habitantes da cidade.

Com base na Lei de Acesso à Informação (LAI) nº 12.527/2011, foi realizado requerimento junto a Prefeitura Municipal de Cubatão, sendo o Departamento de Vigilância em Saúde Epidemiológica fornecedor dos dados de saída anual dos ARV que aqui foram utilizados para o cálculo da CAE.

Cubatão é atendida por duas ETE, nomeadamente a ETE Casqueiro e a ETE Lagoa. Os dados de ambos os sistemas de tratamento foram obtidos em publicações disponíveis (online) da Companhia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (SABESP) (Sabesp, 2018).

A ETE Casqueiro, utiliza o Rio Santana como corpo receptor, realizando o tratamento dos esgotos através de Lodo Ativado, um sistema muito comum em cidades de médio e grande porte do Brasil. A ETE Lagoa de Cubatão, por sua vez, tem como corpo receptor o rio Cubatão. Nesta ETE, o tratamento de esgotos é realizado através de uma Lagoa aerada e facultativa, seguida de decantação (Sabesp, 2018).

Pelo fato do município de Cubatão possuir estas 2 ETE, optou-se neste estudo por calcular a CAE considerando a soma entre os dados de ambas as estações de tratamento. Ou seja:

(i) Σ população atendida (ETE Lagoa: 42.513 habitantes + ETE Casqueiro: 18.851 habitantes = 61.364 habitantes) (Sabesp, 2018);

(ii) Σ resíduos líquidos (ETE Lagoa: 413.780 + ETE Casqueiro: 392.744 = 806,524 L/habitante/dia) (Sabesp, 2018).

A EMEA estabelece que se o valor da CAE for inferior a 0,01 µg/L, há uma provável indicação de baixo risco ecológico associado ao medicamento. No entanto, se o valor da CAE equivale ou supera o limite estabelecido, torna-se necessário uma segunda fase avaliativa, para especificar os potenciais riscos para as espécies aquáticas (Chmp, 2006).

2.2 Avaliação de Risco Ecológico (ARE)

A Avaliação de Risco Ecológico (ARE) para cada um dos 14 ARV foi realizada calculando o quociente de risco (QR) para três níveis tróficos, ou seja: algas, crustáceos e peixes.

O QR é obtido através da seguinte equação (Eq. 3) :

$$\text{QR} = \frac{\text{CAE}}{\text{CPSE}} \quad (\text{Eq. 3})$$

Sendo que:

QR = Quociente de Risco;

CAE = Concentração Ambiental Estimada (em inglês PEC: *Predicted Environmental Concentrations*);

CPSE = Concentração Previsível Sem Efeitos (em inglês PNEC: *predicted no-effect concentration*).

Os valores de CAE e CPSE foram expressos em $\mu\text{g/L}$. Os valores de CPSE foram obtidos a partir de dados de ecotoxicidade de:

(i) curto prazo [concentração média letal - LC50 (Lethal Concentration 50%) ou concentração efetiva de 50%: EC50 (50% Effective Concentration)];

(ii) longo prazo [concentração sem efeito observado - NOEC (No Observed Effect Concentration)]. Na ausência do NOEC, utilizou-se a menor concentração de efeito observado - LOEC (Lowest Observed Effect Concentration).

Devido ao fato de que os efluentes das ETE de Cubatão, desembocam nos ecossistemas costeiros e marinhos da Região Metropolitana da Baixada Santista, foi decidido medir o QR através da seleção de espécies marinhas. De acordo com os estudos existentes e as práticas atuais de avaliação de risco marinho, existe uma correlação razoável entre as respostas ecotoxicológicas da biota de água doce e salgada, pelo menos para os táxons aquáticos usuais (ou seja, toxicidade aguda e crônica para algas, crustáceos e peixes) (Chmp, 2006).

Neste contexto, foi feita uma tentativa de compilar dados de CPSE específicos para espécies marinhas costeiras. Quando esses dados não estavam disponíveis, foram usados dados de comunidades de água doce. Parâmetros toxicológicos de curta [L(E)C50] e longa exposição [ChV (Chronic Values), média geométrica de NOEC e LOEC, representada pela equação: $\text{ChV} = 10^{([\log(\text{NOEC} \times \text{LOEC})]/2)}$] foram estimados usando o programa EPI Suite (Estimation Program Interface Suite) (EPI Suite™, v4.11), desenvolvido pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) e pela Syracuse Research Corporation (SRC). Através do EPI Suite, foi acessado o modelo de Relacionamentos de Atividades de Estrutura Ecológica (ECOSAR™), (Usepa, 2017).

Seguindo as diretrizes da Agência Europeia de Química (Ec, 2003) e da Agência Europeia de Produtos Químicos (Echa, 2008), os valores de CPSE para os dados de toxicidade aguda e crônica foram depois calculados dividindo cada valor individual por um fator de avaliação (FA). Para ambientes de água salgada, um FA de 10.000 e 100 devem ser considerados para exposições de curto e longo prazo, respectivamente. Finalmente, os riscos dos ARV foram classificados em quatro níveis: ausência ($\text{QR} < 0,01$; indicado em branco), baixo ($0,01 \leq \text{QR} < 0,1$; indicado em verde), moderado ($0,1 \leq \text{QR} < 1,0$; indicado em amarelo) e alto risco ecológico ($\text{QR} \geq 1,0$; indicado em vermelho).

2.3 Critérios de ocorrência, persistência, bioacumulação e toxicidade (OPBT)

A metodologia utilizada para a priorização dos ARV mais tóxicos, foi baseada na diretriz da EMEA (Chmp, 2006) e

aplicada por Reis et al. (2021). Os ARV foram caracterizados de acordo com quatro critérios: ocorrência (O), persistência (P), bioacumulação (B) e toxicidade (T), ou seja, OPBT.

O critério de ocorrência baseou-se na CAE dos 14 antirretrovirais estimados nas ETEs de Cubatão (concentrações expressas em µg/L).

Os parâmetros PBT foram obtidos pelo método de modelagem Relações Estrutura-Atividade (QSAR) e gerados no programa EPI Suite (Usepa, 2017). No EPI Suite, o critério de persistência, e os respectivos valores de biodegradação final foram estimados usando o modelo BIOWINTM. Para o critério de bioacumulação, foi utilizado o modelo BCFBAFTM para obtenção do fator de bioconcentração (BCF) dos ARV selecionados. Em relação à toxicidade, foi utilizado o modelo ECOSARTM, conforme detalhado na seção 2.2 (Usepa, 2017).

A partir desta caracterização, a cada ARV foram atribuídas pontuações de 1 a 4, sendo que quanto maior for a pontuação, maior será a preocupação ambiental (Tabela 1). A classificação final foi então obtida pela soma das pontuações dos quatro critérios (Reis et al., 2021).

Tabela 1. Critérios e pontuações finais do método OPBT (ocorrência, persistência, bioacumulação e toxicidade), usado para a priorização dos ARV mais tóxicos.

Propriedades	Critérios	Pontuações
Ocorrência (O)	CAE > 100	4
	10 < CAE ≤ 100	3
	1 < CAE ≤ 10	2
	CAE ≤ 1	1
Persistência (P)	BIOWIN2 < 0,5 ou BIOWIN6 < 0,5 e BIOWIN3 < 2,2	4
	2,2 ≤ BIOWIN3 < 3,0	3
	3,0 ≤ BIOWIN3 < 3,5	2
	BIOWIN3 ≥ 3,5	1
Bioacumulação (B)	BCF > 2000	4
	1500 < BCF ≤ 2000	3
	1000 < BCF ≤ 1500	2
	BCF ≤ 1000	1
Toxicidade (T)	ChV < 0,1	4
	0,1 ≤ ChV < 1	3
	1 ≤ ChV < 10	2
	ChV ≥ 10	1

Nota: CAE expressa em µg/L; Toxicidade crônica (ChV) expressa em mg/L; Nível de preocupação: 4 é o máximo e 1 é o mínimo. Referência para pesquisa no programa EPI Suite: a) BIOWIN2: non-linear model; b) BIOWIN3: ultimate biodegradation; c) BIOWIN6: MITI non-linear model; d) Fator de bioconcentração (BCF) expressa em L (kg wet-wt-1) (Usepa, 2017). Fonte: Autores.

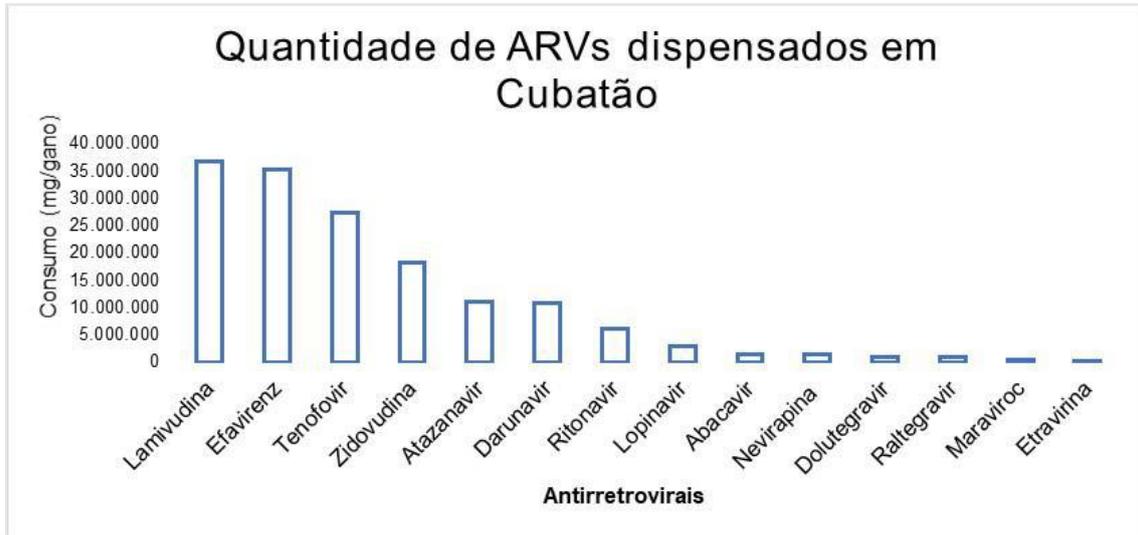
3. Resultados e Discussão

3.1 Concentração Ambiental Estimada (CAE)

Os modelos preditivos têm sido utilizados como uma importante abordagem para investigar a presença de medicamentos nos ecossistemas aquáticos, principalmente em decorrência do descarte de efluentes gerados por hospitais e ETE municipais (Escher et al., 2011; Ncube et al., 2018; Cid et al., 2021). Neste contexto, pela primeira vez na cidade de Cubatão, a CAE de 14 ARV foi investigada.

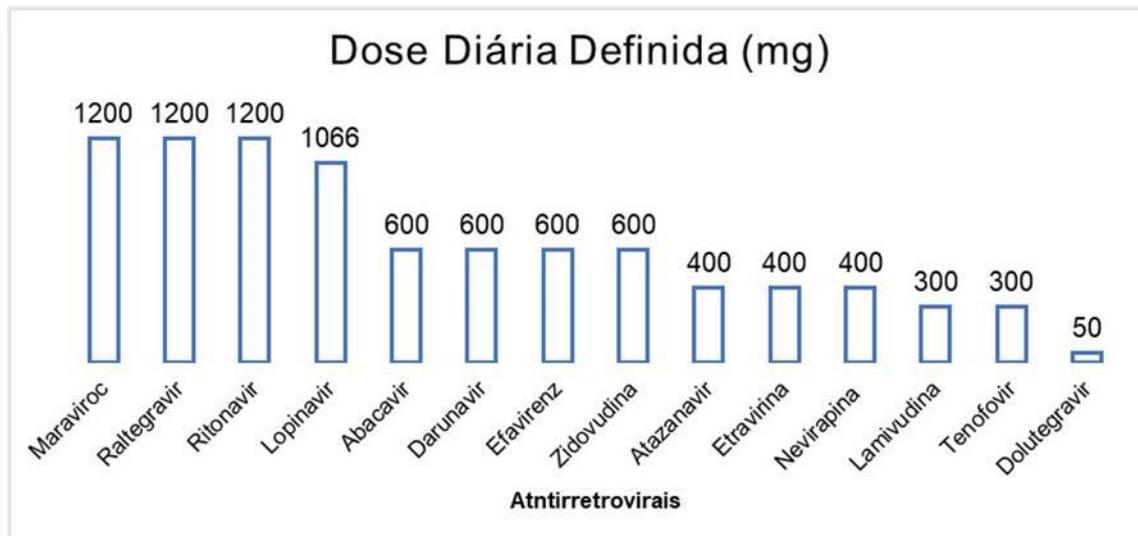
Na Figura 1, são apresentadas as quantidades de ARV dispensados/consumidos na cidade de Cubatão. Já na Figura 2, são apresentadas as Doses Diárias Definidas (DDD) para os principais ARV dispensados anualmente no município de Cubatão.

Figura 1. Quantidade de ARV dispensados/consumidos na cidade de Cubatão.



Fonte: Autores.

Figura 2. Dose diária definida para os principais ARV dispensados anualmente no município de Cubatão.



Fonte: Autores.

A população de Cubatão atendida pelas ETE Casqueiro e ETE Lagoa, totalizam 61.364 habitantes. Conforme dados da Sabesp (2018), a quantidade total de resíduos líquidos de ambas as ETE são de 806.524 L/habitante/dia. O fator de diluição utilizado foi de 10, obtendo os seguintes valores de Fpen e CAE (Tabela 2).

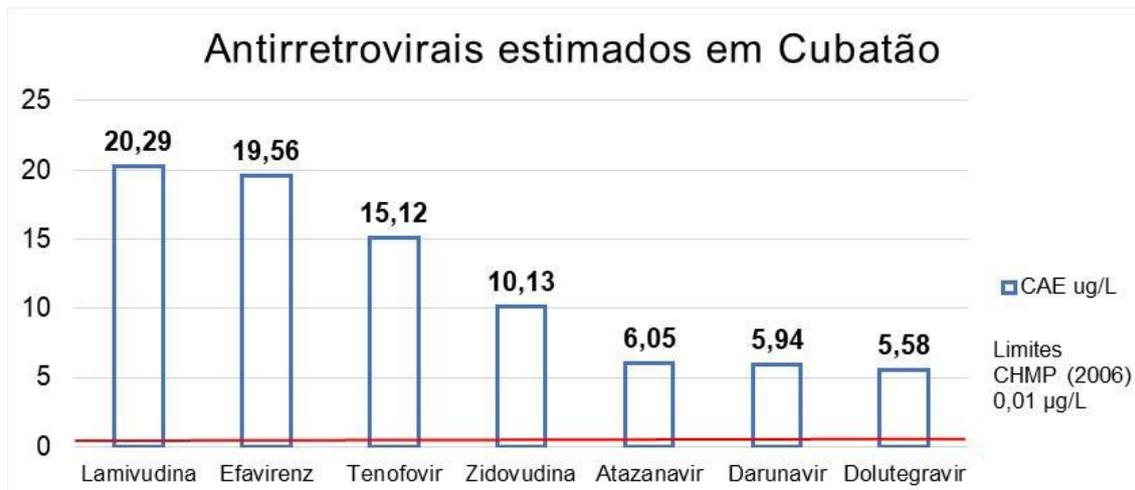
Tabela 2. Valores de *Fpen e *CAE para os 14 ARV estimados em Cubatão.

Antirretroviral	*Fpen (%)	CAE ug/L
Abacavir	0,010	0,76
Atazanavir	0,122	6,05
Darunavir	0,080	5,94
Dolutegravir	0,900	5,58
Efavirenz	0,263	19,56
Etravirina	0,001	0,05
Lamivudina	0,545	20,29
Lopinavir	0,012	1,64
Ritonavir	0,022	3,35
Maraviroque	0,001	0,16
Nevirapina	0,014	0,71
Raltegravir	0,003	0,49
Tenofovir	0,406	15,12
Zidovudina	0,136	10,13

*Fpen = fator de penetração no mercado; *CAE, concentração ambiental prevista. Fonte: Autores.

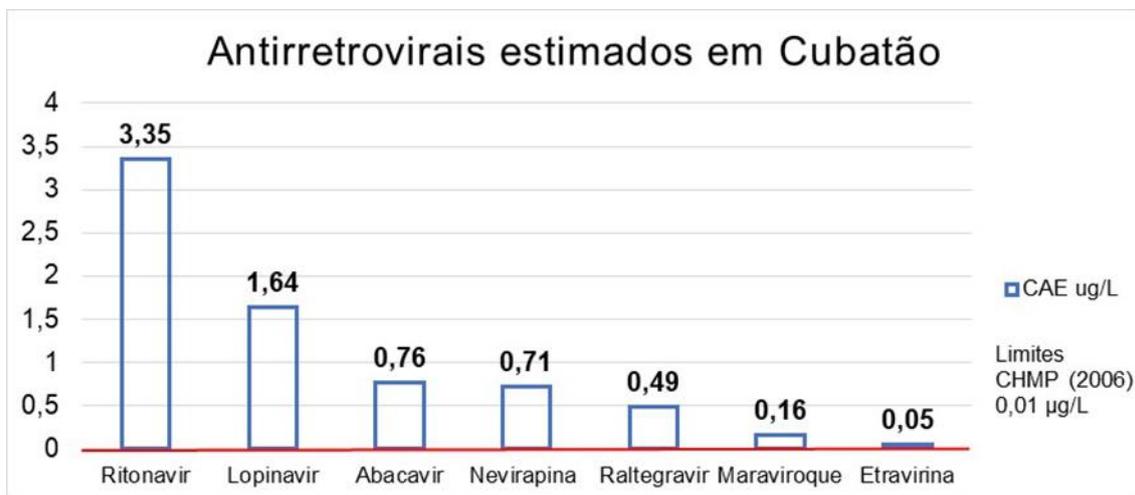
Nas Figuras 3 e 4, são apresentados os resultados dos 14 ARV, ordenados da maior para a menor CAE estimada. A partir destas figuras, é possível notar que os cinco medicamentos mais distribuídos para o tratamento de HIV/AIDS em Cubatão e, por conseguinte, os que apresentaram as maiores CAE foram: Lamivudina (20,29 µg/L) > Efavirenz (19,56 µg/L) > Tenofovir (15,12 µg/L) > Zidovudina (10,13 µg/L) > Atazanavir (6,05 µg/L).

Figura 3. Antirretrovirais estimados em Cubatão (Grupo 1: CAE entre 20,29 e 5,58 µg/L) Nota: Ordenados da maior para a menor CAE estimada; Linha vermelha indica os limites máximos estabelecidos pela Agência Europeia de Medicamentos (CAE ≥ 0,01 µg/L).



Fonte: Autores.

Figura 4. Antirretrovirais estimados em Cubatão (Grupo 2 CAE entre 3,35 e 0,05 µg/L) Nota: Ordenados da maior para a menor CAE estimada; Linha vermelha indica os limites máximos estabelecidos pela Agência Europeia de Medicamentos (CAE $\geq 0,01$ µg/L).



Fonte: Autores.

Em uma escala global, este perfil de consumo de Cubatão é muito similar ao observado na África do Sul, país que tem o maior programa de TARV do mundo. O sistema de saúde sul-africano tem utilizado cerca de 30 medicamentos para o tratamento do HIV, sendo que os mais comuns são a Lamivudina, o Efavirenz e o Tenofovir (Russo et al., 2018; Reddy et al., 2021). Além do consumo individual, estes três medicamentos também são usualmente combinados, com o objetivo de se atingir um tratamento eficaz da doença (Russo et al., 2018; Reddy et al., 2021). A produção e o consumo de ARV deve aumentar mundialmente nos próximos anos, já que países como China e Japão, estão estudando o possível uso dos medicamentos Lopinavir, Rtonavir e Darunavir (inibidores de protease, também estimados em Cubatão), para o tratamento da COVID-19/SARS-CoV-2 (Reddy et al., 2021).

Já em uma escala regional, estudo recente no município de Santos, com vistas a calcular a CAE dos antirretrovirais na Baía de Santos, demonstrou que à exceção dos medicamentos Dolutegravir, Raltegravir e Maraviroque, todos os outros 11 medicamentos distribuídos pelas prefeituras de Santos e São Vicente, também estão na lista de medicamentos dispensados pela secretaria de saúde de Cubatão (Cid et al., 2021). Desta forma, é possível traçar um perfil de distribuição, consumo, e possíveis impactos ecológicos destes ARV nos ecossistemas costeiros e marinhos da RMBS.

Estudos de farmacocinética têm mostrado que os ARV não são totalmente metabolizados pelo organismo humano e, portanto, depois de consumidos, uma fração pode ser excretada através da urina e/ou das fezes, indo parar nas ETE (Schoeman et al., 2017; Redd et al., 2021). Normalmente, a remoção dos ARV não ocorre nas ETE convencionais, como por exemplo, nos sistemas de Lodo Ativado (ETE Casqueiro) e o de Lagoa aerada/facultativa (ETE Lagoa). Isto ocorre porque os ARV são, geralmente, hidrofílicos (baixo coeficiente de partição octanol/água: Log Kow < 2,5) e, portanto, predominam na fase aquosa durante o tratamento (Schoeman et al., 2017; Redd et al., 2021). Tratamentos terciários, como a Osmose reversa e a Ozonização, têm se mostrado eficazes na remoção dos ARV, no entanto, é um processo com alto custo operacional para países em desenvolvimento como o Brasil (Schoeman et al., 2017; Redd et al., 2021).

Neste contexto, conhecer a capacidade de tratamento de uma ETE convencional (% de remoção dos ARV), juntamente com o Log Kow do medicamento, contribuem para entender o destino destes compostos bioativos nos ecossistemas da RMBS. Os 14 ARV estimados em Cubatão, podem ser assim classificados:

- (i) Grupo dos medicamentos hidrofóbicos e com alto potencial de sorção no lodo da ETE (Log Kow > 4,0): Ritonavir (capacidade de remoção do antirretroviral na ETE: 93,02%; Log Kow 6,27) > Lopinavir (91,88%; Log Kow 6,27) > Maraviroque (91,08%; Log Kow 5,80) > Efavirenz (62,52%; Log Kow 4,46) > Etravirina (30,99%; Log Kow 4,02) (Usepa, 2017).
- (ii) Grupo dos medicamentos com potencial médio de sorção no lodo da ETE ($2,5 < \log Kow < 4,0$): Atazanavir (4,79%; Log Kow 2,9) (Usepa, 2017).
- (iii) Grupo dos medicamentos hidrofílicos e com baixo potencial de sorção no lodo da ETE (Log Kow < 2,5): Darunavir (2,15%; Log Kow 1,88) > Nevirapina (2,10%; Log Kow 1,81) > Dolutegravir (2,01%; Log Kow 1,62) > Abacavir (1,91%; Log Kow 1,20) > Tenofovir (1,87%; Log Kow -1,87) > Raltegravir (1,86%; Log Kow 0,40) > Zidovudina (1,85%; Log Kow 0,05) > Lamivudina (1,85%; Log Kow -0,93) (Usepa, 2017).

Desta forma, a probabilidade desses medicamentos com médio e baixo potencial de sorção, ultrapassarem os diferentes estágios das estações de tratamento e serem parcialmente lançados nos ecossistemas aquáticos é grande (Schoeman et al., 2017; Redd et al., 2021).

Embora no Brasil, entre 1980 e 2019, tenham sido registrados mais de 960.000 casos de contaminação pelo vírus HIV (Unaid, 2020), os estudos sobre a ocorrência dos antirretrovirais em ETE e/ou nos ecossistemas aquáticos, são praticamente escassos (Nannou et al., 2019; Cid et al., 2021; Redd et al., 2021).

Redd et al. (2021) fizeram um levantamento sobre os países que se dedicaram nos últimos anos a investigar a presença destes medicamentos nas diferentes matrizes ambientais. Segundo estes autores, o destaque deve ser dado ao Continente Africano (especificamente a África do Sul e o Quênia), onde foram encontrados 13 estudos sobre a ocorrência de ARV em ecossistemas aquáticos. Por exemplo, concentrações entre 10,00 e 100,00 µg/L da Lamivudina foram analiticamente confirmadas no espectrômetro de massa por cromatografia em fase líquida (LC-MS/MS), durante um monitoramento ambiental na província de KwaZulu-Natal, na África do Sul (Omotola & Olatunji, 2019). Especificamente nos efluentes das ETE da África do Sul e do Quênia, foram detectadas as maiores concentrações de ARV dentre todos os países da África e Europa (faixas entre 33,44 e 53,00 µg/L) (Redd et al., 2021).

No caso específico do Brasil, não há relatos sobre a detecção analítica (LC-MS/MS ou similar) de ARV em efluentes de ETE, o que reforça mais uma vez, a importância do presente estudo (Cid et al., 2021; Redd et al., 2021).

As concentrações dos ARV que foram estimadas nas ETE de Cubatão, são muito similares e, em alguns casos, superiores às que foram relatadas em alguns estudos pretéritos. Por exemplo, K'Oreje et al. (2016) detectaram concentrações de 0,11 µg/L da Zidovudina em um sistema de tratamento anaeróbico do Quênia.

Na África do Sul, Schoeman et al. (2017) detectaram concentrações de 0,47 µg/L da Nevirapina em uma Lagoa anaeróbica, seguida de cloração. Na Alemanha, Boulard et al. (2018) detectaram concentrações de 0,22 µg/L do Abacavir, em um sistema de Ozonização.

Mosekiemang et al. (2019), detectaram concentrações de 15,40 µg/L do Efavirenz, em um sistema de Lodo Ativado da África do Sul (sistema este igual ao da ETE Casqueiro); nesta mesma ETE, os autores também detectaram concentrações de 20,90 µg/L da Lamivudina.

Uma vez que todos os 14 ARV estimados em Cubatão, apresentaram concentrações de CAE superiores aos limites de segurança estabelecidos pela EMAE (CAE \geq 0,01 µg/L: Tabela 1; Figuras 3 e 4) (Chmp, 2006), uma avaliação de risco ecológico foi realizada.

3.2 Avaliação de Risco Ecológico (ARE)

A avaliação de risco ecológico de medicamentos como os ARV, que são comumente liberados nos ecossistemas aquáticos, é de extrema importância para a proteção ambiental. No entanto, o potencial risco destes medicamentos ainda é pouco conhecido e, portanto, desperta a atenção da comunidade científica (Jain et al., 2013; Nannou et al., 2019; Cid et al., 2021). Modelos de triagem preditivos (como a ARE) visando identificar o potencial risco dos ARV, é vantajosa para países em desenvolvimento como o Brasil, porque possui uma abordagem focada, menos árdua e, principalmente, mais econômica (Ncube et al., 2018; Cid et al., 2021). Estudo recente, conduzido por Cid et al. (2021) na Baía de Santos, confirmaram esta tese.

Teoricamente, os ARV que apresentarem baixos riscos ($QR < 0,01$), podem não ser prioritários nos programas de monitoramento, até o momento em que os valores de QR passem a sugerir um risco ambiental potencial (Ncube et al., 2018). Neste contexto, considerando o pior cenário possível, e de acordo com as orientações do Documento Técnico sobre Avaliação de Risco da União Europeia, uma avaliação de risco ecológico, em nível de triagem, foi realizada para os 14 ARV estimados neste estudo (Chmp, 2006).

Todas as CPSE do presente estudo foram estimadas pelo programa ECOSAR. Na Tabela 3, são listados os valores finais de QR dos 14 ARV. Estes resultados demonstraram a seguinte tendência:

- (i) Em relação a toxicidade aguda, 71,43% dos resultados indicaram alta toxicidade para os três níveis tróficos ($QR \geq 1,0$); 19,05% indicaram moderada toxicidade ($0,1 \leq QR < 1,0$), e somente 9,52% dos resultados (especificamente da Lamivudina e Tenofovir) indicaram baixo ($0,01 \leq QR < 0,1$) ou nenhum risco para um dos níveis tróficos testados;
- (ii) Em relação à toxicidade crônica, 57,14% dos resultados indicaram altos riscos; 26,19% indicaram riscos moderados, e 16,67% baixo ou nenhum risco.

Tabela 3. Resultados dos testes de avaliação de risco ecológico (ARE) de 14 antirretrovirais estimados em Cubatão. Todos os quocientes de risco (QRs) foram calculados através das concentrações ambientais estimadas (CAEs). A tabela apresenta: nome de cada composto; dados de toxicidade aguda e crônica: [(nível trófico; organismo/espécie teste, desfecho toxicológico (*Endpoint*) e concentrações (em µg/L)]; Fator de Avaliação (FA); Concentração Prevista sem Efeitos (CPSE, em µg/L). Os dados dos desfechos toxicológicos foram estimados pelo programa ECOSAR. Nota: EC50: Concentração efetiva de 50%; LC50: Concentração letal de 50%; NOEC: Nenhum efeito observado; LOEC: Concentração de efeito observado mais baixo. Finalmente, os riscos dos antirretrovirais foram classificados em quatro níveis: ausência (QR <0,01; indicado em branco); baixo (0,01 ≤ QR <0,1; indicado em verde); moderado (0,1 ≤ QR <1,0; indicado em amarelo) e alto risco ecológico (QR ≥ 1,0; indicado em vermelho).

DADOS DE TOXICIDADE										
Composto	CAE (µg/L)	Nível trófico	Organismos/Espécies	Endpoint	Concentrações (µg/L)	FA	CPSE (µg/L)	Referência	RQ	
Atazanavir	6,05	Agudo	Algas	Algas verdes	96 h EC 50	955,00	10000	0,0955	ECOSAR	63,35
			Peixe	Peixe	96 h LC 50	3277,00		0,3277	ECOSAR	18,46
			Daphnia	Daphnia	48h LC50	11936,00		1,1936	ECOSAR	5,07
		Crônico	Algas	Algas verdes	10 [*] ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	328,00	100	3,2800	ECOSAR	1,84
				Peixe	Peixe	139,00		1,3900	ECOSAR	4,35
				Daphnia	Daphnia	NOEC		685,00	6,8500	ECOSAR
Efavirenz	19,56	Agudo	Algas	Algas verdes	96 h EC 50	1508,00	10000	0,1508	ECOSAR	129,71
			Peixe	Peixe	96 h LC 50	996,00		0,0996	ECOSAR	196,39
			Daphnia	Daphnia	48h LC50	725,00		0,0725	ECOSAR	269,79
		Crônico	Algas	Algas verdes	10 [*] ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	686,00	100	6,8600	ECOSAR	2,85
				Peixe	Peixe	130,00		1,3000	ECOSAR	15,05
				Daphnia	Daphnia	NOEC		141,00	1,4100	ECOSAR

(continuação)

DADOS DE TOXICIDADE

Composto	CAE (µg/L)	Nível trófico	Organismos/Espécies	Endpoint	Concentrações (µg/L)	FA	CPSE (µg/L)	Referência	RQ	
Nevirapina	0,71	Agudo	Algas	Algas verdes	96 h EC 50	167,00	10000	0,0167	ECOSAR	42,51
			Peixe	Peixe	96 h LC 50	3172,00		0,3172	ECOSAR	2,24
			Daphnia	Daphnia	48h LC50	1621,00		0,1621	ECOSAR	4,38
		Crônico	Algas	Algas verdes	10 ⁶ ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	348,00	100	3,48	ECOSAR	0,20
			Peixe	Peixe		19,00		0,19	ECOSAR	3,74
			Daphnia	Daphnia	NOEC	317,00		3,17	ECOSAR	0,22
Abacavir	0,76	Agudo	Algas	Algas verdes	96 h EC 50	488,00	10000	0,0488	ECOSAR	15,57
			Peixe	Peixe	96 h LC 50	20847,00		2,0847	ECOSAR	0,36
			Daphnia	Daphnia	48h LC50	2064,00		0,2064	ECOSAR	3,68
		Crônico	Algas	Algas verdes	10 ⁶ ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	482,00	100	4,82	ECOSAR	0,16
			Peixe	Peixe		157,00		1,57	ECOSAR	0,48
			Daphnia	Daphnia	NOEC	45,00		0,45	ECOSAR	1,69

(continuação)

DADOS DE TOXICIDADE

Composto	CAE (µg/L)	Nível trófico	Organismos/Espécies	Endpoint	Concentrações (µg/L)	FA	CPSE (µg/L)	Referência	RQ	
Darunavir	5,94	Algas	Algas verdes	96 h EC 50	722,00	10000	0,0722	ECOSAR	82,27	
		Agudo Peixe	Peixe	96 h LC 50	93148,00		9,3148	ECOSAR	0,64	
		Daphnia	Daphnia	48h LC50	3925,00		0,3925	ECOSAR	15,13	
		Crônico	Algas	Algas verdes	10 [*] ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	5449,00	100	54,49	ECOSAR	0,11
			Peixe	Peixe		318,00		3,18	ECOSAR	1,87
			Daphnia	Daphnia	NOEC	72,00		0,72	ECOSAR	8,25
Dolutegravir	5,58	Algas	Algas verdes	96 h EC 50	617,00	10000	0,0617	ECOSAR	90,44	
		Agudo Peixe	Peixe	96 h LC 50	9246,00		0,9246	ECOSAR	6,04	
		Daphnia	Daphnia	48h LC50	1249,00		0,1249	ECOSAR	44,68	
		Crônico	Algas	Algas verdes	10 [*] ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	185,00	100	1,85	ECOSAR	3,02
			Peixe	Peixe		276,00		2,76	ECOSAR	2,02
			Daphnia	Daphnia	NOEC	65,00		0,65	ECOSAR	8,58

(continuação)

DADOS DE TOXICIDADE

Composto	CAE (µg/L)	Nível trófico	Organismos/Espécies	Endpoint	Concentrações (µg/L)	FA	CPSE (µg/L)	Referência	RQ
Etravirina	0,05	Algas	Algas verdes	96 h EC 50	1634,00		0,1634	ECOSAR	0,31
		Agudo Peixe	Peixe	96 h LC 50	2417,00	10000	0,2417	ECOSAR	0,21
		Daphnia	Daphnia	48h LC50	2975,00		0,2975	ECOSAR	0,17
		Algas	Algas verdes	10 [^] ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	2386,00		23,86	ECOSAR	0,00
		Crônico Peixe	Peixe		12,00	100	0,12	ECOSAR	0,42
		Daphnia	Daphnia	NOEC	13,00		0,13	ECOSAR	0,38
Lamivudina	20,29	Algas	Algas verdes	96 h EC 50	7927337,00		792,7337	ECOSAR	0,03
		Agudo Peixe	Peixe	96 h LC 50	47662141,00	10000	4766,2141	ECOSAR	0,00
		Daphnia	Daphnia	48h LC50	3320774,00		332,0774	ECOSAR	0,06
		Algas	Algas verdes	10 [^] ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	1786957,00		17869,57	ECOSAR	0,00
		Crônico Peixe	Peixe		14258064,00	100	142580,64	ECOSAR	0,00
		Daphnia	Daphnia	NOEC	161834,00		1618,34	ECOSAR	0,01

(continuação)

DADOS DE TOXICIDADE

Composto	CAE (µg/L)	Nível trófico	Organismos/Espécies	Endpoint	Concentrações (µg/L)	FA	CPSE (µg/L)	Referência	RQ	
Lopinavir	1,64	Agudo	Algas	Algas verdes	96 h EC 50	21,00	10000	0,0021	ECOSAR	780,95
			Peixe	Peixe	96 h LC 50	98,00		0,0098	ECOSAR	167,35
			Daphnia	Daphnia	48h LC50	10,00		0,001	ECOSAR	1640,00
		Crônico	Algas	Algas verdes	10 ⁶ ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	22,00	100	0,22	ECOSAR	7,45
			Peixe	Peixe		5,00		0,05	ECOSAR	32,80
			Daphnia	Daphnia	NOEC	5,00		0,05	ECOSAR	67,00
Ritonavir	3,35	Agudo	Algas	Algas verdes	96 h EC 50	15,00	10000	0,0015	ECOSAR	2233,33
			Peixe	Peixe	96 h LC 50	61,00		0,0061	ECOSAR	549,18
			Daphnia	Daphnia	48h LC50	6,00		0,0006	ECOSAR	5583,33
		Crônico	Algas	Algas verdes	10 ⁶ ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	20,00	100	0,2	ECOSAR	16,75
			Peixe	Peixe		3,00		0,03	ECOSAR	111,67
			Daphnia	Daphnia	NOEC	3,00		0,03	ECOSAR	111,67

(continuação)

DADOS DE TOXICIDADE

Composto	CAE (µg/L)	Nível trófico	Organismos/Espécies	Endpoint	Concentrações (µg/L)	FA	CPSE (µg/L)	Referência	RQ
Maraviroque	0,16	Algas	Algas verdes	96 h EC 50	20,00		0,002	ECOSAR	80,00
		Agudo Peixe	Peixe	96 h LC 50	109,00	10000	0,0109	ECOSAR	14,68
		Daphnia	Daphnia	48h LC50	57,00		0,0057	ECOSAR	28,07
		Algas	Algas verdes	10 [^] ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	9,00		0,09	ECOSAR	1,78
		Crônico Peixe	Peixe		2,00	100	0,02	ECOSAR	8,00
		Daphnia	Daphnia	NOEC	7,00		0,07	ECOSAR	2,29
Raltegravir	0,49	Algas	Algas verdes	96 h EC 50	1276,00		0,1276	ECOSAR	3,84
		Agudo Peixe	Peixe	96 h LC 50	14908,00	10000	1,4908	ECOSAR	0,33
		Daphnia	Daphnia	48h LC50	1820,00		0,182	ECOSAR	2,69
		Algas	Algas verdes	10 [^] ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	349,00		3,49	ECOSAR	0,14
		Crônico Peixe	Peixe		1102,00	100	11,02	ECOSAR	0,04
		Daphnia	Daphnia	NOEC	166,00		1,66	ECOSAR	9,11

(continuação)

DADOS DE TOXICIDADE

Composto	CAE (µg/L)	Nível trófico	Organismos/Espécies	Endpoint	Concentrações (µg/L)	FA	CPSE (µg/L)	Referência	RQ	
Tenofovir	15,12	Agudo	Algas	Algas verdes	96 h EC 50		3,6771	ECOSAR	4,11	
			Peixe	Peixe	96 h LC 50	28539215,00	10000	2853,9215	ECOSAR	0,01
			Daphnia	Daphnia	48h LC50	22362,00		2,2362	ECOSAR	6,76
		Crônico	Algas	Algas verdes	10 ⁶ ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	51826,00		518,26	ECOSAR	0,03
			Peixe	Peixe		59092,00	100	590,92	ECOSAR	0,03
			Daphnia	Daphnia	NOEC	4801,00		48,01	ECOSAR	0,21
Zidovudina	10,13	Agudo	Algas	Algas verdes	96 h EC 50		0,002	ECOSAR	5065,00	
			Peixe	Peixe	96 h LC 50	318280,00	10000	31,828	ECOSAR	0,32
			Daphnia	Daphnia	48h LC50	539698,00		53,9698	ECOSAR	0,19
		Crônico	Algas	Algas verdes	10 ⁶ ([log (LOEC × NOEC)] / 2)	5,00		0,05	ECOSAR	202,60
			Peixe	Peixe		2293,00	100	22,93	ECOSAR	0,44
			Daphnia	Daphnia	NOEC	8860,00		88,6	ECOSAR	0,11

Fonte: Autores.

A partir destes resultados, foi possível constatar que a falta de dados sobre a toxicidade para organismos costeiros e marinhos (mesmo no programa ECOSAR), foi um obstáculo, resultando que 100% dos cálculos do QR fossem realizados com espécies de águas doces (algas, crustáceos e peixes) (Tabela 3) (Usepa, 2017).

Ainda assim, os potenciais riscos de alguns desses medicamentos já foram confirmados pela literatura especializada dos últimos 20 anos, o que corrobora com os resultados do presente estudo. Por exemplo, Sanderson et. al (2004), após realizar uma análise de riscos de cerca de 3.000 ARV distintos, demonstrou que estes medicamentos são potencialmente perigosos e tóxicos para a biota aquática, como as algas, os crustáceos e os peixes.

Bottoni et al. (2010), demonstraram que a Zidovudina tem potencial carcinogênico. Estes mesmos autores, comprovaram que diferentes espécies expostas ao Abacavir, podem ter reações adversas a este medicamento.

Escher et al. (2011), realizaram estudo em efluentes hospitalares e demonstraram que o Ritonavir exhibe um alto potencial de ecotoxicidade.

Em seu trabalho de revisão bibliográfica, Jain et al. (2013) relataram que a Nevirapina é tóxica, e persiste por anos no meio ambiente devido à sua natureza bioativa. Em outro estudo sobre a Nevirapina, realizado na Bacia do Rio Nairobi, Quênia, Ngumba et al. (2016) calcularam os valores de QR da Nevirapina e da Zidovudina, e observaram que ambos os medicamentos indicaram potenciais efeitos adversos em algas, crustáceos e peixes.

Robson et al. (2017), demonstraram que a exposição aguda (96h) da tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*: peixe nativo do sudeste da África), a 20,6 ng/L de Efavirenz, resultou em danos no fígado e um declínio geral na saúde deste peixe. A título de exemplo, a CAE estimada em Cubatão, é muito superior às concentrações testadas por Robson et al. (2017), reforçando o potencial risco deste ARV para o ecossistema da RMBS.

Omotola et al. (2021) constataram que a Lamivudina, em concentrações ambientais realistas entre 10 e 100 µg/L (faixa estimada em Cubatão: 20,29 µg/L), representa um potencial risco ecológico para diferentes níveis tróficos.

Cid et al. (2021) selecionaram três antirretrovirais (nomeadamente Atazanavir, Nevirapina e Efavirenz) para os ensaios de ecotoxicidade com ouriço-do-mar *Echinometra lucunter* (uma espécie que pode ser encontrada em partes muito rasas do Oceano Atlântico ocidental e do Mar do Caribe). O resultado dos ensaios de toxicidade aguda e crônica, mostraram concentrações inibitórias (CI) para a fertilização (CI50;1h; faixa: 11,46–84,61 mg/L) e para o desenvolvimento embriolarval (CI50;42h; faixa: 0,52– 0,97 mg/L) do ouriço-do-mar, respectivamente. Além disso, a avaliação de risco ecológico, mostrou que esses três antirretrovirais são potencialmente perigosos para a vida aquática na Baía de Santos (94,4% dos QRs foram altos ou moderados) levantando preocupações sobre a possível introdução contínua destes medicamentos nos ecossistemas costeiros e marinhos da RMBS (Cid et al., 2021).

Desta forma, ainda que os resultados do presente estudo sejam preditivos, há evidências aqui apresentadas de que os 14 ARV estimados em Cubatão, são potencialmente perigosos para os ecossistemas aquáticos da RMBS. Além disso, este estudo reforça a necessidade de mais experimentos ecotoxicológicos (especialmente com organismos costeiros e marinhos tropicais) para avaliar a toxicidade aguda e crônica desses compostos bioativos em áreas costeiras (Cid et al., 2021; Omotola et al., 2021).

Uma vez conhecido o potencial risco ecológico destes ARV, se faz necessário criar um ranking de priorização destes medicamentos, com vistas a um permanente acompanhamento.

3.3 Ranking dos antirretrovirais em Cubatão (OPBT)

Uma vez que os dados experimentais são geralmente caros, demorados e exigem o sacrifício de animais durante os testes *in vivo*, o Regulamento Europeu para Registro, Avaliação, Autorização e Restrição de Produtos Químicos (REACH), que regulamenta a descarga de compostos químicos nos ecossistemas aquáticos, permite que os pesquisadores utilizem dados

gerados pela modelagem QSAR, como forma de complemento e/ou substituição aos dados experimentais (Chmp, 2006; Li et al., 2020; Reis, et al., 2021). Desta forma, a modelagem QSAR é capaz de prever a periculosidade de um fármaco, a partir de um conjunto de propriedades intrínsecas destes compostos, dentre elas: persistência (P), bioacumulação (B) e toxicidade (T) (Chmp, 2006; Li et al., 2020; Reis, et al., 2021). Além disso, o QSAR é reconhecido como um importante método para se criar listas de fármacos prioritários para os programas de gerenciamento ambiental, através da combinação das propriedades: PBT + a ocorrência (O) (obtida através da CAE) (Li et al., 2020; Reis, et al., 2021).

A Tabela 4 mostra os desfechos e o níveis de preocupação OPBT dos 14 ARV em estudo e a classificação final.

A persistência é um critério-chave importante em um estudo de priorização, pois ela pode afetar negativamente a bioacumulação e/ou a toxicidade. Um ARV que persiste muito tempo no meio aquático, pode aumentar as possibilidades de interações neste ecossistema (Li et al., 2020; Reis, et al., 2021). Em relação à persistência, todos os 14 ARV sinalizaram preocupação: Lamivudina, Tenofovir, Zidovudina e Abacavir, obtiveram a pontuação 3, por se enquadrarem nos critérios: $2,2 \leq \text{BIOWIN3} < 3,0$. Já os outros 10 ARV, obtiveram a pontuação máxima (4), ou seja, $\text{BIOWIN2} < 0,5$ ou $\text{BIOWIN6} < 0,5$; e $\text{BIOWIN3} < 2,2$.

Tabela 4. Resultados do método OPBT, usado para priorizar os 14 antirretrovirais mais tóxicos estimados em Cubatão. A Tabela apresenta: (i) 14 antirretrovirais estimados em Cubatão (ordenados da maior para a menor CAE); (ii) Ocorrência (CAE em ug/L) e sua respectiva pontuação; (iii) Persistência estimada usando o modelo BIOWIN (2,3 e 6), e sua respectiva pontuação; (iv) Bioacumulação, estimada usando o modelo BCFBAF para obtenção do fator de bioconcentração (BCF), e sua respectiva pontuação; (v) Toxicidade crônica expressa em mg/L e gerada pelo programa ECOSAR, além da sua respectiva pontuação. Os valores mais baixos dentre os três níveis tróficos, foram assumidos para o cálculo (sinalizados em negrito); (vi) Classificação e Ranking final, obtido pela soma das pontuações dos quatro critérios (OPB).

Antirretrovirais	Ocorrência		Persistência				Bioacumulação		Toxicidade crônica (mg/L)			Toxicidade (Pontuação)	Soma das pontuações	Ranking final
	(CAE (ug/L))	(Pontuação)	BIOWIN2	BIOWIN3	BIOWIN6	(Pontuação)	BCF	(Pontuação)	Algas	Crustáceos	Peixes			
Lamivudina	20,29	3	0,072	2,8438	0,061	3	3,162	1	1786,96	161,83	14258,06	1	8	6
Efavirenz	19,56	3	0,000	1,5232	0,000	4	577,2	1	0,686	0,130	0,141	3	11	3
Tenofovir	15,12	3	0,0016	2,4208	0,0023	3	3,162	1	51,826	4,801	59,092	2	9	5
Zidovudina	10,13	3	0,0432	2,7599	0,0239	3	3,162	1	0,005	8,860	2,293	4	11	3
Atazanavir	6,05	2	0,0202	0,9626	0,0000	4	20,47	1	0,328	0,685	0,139	3	10	4
Darunavir	5,94	2	0,0001	1,8970	0,0000	4	4,494	1	5,449	0,072	0,318	4	11	3
Dolutegravir	5,58	2	0,0000	1,2241	0,0000	4	5,471	1	0,185	0,276	0,065	4	11	3
Ritonavir	3,35	2	0,9488	1,4845	0,0000	4	3513,0	4	0,020	0,003	0,003	4	14	1
Lopinavir	1,64	2	0,9998	1,5476	0,0002	4	2156,0	4	0,022	0,005	0,005	4	14	1
Abacavir	0,76	1	0,0229	2,4565	0,0019	3	1,646	1	0,482	0,045	0,157	4	9	5
Nevirapina	0,71	1	0,0473	1,7985	0,0083	4	7,265	1	0,348	0,317	0,019	4	10	4
Raltegravir	0,49	1	0,0031	1,5205	0,0001	4	3,162	1	0,349	0,166	1,102	3	9	5
Maraviroque	0,16	1	0,0700	1,4152	0,0000	4	3097,0	4	0,009	0,002	0,007	4	13	2
Etravirina	0,05	1	0,9825	1,4588	0,0004	4	209,8	1	2,386	0,013	0,012	4	10	4

Fonte: Autores.

Em relação à bioacumulação (BCF), Maraviroque (BCF = 3513,0), Ritonavir e Lopinavir (ambos com BCF = 3,162) foram os únicos compostos com a pontuação máxima (4), ou seja, BCF > 2000. Todos os outros 11 ARV tiveram pontuação 1 (BCF ≤ 1000). No entanto, ao se comparar os resultados da Tabela 4, com um outro critério adotado pela Agência Ambiental Americana (P2 Framework Manual), onde: BCF < 100 (indica baixo risco); BCF < 1000–100 (indica moderado risco); BCF 5000–1000 (indica alto risco); e BCF > 5000 (indica risco muito alto) (Reis et al., 2021), outros dois medicamentos: Efavirenz (BCF=577,2) e Etravirina (BCF=209,8), ampliariam a sua classificação de risco para moderado.

O risco de bioacumulação destes cinco medicamentos, também podem ser corroborados pelo seu valor de log Kow. Além do BCF, o log Kow é um critério importante para identificar uma tendência de bioacumulação de um ARV. Normalmente, log Kow ≥ 3,0 indica que os medicamentos podem bioacumular nas espécies aquáticas. Neste contexto, Ritonavir e Lopinavir (ambos com Log Kow 6,27) > Maraviroque (Log Kow 5,80) > Efavirenz (Log Kow 4,46) > Etravirina (Log Kow 4,02), são os mais lipofílicos dentre os 14 ARV inventariados, e sinalizam preocupação nos ecossistemas da RMBS (Usepa, 2017).

Conforme as diretrizes da EMEA, para atribuir o nível de preocupação em relação à toxicidade, o valor mais baixo dentre os três níveis tróficos foi assumido (Chmp, 2006). Na Tabela 4, estes valores estão sinalizados em negrito. Os resultados de toxicidade indicaram que à exceção da Lamivudina (pontuação 1) e do Tenofovir (pontuação 2), todos os outros ARV apresentaram pontuação 3 ou 4.

Os resultados da ocorrência indicam que Lamivudina, Efavirenz, Tenofovir e Zidovudina (receberam pontuação 3); Atazanavir, Darunavir, Dolutegravir, Ritonavir e Lopinavir (pontuação 2); e Abacavir, Nevirapina, Raltegravir, Maraviroque e Etravirina (pontuação 1). Ainda que a Lamivudina (20,29 µg/L) e o Tenofovir (15,12 µg/L), tenham apresentado a 1ª e a 3ª maior CAE dentre os 14 ARV estudados, eles indicaram baixos ou nenhum risco ecológico (Figura 3; Tabelas 3 e 4). Este menor risco pode ser explicado pela alta CPSE estimada pelo programa ECOSAR, que como já foi explicado, foi usado devido à escassez de dados experimentais de toxicidade relatados na literatura revisada por pares (Tabela 3) (Usepa, 2017). Por outro lado, o Maraviroque (0,16 µg/L), que apresentou uma das menores CAE neste estudo, indicou 100% de alto risco agudo e crônico. De forma análoga, esta condição pode ser explicada pela baixa CPSE estimada pelo ECOSAR (Figura 4; Tabelas 3 e 4).

Desta forma, é importante ressaltar que estes resultados são preditivos e, portanto, precisam ser analisados com cautela. Ainda assim, a Figura 5 apresenta um gráfico ilustrativo com o ranking dos ARV mais tóxicos, baseada na abordagem OPBT, e que certamente indica caminhos para o futuro gerenciamento destes antirretrovirais nos ecossistemas da RMBS.

Figura 5. Ranking dos 14 antirretrovirais estimados em Cubatão, ordenados de cima para baixo a partir dos critérios OPBT. Nota: pontuação 1: maior preocupação; pontuação 6: menor preocupação ambiental.



Fonte: Autores.

4. Conclusão

A CAE dos 14 ARV dispensados/consumidos na cidade de Cubatão, ultrapassaram o valor limite de $0,01\mu\text{g/L}$ de acordo com a diretriz da EMEA.

A ARE das ETE Casqueiro e Lagoa na cidade de Cubatão demonstrou que os 14 ARV são potencialmente tóxicos, tanto em testes de toxicidade aguda quanto. Existe a hipótese de que as misturas desses compostos podem potencializar os seus efeitos, embora não tenha sido objeto deste estudo, necessitando desta forma de testes ecotoxicológicos com organismos aquáticos de forma isolada e de forma composta de dois ou mais substâncias, para avaliar a toxicidade aguda e crônica desses compostos. A maioria dos medicamentos objeto deste estudo podem sofrer biotransformação, e ainda que possam ser excretados na forma ativa podem se acumular em outros organismos ou no meio ambiente.

A remoção de ARV presentes no esgoto sanitário representa um desafio para países em desenvolvimento como o Brasil. Apenas tratamentos avançados, como os processos oxidativos, a ozonização, os reatores com lâmpadas ultravioleta, e os processos de absorção em carvão ativado, têm maior potencial de remover estes micropoluentes orgânicos. No entanto, esses processos demandam altos custos de investimento e operação onerosa e sofisticada em relação aos sistemas biológicos de tratamento adotados na maioria das ETE brasileiras. Considerando que a ETE Casqueiro e a ETE Lagoa não empregam tais tecnologias, torna-se importante avaliar a remoção de ARV em sistemas de tratamento de esgoto convencionais.

Considerando a escassez de estudos dos fármacos utilizados nesta pesquisa, bem como a rastreabilidade deles, os resultados desta pesquisa poderão servir de base para criação e adoção de programas governamentais que visem o monitoramento dos níveis destes fármacos em estações de tratamento, visando a redução ou até mesmo eliminação total destes fármacos no ambiente aquático.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor.

Referências

- Benzaken, A. S., Pereira, G. F. M., Costa, L., Tanuri, A., Santos, A. F., & Soares, M. A. (2019). Antiretroviral treatment, government policy and economy of HIV/AIDS in Brazil: is it time for HIV cure in the country? *AIDS Research and Therapy*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12981-019-0234-2>
- Brasil. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids e das Hepatites Virais Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos. Brasília: Ministério da Saúde; 2017. <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2013/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-manejo-da-infeccao-pelo-hiv-em-adultos>
- CHMP. Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use. *Doc. Ref. EMEA/CHMP/SWP/4447/00*. London, 1 June (2006). <http://www.emea.eu.int/pdfs/human/swp/444700en.pdf>
- Cid, R. S., Roveri, V., Vidal, D. G., Dinis, M. A. P., Cortez, F. S., Salgueiro, F. R., Toma, W., Cesar, A., & Guimarães, L. L. (2021). Toxicity of Antiretrovirals on the Sea Urchin *Echinometra lucunter* and Its Predicted Environmental Concentration in Seawater from Santos Bay (Brazilian Coastal Zone). *Resources*, 10, 114. <https://doi.org/10.3390/resources10110114>
- EC - European Commission. Technical Guidance Document on Risk Assessment for Existing Substances, Part II; European Commission: Brussels, Belgium, 2003.
- Escher, B. I., Baumgartner, R., Koller, M., Treyer, K., Lienert, J., & McArdell, C. S. (2011). Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater. *Water Research*, 45(1), 75–92. 10.1016/j.watres.2010.08.019
- ECHA - European Chemicals Agency. Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment Chapter R.10: Characterisation of Dose [Concentration]-Response for Environment; Dictus Publishing: Chisinau, Moldova, 2008.
- Jain, S., Kumar, P., Vyas, R. K., Pandit, P., & Dalai, A. K. (2013). Occurrence and Removal of Antiviral Drugs in Environment: A Review. *Water, Air, & Soil Pollution*, 224(2). 10.1007/s11270-012-1410-3
- K'oreje, K. O., Vergeynst, L., Ombaka, D., De Wispelaere, P., Okoth, M., Van Langenhove, H., & Demeestere, K. (2016). Occurrence patterns of pharmaceutical residues in wastewater, surface water and groundwater of Nairobi and Kisumu city, Kenya. *Chemosphere*, 149, 238–244. 10.1016/j.chemosphere.2016.01.095
- Li, Y., Zhang, L., Ding, J., & Liu, X. (2020). Prioritization of pharmaceuticals in water environment in China based on environmental criteria and risk analysis of top-priority pharmaceuticals. *Journal of Environmental Management*, 253, 109732. 10.1016/j.jenvman.2019.109732
- Mangal, T. D., Meireles, M. V., Pascom, A. R. P., de Almeida Coelho, R., Benzaken, A. S., & Hallett, T. B. (2019). Determinants of survival of people living with HIV/AIDS on antiretroviral therapy in Brazil 2006–2015. *BMC Infectious Diseases*, 19(1). 10.1186/s12879-019-3844-3
- Mosekiemang, T. T., Stander, M. A., & de Villiers, A. (2019). Simultaneous quantification of commonly prescribed antiretroviral drugs and their selected metabolites in aqueous environmental samples by direct injection and solid phase extraction liquid chromatography - Tandem mass spectrometry. *Chemosphere*. 10.1016/j.chemosphere.2018.12
- Ngumba, E., Gachanja, A., & Tuhkanen, T. (2016). Occurrence of selected antibiotics and antiretroviral drugs in Nairobi River Basin, Kenya. *Science of The Total Environment*, 539, 206–213. 10.1016/j.scitotenv.2015.08.1
- Nannou, C., Ofrydopoulou, A., Evgenidou, E., Heath, D., Heath, E., & Lambropoulou, D. (2019). Antiviral drugs in aquatic environment and wastewater treatment plants: A review on occurrence, fate, removal and ecotoxicity. *Science of The Total Environment*, 134322. 10.1016/j.scitotenv.2019.134322
- Ncube, S., Madikizela, L. M., Chimuka, L., & Nindi, M. M. (2018). Environmental fate and ecotoxicological effects of antiretrovirals: A current global status and future perspectives. *Water Research*. 10.1016/j.watres.2018.08.017
- Omotola, E. O., & Olatunji, O. S. (2020). Quantification of selected pharmaceutical compounds in water using liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry (LC-ESI-MS). *Heliyon*, 6(12), e05787. 10.1016/j.heliyon.2020.e05787
- Omotola, E. O., Genthe, B., Ndlela, L., & Olatunji, O.S. (2021) Caracterização de Risco Ambiental de uma Lamivudina Antirretroviral (ARV) em Ecossistemas. *Int. J. Ambiente. Res. Saúde Pública*, 18, 8358. <https://doi.org/10.3390/ijerph18168358>
- Phillips, A. N., Stover, J., Cambiano, V., Nakagawa, F., Jordan, M. R., Pillay, D., Bertagnolio, S. (2017). Impact of HIV Drug Resistance on HIV/AIDS-Associated Mortality, New Infections, and Antiretroviral Therapy Program Costs in Sub-Saharan Africa. *The Journal of Infectious Diseases*, 215(9), 1362–1365. 10.1093/infdis/jix089
- Reddy, K., Renuka, N., Kumari, S., & Bux, F. (2021). Algae-mediated processes for the treatment of antiretroviral drugs in wastewater: Prospects and challenges. *Chemosphere*, 280, 130674. 10.1016/j.chemosphere.2021.13
- Reis, E. O., Santos, L. V. S., & Lange, L. C. (2021). Prioritization and environmental risk assessment of pharmaceuticals mixtures from Brazilian surface waters. *Environmental Pollution*, 288, 117803. 10.1016/j.envpol.2021.117803

Robson, L., Barnhoorn, I. E. J., & Wagenaar, G. M. (2017). The potential effects of efavirenz on *Oreochromis mossambicus* after acute exposure. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 56, 225–232. 10.1016/j.etap.2017.09.017

Russo, D., Siciliano, A., Guida, M., Andreozzi, R., Reis, N. M., Li Puma, G., & Marotta, R. (2018). Removal of antiretroviral drugs stavudine and zidovudine in water under UV 254 and UV 254 /H₂O₂ processes: Quantum yields, kinetics and ecotoxicology assessment. *Journal of Hazardous Materials*, 349, 195–204. 10.1016/j.jhazmat.2018.01.052

SABESP. Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. Tratamentos de Esgotos. 2018. <http://site.sabesp.com.br/>

Sanderson, H., Johnson, D. J., Reitsma, T., Brain, R. A., Wilson, C. J., & Solomon, K. R. (2004). Ranking and prioritization of environmental risks of pharmaceuticals in surface waters. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 39(2), 158–183. 10.1016/j.yrtph.2003.12.006

Schoeman, C., Dlamini, M., & Okonkwo, O. J. (2017). The impact of a Wastewater Treatment Works in Southern Gauteng, South Africa on efavirenz and nevirapine discharges into the aquatic environment. *Emerging Contaminants*, 3(2), 95–106. 10.1016/j.emcon.2017.09.001

UNAIDS. Estatísticas. 2020. <https://unaids.org.br/estatisticas/>

USEPA - United States Environmental Protection Agency, 2017. Estimation Program Interface Suite (EPI Suite™). Class Program. MS-Windows Version 4.11. <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/download-epi-suite-estimation-program-interface-v411>