

IMPACTO DE ANTIMICROBIANOS NA ATIVIDADE BIOLUMINESCENTE DE *Vibrio fischeri*

Isabela Náthaly Machado da Silva, Pós graduanda em RENAC, UEG/CET, isabelanathalymachado@gmail.com
Elisa Flávia Luiz Cardoso Bailão, Profa. Dra., UEG/CET, elisa.flavia@ueg.br

Resumo:

Os antimicrobianos utilizados para tratar infecções causadas por microrganismos em humanos e animais, têm sido amplamente detectados em ecossistemas aquáticos, devido ao uso excessivo e descarte irregular. A presença desses compostos no ambiente aquático levanta preocupações sobre os riscos para organismos não-alvo, como algas, peixes e microcrustáceos. Nesse contexto, a utilização de bioindicadores, como a bactéria luminescente *Vibrio fischeri*, é essencial para avaliar esses riscos estressantes, prejudiciais ou até mesmo letais, e com isso, determinar concentrações ambientalmente seguras. Neste estudo, investigamos a toxicidade dos antimicrobianos sulfametoxazol (SMZ), metronidazol (MNZ), e seu metabólito, hidroximetronidazol (MNZOH), isoladamente e em misturas, a uma concentração de 100 mg/L⁻¹. Os resultados indicaram toxicidade para SMZ isolado e em mistura com MNZOH, enquanto os outros compostos não mostraram toxicidade significativa. No entanto, a ausência de toxicidade nos outros compostos não descarta riscos potenciais, sugerindo a necessidade de ensaios com diferentes bioindicadores com maior tempo de exposição.

Palavras-chave: Ecotoxicologia; Hidroximetronidazol; Metronidazol; Poluentes emergentes; Sulfametoxazol

INTRODUÇÃO

Os antimicrobianos são medicamentos utilizados para tratar e prevenir doenças causadas por microrganismos como bactérias, fungos e protozoários (GUIMARÃES *et al.*, 2010). Seu uso indiscriminado tem contribuído para sua liberação contínua no meio ambiente (BALZER *et al.*, 2016; WU *et al.*, 2025), especialmente por meio de efluentes domésticos, hospitalares e agropecuários (ZHANG *et al.*, 2022; HUSAIN KHAN *et al.*, 2023). Esse processo ocorre juntamente com a liberação de seus produtos de transformação, o que tem resultado na detecção frequente dessas substâncias em ecossistemas aquáticos (SHAMS *et al.*, 2024; SALMA *et al.*, 2025). Neste contexto, nosso grupo de pesquisa identificou a presença dos antimicrobianos, metronidazol (MNZ) e sulfametoxazol (SMZ) em amostras de águas superficiais do Rio Meia Ponte (dados não publicados).

Contudo, há poucos dados sobre ecotoxicidade desses compostos. Ensaios ecotoxicológicos avaliam os efeitos de substâncias químicas ou poluentes em organismos (WANG *et al.*, 2021). Esses ensaios são essenciais para entender como os poluentes podem afetar a vida selvagem, plantas, microrganismos e outros componentes dos ecossistemas aquáticos (MILOLOŽA *et al.*, 2020). O objetivo é identificar sinais precoces de poluição, definir concentrações de compostos ambientalmente seguras e deter a degradação ambiental (HELLOU *et al.*, 2011).

O hidroximetronidazol (MNZOH), metabólito do MNZ, pode apresentar efeitos variados, mas igualmente significativos, nos ecossistemas aquáticos. Isso ressalta a necessidade de estudos que abordem não apenas os compostos originais, mas também seus produtos de transformação (SANTOS *et al.* 2013). Além disso, são poucos os estudos que investigaram a toxicidade combinada do SMZ, MNZ e seu metabólito. Diante disso, este estudo tem como objetivo avaliar potenciais efeitos ecotoxicológicos de SMZ, MNZ e MNZOH, isoladamente e em mistura em *Vibrio fischeri*, uma bactéria marinha bioluminescente, amplamente empregada em testes ecotoxicológicos devido a vantagens, como a rapidez nos resultados, alta sensibilidade e facilidade de manuseio (ABBAS *et al.*, 2018).

MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios com a bactéria *V. fischeri* NRRL-B 11177 liofilizada foram realizados na estação móvel Monitox® (Umwelt, Blumenau, SC) (Monitox 2021). O teste, com duração de 30 minutos, foi conduzido adicionando as soluções testadas a cubetas contendo biomassa de *V. fischeri*, seguidas de leituras em um luminômetro, com o objetivo de monitorar a bioluminescência gerada pela bactéria após a exposição aos compostos. Foram realizados seis ensaios no total, avaliando o SMZ, MNZ, MNZOH de forma isolada, além das combinações SMZ + MNZ, MNZ + MNZOH, MNZOH + SMZ, todos na concentração de 100 mg/L⁻¹. A escolha dessa concentração baseia-se na Diretiva CE 93/67/CEE (Comissão Europeia, 1993), que considera que substâncias com valores de EC₅₀ superiores a 100 mg/L⁻¹ não apresentam riscos significativos para os organismos aquáticos. No entanto, neste estudo, os antimicrobianos foram testados diretamente nessa concentração limite, para avaliar seus possíveis efeitos toxicológicos.

A toxicidade aguda das soluções foi determinada com base na porcentagem de inibição da bioluminescência, na qual valores superiores a 20% indicam toxicidade aguda, enquanto valores inferiores a 20% sugerem ausência desse efeito. Para garantir a salinidade adequada ao teste, as soluções foram preparadas em NaCl 30 g/L, conforme as especificações da estação móvel. A metodologia seguiu a Norma Técnica Brasileira de Métodos (ABNT NBR 15411-3:2021). O software R foi utilizado para a construção e análise do gráfico apresentado nos resultados **Fig. 1**, com o intuito de fornecer uma representação visual clara e precisa dos resultados obtidos. As condições experimentais seguiram rigorosamente os parâmetros técnicos recomendados para garantir a reprodutibilidade dos resultados e a validade dos testes.

RESULTADOS

Foi observada toxicidade de SMZ isolado e em mistura com MNZOH na concentração de 100 mg/L⁻¹ em *V. fischeri* (Fig. 1).

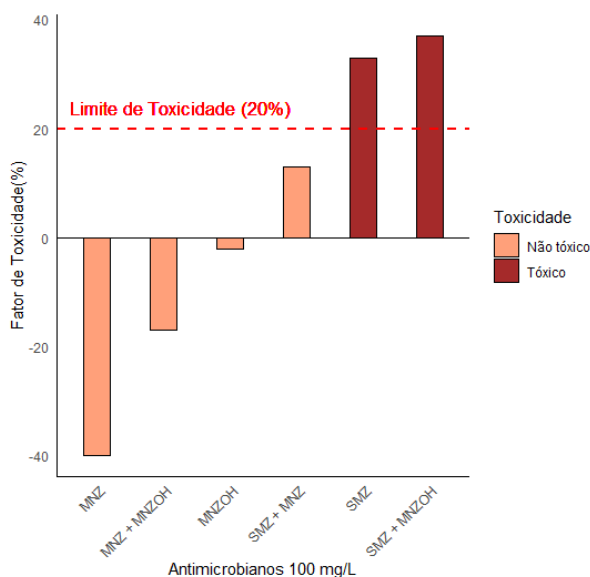


Fig. 1 Avaliação da toxicidade aguda de agentes antimicrobianos com base na inibição da luminescência de *Vibrio fischeri*. MNZ: metronidazol; SMZ: sulfametoxazol; MNZOH: hidroximetronidazol.

DISCUSSÃO

Os testes de toxicidades realizados com SMZ, MNZ e MNZOH, tanto de forma isolada quanto em misturas binárias, revelaram que apenas SMZ isolado e em combinação com MNZOH

indicaram efeitos tóxicos para *V. fischeri*. Diante disso, nossos resultados são condizentes com dados de GRABARCZYK *et al.* (2020) que relataram um valor de EC_{50} de $51,77 \text{ mg/L}^{-1}$ para *V. fischeri*, classificando SMZ como “nocivo para organismos aquáticos”, de acordo com a Comissão Europeia (EC 93/67/ECC, 1993), na qual define que substâncias com $EC_{50} < 1 \text{ mg/L}^{-1}$ são considerados “muito tóxicos para organismos aquáticos”, entre $1-10 \text{ mg/L}^{-1}$ “tóxicos para organismos aquáticos”, entre $10-100 \text{ mg/L}^{-1}$ “nocivos para organismos aquáticos”, e acima de 100 mg/L^{-1} “classificados como não prejudiciais aos organismos aquáticos”.

Em comparação, o estudo de ISIDORE *et al.* (2005), que avaliou o SMZ na concentração de 100 mg/L^{-1} , também encontrou efeitos significativos, com um EC_{50} de $23,3 \text{ mg/L}^{-1}$ para *V. fischeri*, corroborando os achados de GRABARCZYK *et al.* (2020) e os do presente estudo. No entanto, a contribuição deste estudo se destaca pela inclusão do metronidazol e de seu principal produto de transformação, o MNZOH, na avaliação da toxicidade para *V. fischeri*. Que por sua vez quando combinado com SMZ demonstrou toxicidade na bactéria. Sendo está uma nova evidência emergente na literatura científica.

Apesar desses resultados, vale considerar que a ausência de toxicidade aguda dos compostos isolados e das misturas pode ser atribuída ao curto período de exposição utilizada neste ensaio, tornando necessário estudos adicionais de exposição prolongada para avaliar possíveis efeitos tóxicos que não foram evidenciados nas condições do presente experimento (KOLODZIEJSKA *et al.*, 2013).

CONCLUSÕES

Os resultados sugerem que o SMZ, tanto isolado quanto em combinação com MNZOH, apresenta toxicidade para *V. fischeri*, o que levanta preocupações devido à persistência desses antimicrobianos no ambiente aquático. Contudo, a ausência de efeitos tóxicos nos testes realizados destaca a necessidade de estudos adicionais, utilizando bioindicadores alternativos e exposições prolongadas, uma vez que o tempo de exposição de 30 minutos empregado neste estudo pode ser insuficiente para detectar efeitos tóxicos dos compostos avaliados. Ensaio prolongados ou crônicos são incentivados por, fornecerem uma avaliação mais completa dos potenciais riscos ecotoxicológicos dos antimicrobianos nos ecossistemas aquáticos.

REFERÊNCIAS

ABBAS, M. et al. Aliivibrio fischeri bioluminescence inhibition assay for ecotoxicity assessment: A review. *Science of the Total Environment*, v. 626, p. 129, 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). *ABNT NBR 15411-3: Ecotoxicologia aquática — Efeito inibitório sobre a bioluminescência de Vibrio fischeri — Parte 3: Método utilizando bactérias liofilizadas*. 3. ed. Rio de Janeiro, 2021.

BALZER, F.; ZÜHLKE, S.; HANNAPPEL, S. Antibiotics in groundwater under locations with high livestock density in Germany. *Water Science and Technology Water Supply*, v. 16, n. 5, p. 1361-1369, 2016. <https://doi.org/10.2166/ws.2016.050>.

EUROPEAN COMMISSION. Commission Directive 93/67/EEC of 20 July 1993 laying down the principles for assessment of risks to man and the environment of substances notified in accordance with Council Directive 67/548/EEC. 1993.

GRABARCZYK, Lukasz et al. Ecotoxicity screening evaluation of selected pharmaceuticals and their transformation products towards various organisms. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020.

GUIMARÃES, Denise et al. Antibiotics: therapeutic importance and perspectives for the discovery and development of new agents. *New chemistry*, v. 33, p. 667-679, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000300035>.



HELLOU, J. Behavioural ecotoxicology, an “early warning” signal to assess environmental quality. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 18, p. 1-11, 2011.

HUSAIN KHAN, A. et al. Pharmaceutical residues in the ecosystem: Antibiotic resistance, health impacts, and removal techniques. *Chemosphere*, v. 339, p. 139647, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139647>.

ISIDORI, Marina et al. Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Science of the Total Environment*, 2005.

KOŁODZIEJSKA, Marta et al. Aquatic toxicity of four veterinary drugs commonly applied in fish farming and animal husbandry. *Chemosphere*, 2013.

MILOLOŽA, M. et al. Ecotoxicological assessment of microplastics in freshwater sources—A review. *Water*, v. 13, n. 1, p. 56, 2020.

MONITOX. Kit Monitox® 2021. Ensaio de Toxicidade Aguda com *Vibrio fischeri*. Acessado em: out. 2024. Disponível em: <file:///C:/Users/User/Downloads/Bula-Kit-Monitox.pdf>.

SALMA, U. et al. Occurrence, seasonal variation, and environmental risk of multiclass antibiotics in the urban surface water of the Buriganga River, Bangladesh. *Chemosphere*, v. 370, p. 143956, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143956>.

SANTOS, L. H. M. L. M. et al. Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Science of The Total Environment*, v. 461-462, p. 302-316, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.077>.

SHAMS, D. F. et al. Occurrence of selected antibiotics in urban rivers in northwest Pakistan and assessment of ecotoxicological and antimicrobial resistance risks. *Chemosphere*, v. 352, p. 141357, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141357>.

WANG, H. et al. Ecotoxicological effects, environmental fate and risks of pharmaceutical and personal care products in the water environment: A review. *Science of the Total Environment*, v. 788, p. 147819, 2021.

WU, D. et al. From river to groundwater: Antibiotics pollution, resistance prevalence, and source tracking. *Environment International*, v. 196, p. 109305, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2025.109305>.

ZHANG, Y. et al. Impacts of farmland application of antibiotic-contaminated manures on the occurrence of antibiotic residues and antibiotic resistance genes in soil: A meta-analysis study. *Chemosphere*, v. 134529, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134529>.