



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Gerson Ismael Barbosa Pinheiro

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Ocorrência de antibióticos nas águas e o impacto para a saúde humana e ambiental”, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Maria Angelina Neves, Dr. César Gonçalves, Dr. Ricardo Andrade e Professor Doutor Nuno Ricardo Esteves Ferreira e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Outubro de 2020



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Gerson Ismael Barbosa Pinheiro

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Ocorrência de antibióticos nas águas e o impacto para a saúde humana e ambiental”, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Maria Angelina Neves, Dr. César Gonçalves, Dr. Ricardo Andrade e Professor Doutor Nuno Ricardo Esteves Ferreira e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Outubro de 2020

Eu, Gerson Ismael Barbosa Pinheiro, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2014185303, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo dos Documentos Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Ocorrência de antibióticos nas águas e o impacto para a saúde humana e ambiental” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 29 de outubro de 2020.

Gerson Ismael Barbosa Pinheiro

(Gerson Ismael Barbosa Pinheiro)

AGRADECIMENTOS

Agora que findo o meu percurso académico, não posso deixar de exprimir os meus
agradecimentos:

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, a toda a equipa docente e não docente, pela contribuição para o meu percurso académico, cívico e desenvolvimento pessoal.

Ao Professor Doutor Nuno Ricardo Esteves Ferreira, por toda a disponibilidade, orientações e ajuda na elaboração desta monografia.

À Dra. Maria Angelina Neves, Diretora Técnica, bem como a toda a equipa da Farmácia Castro por toda a paciência, carinho, dedicação e profissionalismo que tiveram comigo.

Ao Dr. César Gonçalves, Dr. Ricardo Andrade e a toda a equipa da Owlpharma pela oportunidade de estágio, pela forma como me acolheram e ensinamentos transmitidos.

Ao Diogo que sempre acreditou em mim e esteve sempre presente nos bons e maus momentos.

Às minhas irmãs, pelo amor incondicional e por serem o meu “porto de abrigo”.

Aos meus pais, sem os quais o meu percurso académico não seria possível.

À minha querida avó por todo o apoio e carinho.

Um muito obrigado a todos!

“Para vencer - material ou imaterialmente - três coisas definíveis são precisas: saber trabalhar, aproveitar oportunidades, e criar relações. O resto pertence ao elemento indefinível, mas real, a que, à falta de melhor nome, se chama sorte.”

Fernando Pessoa

ÍNDICE

Parte I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária	
Lista de Abreviaturas.....	8
1. Introdução.....	9
2. Farmácia Castro.....	10
3. Análise Swot.....	10
3.1. Pontos Fortes.....	10
3.2. Pontos Fracos.....	14
3.3. Oportunidades.....	14
3.4. Ameaças.....	15
4. Conclusão.....	16
Bibliografia.....	17
Parte II - Relatório de Estágio em Assuntos Regulamentares do Medicamento	
Lista de Abreviaturas.....	19
1. Introdução.....	20
2. Owlpharma – Consulting, Lda.	20
3. Análise Swot.....	21
3.1. Pontos Fortes.....	21
3.2. Pontos Fracos.....	23
3.3. Oportunidades.....	24
3.4. Ameaças.....	24
4. Conclusão.....	25
Bibliografia.....	26
Parte III – Monografia – “Ocorrência de antibióticos nas águas e o seu impacto na saúde humana e ambiental”	
Lista de Abreviaturas.....	28
Resumo.....	29
Abstract.....	30
Preâmbulo.....	31
1. Antibiótico e o seu Impacto.....	32
1.1. Definição de antibiótico.....	32
1.2. Antibióticos abordados.....	33
1.2.1. Macrólidos.....	35
1.2.1.1. Eritromicina.....	35
1.2.1.2. Azitromicina.....	36
1.2.1.3. Claritromicina.....	36
1.2.2. Fluorquinolonas.....	37
1.2.2.1. Ciprofloxacina.....	38
1.3. Resistência Bacteriana.....	38
1.3.1. Resistência aos antibióticos.....	38
1.3.2. Resistência no ambiente.....	39

1.3.2.1. Água Potável.....	40
1.3.2.2. Efluentes Hospitalares.....	40
1.3.2.3. Águas Residuais.....	41
1.3.2.4. Águas Superficiais.....	41
1.3.2.5. Águas Subterrâneas.....	42
1.3.2.6. Sedimentos.....	42
1.3.3. ARB & ARG.....	42
2. Ciclo de vida.....	44
2.1. Degradação na ETAR.....	45
2.2. Degradação no ambiente.....	47
3. Ecotoxicidade em ecossistemas aquáticos.....	48
3.1. Efeitos Ecotoxicológicos dos antibióticos.....	51
3.2. Avaliação do risco ambiental.....	52
4. Conclusão.....	57
Bibliografia.....	59
Anexos.....	65

PARTE I

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA



FARMÁCIA CASTRO

LISTA DE ABREVIATURAS

FC	Farmácia Castro
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
IMC	Índice de Massa Corporal
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MSRM	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats</i>

I. INTRODUÇÃO

O estágio curricular em Farmácia Comunitária está inserido no percurso de um estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC). Este estágio permite ao futuro farmacêutico, não só contatar com a realidade da profissão, mas também a oportunidade de aplicar todo o conhecimento adquirido ao longo dos 5 anos de formação, sendo por isso, fulcral para o desenvolvimento e formação do futuro profissional de saúde.

A Farmácia Comunitária é muitas vezes o primeiro local onde os utentes se dirigem na presença de doença e na procura da sua prevenção. Assim sendo, é fundamental que o farmacêutico esteja preparado não só para efetuar a correta dispensa de medicamentos, mas também realizar o correto aconselhamento de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM), suplementos alimentares, produtos de cosmética, uso veterinário entre outros.

O presente relatório é referente ao meu estágio na Farmácia Castro (FC) - Gondomar, realizado entre o dia 7 de janeiro de 2019 a 4 de maio de 2019, sob a orientação da Dra. Maria Angelina Neves e contempla uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) que envolve a análise de pontos fortes, fracos, oportunidades e das ameaças relativos ao mesmo.

O meu estágio decorreu em 2 fases: inicialmente contactei com todas as atividades referentes ao *Back Office* (receção de encomendas, armazenamento de produtos, reposição de stock, gestão e regularização de devoluções) e, posteriormente, a passagem para o atendimento ao público onde inicialmente tive oportunidade de assistir atendimentos realizados pela equipa da FC e pude observar qual a postura a ter com o utente e como gerir situações de conflito.

Por fim, contactei diretamente com os utentes de forma autónoma, dispensei e aconselhei medicamentos e ainda auxiliei os utentes na medição da pressão arterial e parâmetros bioquímicos.

2. FARMÁCIA CASTRO

A FC está sediada na rotunda dos Sete Caminhos, na Rua Dr. Francisco Sá Carneiro, no concelho de Gondomar, encontrando-se assim, localizada numa das rotundas mais movimentadas do concelho e perto dos vários Centros de Saúde da região.

De 2^a a 6^a feira, a FC funciona das 9h às 22h, sendo que aos sábados o horário de funcionamento é das 9h às 21h, salvo quando enquadra no turno das farmácias de serviço, mantendo-se aberta 24h do dia.

3. ANÁLISE SWOT

PONTOS FORTES

- Localização
- Recursos humanos e acompanhamento
- *Back Office*
- Sistema informático – Sifarma[®]
- Atendimento ao público e dispensa de medicamentos
- Diversidade de serviços prestados

OPORTUNIDADES

- Formações
- Variedade de produtos de saúde

PONTOS FRACOS

- Reduzida atividade de medicamentos manipulados
- Lacunas na formação académica

AMEAÇAS

- Vendas de MNSRM fora das farmácias
- Pedidos de MSRM sem receita
- Medicamentos esgotados nos

3.1 PONTOS FORTES

- LOCALIZAÇÃO

Uma vez que a FC se situa numa zona bastante movimentada, esta envolve muito trabalho, quer no *Back Office* quer no atendimento ao público. Por estes motivos, tive a oportunidade de estar em contato com um perfil de utentes bastante heterogéneo de diferentes faixas etárias e diferentes graus de instrução.

Considero que o contato tão diversificado de utentes foi uma mais-valia na minha formação, pois ajudou-me a desenvolver as minhas capacidades de adaptação, tanto a nível de linguagem como de postura tendo sempre como foco a saúde e o bem-estar dos utentes.

- RECURSOS HUMANOS E ACOMPANHAMENTO

A equipa da FC é constituída pela Dra. Maria Angelina Neves, farmacêutica e Diretora Técnica; pelos farmacêuticos: Dra. Cármen Sousa, Dra. Ana Marques, Dra. Marta Gomes, Dr. José Oliveira e o Dr. Pedro Silva; pelos técnicos: Fernando Ramos, Iolanda Paiva e Luísa Leal.

A integração nesta equipa jovem, proactiva e competente foi claramente um contributo muito positivo para o meu estágio. Todos os membros da equipa sempre se mostraram disponíveis para me ensinar e para esclarecer todas as minhas dúvidas, o que me permitiu evoluir a cada dia.

- BACK OFFICE

Durante o meu primeiro mês na farmácia, a receção e armazenamento de encomendas foram a minha principal atividade. Esta, permitiu-me não só o contato direto com os nomes comerciais dos medicamentos e a sua associação aos princípios ativos, mas também conhecer a localização de armazenamento dos diversos produtos da farmácia e ainda, a familiarização com o sistema informático.

- SISTEMA INFORMÁTICO – SIFARMA®

Atualmente, a FC utiliza duas versões Sifarma®, sistema informático desenvolvido pela Glintt. O Sifarma 2000®, versão mais antiga deste sistema, e o Sifarma Módulo de Atendimento, uma versão melhorada do Sifarma 2000®. Esta última versão ainda se encontra em fase de teste num grupo restrito de farmácias a nível nacional, porém o futuro passará pela sua implementação.

Durante o atendimento, este sistema foi claramente um grande apoio no decorrer do meu estágio, pois possui inúmeras funcionalidades, tais como: a criação de fichas de utentes (onde se inserem os dados do utente e onde fica registado o histórico da sua medicação), informações relativas à indicação terapêutica, posologia, composição, contraindicações, interações medicamentosas, reações adversas e precauções para quase todos os Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) e MNSRM, possibilitando assim um acompanhamento farmacoterapêutico e um atendimento mais seguro e eficaz.

Apesar do sistema mais recente ser muito mais rápido e intuitivo, este apresenta algumas limitações, obrigando ao uso simultâneo da versão Sifarma 2000[®]. De entre essas limitações, destacam-se: o processo de gestão e receção de encomendas, aplicação de descontos, visualização do histórico de venda de cada utente e respetivos créditos.

Sendo o Sifarma[®] o sistema informático mais prevalente nas farmácias comunitárias, considero que contacto com as duas versões se demonstrou construtivo e desafiante.

▪ ATENDIMENTO AO PÚBLICO E DISPENSA DE MEDICAMENTOS

O atendimento ao público foi, sem dúvida, a etapa fulcral e mais marcante do meu estágio. Esta atividade é uma excelente oportunidade para aplicar em contexto prático os conhecimentos adquiridos ao longo do MICEF.

Após um mês a trabalhar no *Back Office*, comecei o atendimento ao balcão. Inicialmente assisti a atendimentos realizados pelos farmacêuticos da FC, possibilitando-me observar como se processa todo o atendimento e o que com ele acarreta (desde o contato com os utentes, à abordagem ideal no aconselhamento farmacêutico e até ao nível do sistema informático).

Visto que era a minha primeira vez ao balcão, estava bastante apreensivo que os utentes não se sentissem seguros e hesitassem por ser estagiário. No entanto, ocorreu o contrário, isto é, consegui criar bastante cumplicidade e proximidade com vários utentes da FC, alguns dos quais mais tarde pediam para serem atendidos especificamente por mim, o que de certa forma compactuavam com o que ia sentindo. Como é de esperar, com o tempo fui ganhando mais confiança em mim mesmo e nos meus conhecimentos, o que me faziam sentir cada vez mais confortável no meu posto.

O farmacêutico deve ser capaz de conseguir adaptar o atendimento ao tipo de utente, com o intuito que a utilização dos medicamentos e outros produtos seja a mais eficaz, segura e de melhor qualidade, este deve conseguir transmitir toda a informação fundamental de forma clara, objetiva e compreensível (de forma verbal ou escrita), promovendo-se como tal, o uso racional do medicamento.

De seguida apresentarei dois casos práticos que ocorreram durante o meu estágio.

1. CASO A

D.M, utente do sexo masculino, com cerca de 25 anos, apresenta-se na farmácia queixando-se de tosse com expectoração referindo que a mesma persiste há 2 dias. O utente refere que não quer xarope.

Depois de confirmar com o utente que este era o único sintoma, que a expectoração era normal, não tinha febre, não tomava medicação nem tinha nenhuma patologia associada diagnosticada, aconselhei um expectorante mucolítico e fluidificante. Uma vez que o utente referiu não querer xarope, sugeri o Flui mucil[®] 600 mg (acetilcisteína) comprimidos efervescentes, explicando que deveria tomar um por dia, de preferência à noite.

2. CASO B

A.F, utente do sexo feminino, com cerca de 30 anos, apresenta-se na farmácia queixando-se de dor num dente que dura há mais de 3 dias. O utente pede algo para as dores.

Neste caso, aconselhei a utente a consultar o médico dentista o mais rapidamente possível, pois poderia ter uma infeção bucodentária e ser necessário a toma de antibiótico.

Para as dores, dispensei uma caixa de Brufen[®] 400 mg (ibuprofeno) até à data da consulta.

Expliquei que deve tomar 1 comprimido 3 vezes ao dia (8-8h) e que a sua toma não deve exceder mais de 7 dias.

▪ DIVERSIDADE DE SERVIÇOS PRESTADOS

Para além da dispensa de medicamentos anteriormente referida, a FC tem ao dispor dos seus utentes diversos serviços farmacêuticos, tais como: determinação do peso, altura, índice de massa corporal (IMC), medição da pressão arterial, glicémia, colesterol total, triglicéridos, administração de vacinas e outros medicamentos injetáveis e ainda, consultas de nutrição.

Os serviços mais requisitados e com o qual contatei mais vezes foram a medição da pressão arterial e a medição da glicémia.

Sempre que procedia à determinação da pressão arterial, aconselhava, de acordo com os valores obtidos, a importância da monitorização regular e de respeitarem a terapêutica prescrita e o papel da manutenção de um estilo de vida saudável (medidas não farmacológicas).

Na medição da glicemia capilar, sempre que os valores se encontravam fora dos limites recomendados, explicava ao utente a importância do cumprimento da terapia medicamentosa prescrita pelo médico e os cuidados que deveria ter na dieta.

3.2. PONTOS FRACOS

- REDUZIDA ATIVIDADE DE MEDICAMENTOS MANIPULADOS

Segundo a Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho, entende-se por medicamento manipulado “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico”.

Apesar de existir um laboratório destinado a preparação de manipulados na FC, atualmente a prescrição deste tipo de medicamento não é muito frequente.

Contudo, no decorrer do meu estágio tive a oportunidade de preparar a pomada de vaselina enxofrada a 6%, para o tratamento de escabiose.

- LACUNAS NA FORMAÇÃO ACADÉMICA

Embora o MICF dê-nos excelentes bases teóricas para desempenhar o nosso papel com sucesso, existem ainda algumas lacunas. No decorrer do meu estágio a dispensa de MNSRM, medicamentos de uso veterinário e aconselhamento de produtos de cosmética, ortopedia, higiene oral, puericultura e maternidade foram sem dúvida onde tive maior dificuldade. Assim, era importante incorporar estas temáticas no plano de estudos do curso num contexto mais prático. No entanto, reconheço que as lacunas supracitadas são ultrapassadas com a experiência profissional, ainda assim, penso que o curso deveria ter uma componente mais prática, de maneira a melhor preparar os futuros farmacêuticos para aquilo que é a realidade de uma Farmácia Comunitária quer na parte de aconselhamento, quer na parte de gestão.

3.3. OPORTUNIDADES

- FORMAÇÕES

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de ampliar os meus conhecimentos a nível da dermocosmética e de algumas patologias. Foi-me permitido assistir a ações de formação onde as marcas apresentam os seus novos produtos, as patologias para as quais se direcionam, informação científica que comprove a sua eficácia e a sua posição no mercado.

Assim sendo, considero que estas formações foram fulcrais pois permitiram não só conhecer novos produtos, mas também adquirir conhecimentos para o aconselhamento nestas áreas e bases para a realização de *cross-selling*.

- VARIEDADE DE PRODUTOS DE SAÚDE

A FC dispõe uma enorme variedade de produtos, desde artigos de dermocosmética, puericultura e maternidade, produtos de higiene, medicamentos de uso veterinário entre outros. Desta forma, o contato com toda esta variedade de produtos tornou-se um desafio constante, uma vez que a formação académica nestas áreas é limitada, porém, mostrou-se uma oportunidade de aprendizagem contínua. Para além de toda a ajuda da equipa da FC, a possibilidade de estudar o material técnico-científico fornecido pelos laboratórios permitiu-me alargar os meus conhecimentos relativamente aos mesmos.

3.4. AMEAÇAS

- VENDA DE MNSRM FORA DAS FARMÁCIAS

A venda de MNSRM fora das farmácias consta uma ameaça à viabilidade económica das farmácias comunitárias, pois os preços praticados fora das mesmas são mais baixos e levam a farmácia abdicar da margem de lucro para se tornar competitiva.

Foi usual no decorrer do meu estágio, após informar os utentes do preço de um MNSRM, os utentes responderem que “na parafarmácia X é mais barato”. Assim, afeta não só economicamente a farmácia, mas também pode afetar a saúde do utente, uma vez que o aconselhamento da correta e segura utilização destes medicamentos fora de farmácias é insuficiente.

- PEDIDOS DE MSRSM SEM RECEITA

Outra situação comum que vivenciei no decorrer do meu estágio foi a solicitação de MSRSM sem apresentação da mesma.

A meu ver estas situações são consideradas como ameaças, uma vez que a recusa da dispensa deste tipo de medicamentos incita um sentimento de revolta no utente, acabando por gerar desconfiança em relação à farmácia e ao farmacêutico. Os utentes acham que a não cedência destes medicamentos é devido a burocracias, pois cada farmácia tem as suas políticas de dispensa de medicamentos que, ocasionalmente, não estão conformes com a legislação em vigor. Esta realidade faz com que muitos dos utentes desvalorizem o perigo da sua dispensa.

Estas situações podem deixar em desvantagem a farmácia, uma vez que, na maioria das vezes, os utentes não percebem e acabam por adquirir a mesma medicação noutras farmácias.

- MEDICAMENTOS ESGOTADOS NOS FORNECEDORES

Por vezes determinados medicamentos encontravam-se esgotados, tornando-se impossível a dispensa dos mesmos. Estas situações causavam algum transtorno, não só aos profissionais de saúde que não conseguiam dar respostas às necessidades dos utentes, como também para os utentes envolvidos que muitas vezes eram obrigados a procurar o medicamento noutras farmácias ou falar com o seu médico para que este lhes pudesse alterar a medicação.

Infelizmente alguns utentes culpavam a farmácia pela falta dos mesmos, no entanto, quando me deparava com esta situação explicava de forma calma e clara que estas situações não eram intrínsecas à farmácia.

4. CONCLUSÃO

O estágio curricular em Farmácia Comunitária permite o contato direto com a realidade da profissão, permitindo a aplicação prática e direta de todo o conhecimento teórico adquirido ao longo do percurso académico.

Com o estágio em Farmácia Comunitária foi-me possível constatar a responsabilidade e contributo desta profissão para a sociedade, quer a nível de bem-estar como da promoção de saúde.

A experiência de estagiar na FC foi muito enriquecedora e ultrapassou todas as minhas expectativas. Para além de ter gostado imenso de trabalhar diretamente com o público, deparei-me com uma equipa de excelência, por ser extremamente profissional e sempre pronta a auxiliar no meu desenvolvimento enquanto futuro farmacêutico.

Resta-me, por isso, agradecer a toda a equipa da FC pela experiência gratificante que me proporcionaram e por todos os seus ensinamentos e conselhos.

BIBLIOGRAFIA

- I. INFARMED, I. P. Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho: Boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em Farmácia de Oficina e Hospitalar. Consultado a 18 de maio de 2019) Disponível em: https://www.infarmed.pt/documents/15786/1070327/portaria_594-2004.pdf

PARTE II

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM ASSUNTOS REGULAMENTARES DO MEDICAMENTO



OWL
PHARMA CONSULTING

LISTA DE ABREVIATURAS

AIM	Autorização de Introdução no Mercado
AR	Assuntos Regulamentares
CTD	<i>Common Technical Document</i>
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
FI	Folheto Informativo
IPN	Instituto Pedro Nunes
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
QRD	<i>Quality Review of Documents</i>
RCM	Resumo das Características do Medicamento
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunites, Threats</i>

I. INTRODUÇÃO

O estágio curricular em Assuntos Regulamentares (AR) surge no âmbito da unidade curricular “Estágio” do 5ºano do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC).

Na minha opinião, o estágio curricular é um dos pontos altos do MICF, pois proporciona aos estudantes não só um primeiro contato com a realidade profissional, mas também a aplicação dos conhecimentos técnicos e científicos adquiridos ao longo do percurso académico. Para além do estágio obrigatório de Farmácia Comunitária, a FFUC, disponibiliza (em conjunto com várias entidades) várias oportunidades de diversos estágios para os estudantes, em diferentes áreas de atuação, destacando-se assim entre as outras instituições de ensino que lecionam Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Apesar deste estágio não ser obrigatório, sempre me interessei pela área regulamentar graças ao Professor Doutor João José Sousa, docente que leciona a unidade curricular de Assuntos Regulamentares do Medicamento. Desta forma, quando surgiu a possibilidade de estagiar na consultora farmacêutica Owlpharma – Consulting, Lda. Sediada em Coimbra, aceitei a oportunidade de imediato.

O presente relatório é referente ao meu estágio na Owlpharma, realizado entre o dia 6 de janeiro de 2020 e 31 de março de 2020, sob a orientação dos dois Diretores, Dr. César Gonçalves e Dr. Ricardo Andrade e contempla uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) que envolve a análise de pontos fortes, fracos, oportunidades e das ameaças relativos ao mesmo.

2. OWLPHARMA – CONSULTING, LDA.

A Owlpharma – Consulting, Lda. é uma empresa de consultadoria farmacêutica nas áreas de Assuntos Regulamentares, Farmacovigilância, Garantia de Qualidade e *Medical Affairs*, sediada em Coimbra.

Foi criada em 2013 e iniciou o seu percurso na incubadora de empresas do Instituto Pedro Nunes (IPN), no entanto e devido ao seu crescimento, atualmente dispõe de escritórios em Coimbra e Lisboa.

3. ANÁLISE SWOT

PONTOS FORTES

- Integração na equipa
- Formações
- Diversidade de tarefas
- Autonomia e Independência
- Desenvolvimento de competências
- Diversidade de tarefas

PONTOS FRACOS

- Falta de *feedback*
- Repartição de tempo entre os vários departamentos

OPORTUNIDADES

- Estágio em AR

AMEAÇAS

- Não reconhecimento do estágio em AR

3.1. PONTOS FORTES

▪ INTEGRAÇÃO NA EQUIPA

A Owlpharma é composta por uma equipa bastante jovem, competente e dinâmica, à qual eu e a colega estagiária Érica Nunes fomos apresentados no primeiro dia de estágio. Estas características foram essenciais para uma boa integração na equipa. Dentro desta equipa foi fácil sentir-me à vontade para entrar no ritmo de trabalho, colocar as minhas dúvidas e fazer sugestões sem qualquer constrangimento.

▪ FORMAÇÕES

No primeiro dia de estágio, tivemos uma série de formações iniciais, para uma melhor compreensão acerca do funcionamento da empresa, das áreas em que esta atua e atividades desempenhas com mais frequência.

A primeira formação foi dedicada à área de AR, e na qual nos foram explicados os pontos chaves dos mesmos, mais especificamente sobre:

- ⇒ *Guidelines* da Agência Europeia do Medicamento (EMA);
- ⇒ Dossiers do medicamento no formato *Common Technical Document* (CTD);
- ⇒ Tipos de Autorização de Introdução no Mercado (AIM);
- ⇒ Alterações aos termos de AIM e Renovações de AIM.

A segunda formação foi relativa a “Informação do Produto”, onde nos foi alertado e explicados os vários tipos de documentos com os quais nos podíamos deparar durante o estágio, dos quais:

- ⇒ Resumo das Características do Medicamento (RCM);
- ⇒ Folheto Informativo (FI);
- ⇒ Rotulagem.

Realçando que todos estes se regem pelas características do *Quality Review of Documents* (QRD).

Ainda no decorrer do estágio, a Doutora Lúcia Ferreira (*Medical & Scientific Manager*), deu-nos formação sobre os procedimentos de verificação da legibilidade de um FI. Posteriormente, foi-nos delegada a realização de Testes de Legibilidade (composto por uma série de entrevistas a voluntários) de um novo medicamento e para o qual testámos a legibilidade do FI, junto da população/voluntários.

▪ DIVERSIDADE DE TAREFAS

De entre as diversas tarefas propostas durante o meu estágio realço as seguintes:

- ⇒ Preparação de alterações aos termos de AIM (Dossier, Cover Letter e Formulário);
- ⇒ Elaboração e revisão (tradução do Inglês para Português) de Resumo das Características do Medicamento (RCM), Folhetos Informativos (FIs) e Rotulagens, segundo o formato QRD;
- ⇒ Revisão de artes gráficas de RCM, FI e Rotulagens;
- ⇒ Revisão da legislação do mercado dos Produtos de Cosmética na Europa;
- ⇒ Teste de legibilidade de FI;
- ⇒ Realização de comparações entre o RCM e o EUCSI aprovado.

Ao longo do estágio, realizei todas estas tarefas com todo o empenho e profissionalismo, recorrendo à equipa da Owlpharma sempre que me encontrava com alguma dúvida.

▪ AUTONOMIA E INDEPENDÊNCIA

A autonomia e de certa forma a independência são, no meu ponto de vista, duas características fundamentais para o desenvolvimento pessoal e profissional de um farmacêutico. Durante o meu estágio na Owlpharma, não só me foi concedida autonomia e independência, como também confiança, na realização das mais diversas tarefas que me foram

atribuindo. O facto de todos os nossos trabalhos serem posteriormente revistos e validados por alguém mais experiente, deixavam-me de certo modo mais confortável durante a sua realização. Antes de cada nova tarefa eram dadas algumas orientações, sempre com a possibilidade de esclarecermos dúvidas, caso fosse necessário.

- **DESENVOLVIMENTO DE COMPETÊNCIAS**

Durante o estágio consegui consolidar os meus conhecimentos académicos e adquirir novos saberes teóricos e práticos, dos quais realço o desenvolvimento e aperfeiçoamento de competências linguísticas e informáticas.

Quanto às competências linguísticas, com o decorrer do estágio a língua inglesa esteve sempre presente, onde me possibilitou a melhoria e aperfeiçoamento aplicado à área científica e regulamentar. A minha maior dificuldade foi o confronto diário de vocabulário técnico e científico muito específico, assim como expressões das quais não estava habituado, tornando-se um desafio constante em compreender e traduzir de forma eficaz. Todavia, existem ferramentas que auxiliam neste processo, como por exemplo o MedDRA. Por outro lado, dada a vasta experiência da equipa da Owlpharma senti que era relativamente fácil conseguir tirar as minhas dúvidas.

Quanto às competências informáticas, consegui adquirir novos conhecimentos no Microsoft Word®, Acrobat Reader DC® e Microsoft Excel®. Como não estava habituado a trabalhar com o ambiente Office® (Word®, Excel® e PowerPoint®) mas sim OS® (Pages®, Keynote® e Numbers®) da Apple® no início foi desafiante, mas rapidamente me consegui adaptar a esta mudança. Surgiu também a oportunidade, de ao longo do meu estágio contactar com a plataforma SMUH-ALTER do INFARMED, para submeter alterações aos termos de AIM.

3.2. PONTOS FRACOS

- **FALTA DE FEEDBACK**

Numa fase inicial, senti que por vezes, talvez devido ao volume de trabalho, os colaboradores não me conseguiam dar o feedback das minhas tarefas (por exemplo, traduções), bem como o resultado final enviado ao cliente. O que tornava difícil para mim ir de encontro às expectativas dos mesmos. Este aspeto criou em mim, a princípio algumas incertezas em relação à qualidade do trabalho que realizava. Penso que este ponto poderia ser facilmente ultrapassado caso eu o tivesse pedido. No entanto, não sentia a confiança necessária

para o fazer, sendo que poderia partir por partes dos mesmos, numa fase inicial, esta mesma orientação.

Com o tempo e, como forma de atenuar este ponto negativo, optei por questionar os membros da empresa sempre que realizava um trabalho pela primeira vez e me sentia inseguro em relação ao resultado final.

- **REPARTIÇÃO DO TEMPO ENTRE OS VÁRIOS DEPARTAMENTOS**

Logo desde o início fui destacado, exclusivamente, para o departamento de AR. Apesar de, em certo modo, ter sido uma mais-valia, uma vez que ganhei imensa destreza na realização dos trabalhos que me eram solicitados em AR, sinto que o facto de não ter vivenciado a realidade de outros departamentos (nomeadamente Farmacovigilância e Qualidade) me limitou a experiência do estágio numa consultora farmacêutica. Penso que o tempo em cada departamento deveria ser uniforme, possibilitando assim ao estagiário conhecer outras realidades.

3.3. OPORTUNIDADES

- **ESTÁGIO EM AR**

A possibilidade fornecida pela FFUC na realização de estágios para além da Farmácia Comunitária e Farmácia Hospitalar é uma oportunidade única e exclusiva. Assim sendo, a realização do meu estágio na área dos AR fornece-me um fator de distinção, uma vez que a maioria dos alunos passam apenas por Farmácia Comunitária e Farmácia Hospitalar. Este estágio, bem como qualquer outro na área da Indústria Farmacêutica, permite uma visão alargada dos setores farmacêuticos.

3.4. AMEAÇAS

- **NÃO RECONHECIMENTO DO ESTÁGIO EM AR**

Todos os estágios em Indústria Farmacêutica, inclusive em AR, não é reconhecido o que faz com que haja diferença de cargas horárias entre os vários estágios. Desta forma, os alunos que decidam realizar um estágio nesta área têm de fazer 810h em Farmácia Comunitária, em oposição às 670h a quem faz estágio em Farmácia Hospitalar. Possibilitamos o desconto de 170h, em Farmácia Comunitária, desde que o Estudante tenha realizado

num dos dois anos anteriores pelo menos um Estágio de Verão de duração não inferior a um mês (140 horas) em Farmácia Comunitária/Farmácia Hospitalar.

No meu caso, uma vez ter realizado um estágio de verão em Farmácia Hospitalar, foi-me descontado horas em Farmácia Comunitária.

4. CONCLUSÃO

O estágio curricular em AR relevou-se uma experiência muito positiva e enriquecedora tanto a nível profissional como a nível pessoal, na medida em que me permitiu criar contacto com o mundo empresarial, melhorar metodologias de trabalho e empregar conhecimentos técnico-científicos, com situações práticas e reais do mundo de trabalho, que adquiri ao longo do percurso académico. Desta forma, consegui desenvolver competências fundamentais para ter sucesso no meu futuro profissional.

Tenho desta forma agradecer à FFUC e a toda a equipa da Owlpharma que tão bem me recebeu e acolheu durante estes três meses.

Embora este ano esteja a ser diferente de todos os outros, com várias adaptações tanto na faculdade como no mundo de trabalho, devido à pandemia COVID-19, a Owlpharma possibilitou-me a continuação do meu estágio através de teletrabalho (duas últimas semanas de março de 2020), o que demonstrou a confiança depositada em mim.

Findo este estágio com uma visão diferenciada daquilo que é o mercado de trabalho e da comunicação que existe entre as diferentes áreas dentro do setor farmacêutico. Esta experiência possibilitou-me o desenvolvimento de algumas *soft skills* como espírito crítico, metodologia de trabalho e gestão de tempo, que me irão acompanhar-me durante a minha vida profissional.

BIBLIOGRAFIA

- I. Owlpharma – Owlpharma Consulting. (Consultado a 18 de Agosto de 2020)
Disponível em: <http://www.owlpharma.pt/>

PARTE III

**OCORRÊNCIA DE ANTIBIÓTICOS NAS ÁGUAS E O
IMPACTO NA SAÚDE HUMANA E AMBIENTAL**

LISTA DE ABREVIATURAS

ARB	Bactérias de Resistência aos Antibióticos
ARG	Genes de Resistência aos Antibióticos
AZI	Azitromicina
CIP	Ciprofloxacina
CLA	Claritromicina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EC ₅₀	<i>Effective concentration</i>
ERA	<i>Environmental Risk Assessment</i>
ERI	Eritromicina
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais
EU	União Europeia
FQ	Fluorquinolonas
LC ₅₀	<i>Lethal concentration</i>
ng/L	nanograma por litro
NOEC	<i>No observed effect concentration</i>
OCDE	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBT	Persistência, Bioacumulação, Toxicidade
PEC _{sw}	Concentrações Ambientais previstas em Águas Superficiais
PNEC	Concentração Prevista Sem efeito
RQ	Quociente de Risco
UCI	Unidade de Cuidados Intensivos
µg/L	micrograma por litro

RESUMO

A detecção de antibióticos e outros compostos farmacêuticos nas águas residuais e no ambiente aquático, trouxe uma preocupação crescente sobre os seus potenciais impactos ecológicos e humanos adversos. A difusão destes no ambiente contribui para o desenvolvimento e a difusão global da resistência aos antibióticos. Este fenómeno é um dos mais importantes desafios para o sector da saúde no século XXI. Por conseguinte houve um aumento do seu estudo tanto sobre a sua ocorrência, efeitos e destino. No entanto, a sua potencial ecotoxicidade aquática e toxicidade humana através de vias de exposição ambiental permanecem desconhecidas.

Os antibióticos abordados pertencem a duas classes diferentes, fluoroquinolonas (CIP) e macrólidos (AZI, CLA e ERY), que inibem o crescimento bacteriano. As fluoroquinolonas atuam inibindo a síntese de DNA bacteriano, e os macrólidos ligam-se aos ribossomas bacterianos, inibindo a biossíntese de proteínas.

O objetivo desta monografia é discutir a ocorrência de medicamentos antimicrobianos no ambiente aquático, dos seus efeitos adversos causados e a ameaça associada ao fenómeno da resistência aos antibióticos.

Palavra-chave: Antibiótico, Meio aquático, Resistência aos Antibióticos, Ecotoxicidade.

ABSTRACT

The discovery of antibiotics and other pharmaceutical compounds in wastewater and the aquatic environment has brought growing concern about their potential adverse ecological and human impacts. The diffusion of these in the environment contributes to the development and global spread of antibiotic resistance. This phenomenon is one of the most important challenges for the health sector in the 21st century. Therefore, there has been an increase in its study both on its occurrence, effects and fate. However, its potential aquatic ecotoxicity and human toxicity through environmental exposure routes remain unknown. The selected antibiotics belong to two different classes, fluoroquinolones (CIP) and macrolides (AZI, CLA and ERY), which inhibit bacterial growth. Fluoroquinolones act by inhibiting bacterial DNA synthesis and macrolides link to the bacterial ribosomes, inhibiting protein biosynthesis. The aim of this monograph is to discuss the occurrence of antimicrobial drugs in the aquatic environment, their adverse effects and the threat associated with the phenomenon of antibiotic resistance.

Keywords: Antibiotic, Aquatic Environment, Antibiotic Resistance, Ecotoxicity.

PRÊAMBULO

Os antibióticos são concebidos para estimular uma resposta fisiológica nos seres humanos, animais, bactérias ou outros organismos. Nos últimos tempos, cresceu a preocupação acerca dos efeitos adversos que a utilização e eliminação de fármacos pode potencialmente ter na saúde humana e ecológica (Kümmerer, 2003).

A descoberta, comercialização e administração dos compostos antimicrobianos para tratar de infecções revolucionou a medicina moderna e modificou o paradigma terapêutico.

Infelizmente o aumento acentuado da resistência entre as bactérias mais comuns está a ameaçar este marco terapêutico. É de salientar que a OMS (Organização Mundial de Saúde) nomeou a resistência aos antibióticos como uma das três ameaças mais importantes à saúde pública do século XXI (Munita *et al.*, 2016).

Após um curto período de residência nos organismos humanos e animais, os antibióticos têm sido continuamente descarregados nos ecossistemas naturais através da excreção: urina e/ou fezes (Carvalho e Santos, 2016).

A evidência científica demonstrou que depois de passarem pelo tratamento de águas residuais, os compostos farmacêuticos em geral, e os antibióticos em particular, são libertados diretamente no ambiente (Kümmerer, 2003), e têm sido detetados em vários compartimentos do meio aquático, desde águas residuais, superficiais e subterrâneas. (Seifrtová *et al.*, 2009)

As duas principais preocupações relativas ao risco sanitário dos resíduos de antibióticos no ambiente são: o potencial perigo dos mesmos alterarem o microbioma humano e promoverem o aparecimento de resistência bacteriana; o potencial perigo de criar uma pressão seletiva sobre o microbioma ambiental e conduzir a reservatórios de resistência aos antibióticos no ambiente (Ben *et al.*, 2019).

Os antibióticos encontram-se globalmente no ambiente a níveis vestigiais devido ao seu consumo extensivo, o que suscita preocupações quanto aos efeitos que podem ter sobre organismos não-alvo, especialmente microrganismos aquáticos. (Välitalo *et al.*, 2017) Por essa razão, o risco ecológico destes compostos no ambiente aquático é uma preocupação crescente (Carvalho e Santos, 2016).

Os compostos farmacêuticos que serão abordados de forma mais discriminada, quanto ao seu mecanismo de ação e propriedades farmacocinéticas, são os representativos *major* das classes farmacêuticas baseado numa *watch list* da União Europeia (UE) (Pereira *et al.*, 2020a).

I. ANTIBIÓTICO E O SEU IMPACTO

I.1. DEFINIÇÃO DE ANTIBIÓTICO

Os antibióticos são uma classe de metabolitos secundários produzidos por microrganismos, bem como compostos análogos quimicamente sintetizados ou semi-sintetizados, que podem inibir o crescimento bacteriano (efeito bacteriostático) ou ter efeito microbicida (bactericida) (Ben *et al.*, 2019; Demain e Sanchez, 2009).

Estes podem ser designados por quimioterápicos quando produzidos por síntese química; podem ser semissintéticos quando são produzidos a partir de um composto natural, que é modificado quimicamente de modo a melhorar as suas propriedades terapêuticas e/ou o espectro de ação. Presentemente estas definições não têm significado real, dado que a maioria dos agentes antimicrobianos são derivados sintéticos de compostos originalmente produzidos por microrganismos. Os antibióticos com origem natural são produtos do metabolismo secundários de microrganismos (Barroso, Helena; Meliço-Silvestre, António; Taveira, 2014).

A literatura classifica os mesmos das mais diversas formas: quanto à origem, quanto à sua estrutura química e quanto ao seu mecanismo de ação (Barroso, Helena; Meliço-Silvestre, António; Taveira, 2014).

Na tabela I encontram-se as principais classes de antibióticos.

Contudo, dentro da mesma classe de antibióticos, pequenas mudanças na sua estrutura química podem influenciar a solubilidade e polaridade o que de certa forma irá influenciar o seu destino ambiental (Kümmerer, 2009a).

Devido à sua complexidade, estes podem apresentar distintas funcionalidades na mesma molécula. Deste modo, diferentes valores de pH podem tornar os antibióticos neutros, catiónicos, aniónicos ou zwitteriónicos, podendo, por essa razão, sofrer alterações nas suas propriedades biológicas e físico-químicas (Kümmerer, 2009b).

São muito úteis como agentes terapêuticos tanto no tratamento de doenças infecciosas humanas como na medicina veterinária, e hoje em dia são também amplamente utilizados na indústria pecuária e aquacultura (Ben *et al.*, 2019; Nisha, 2008).

Para além de serem utilizados na prevenção e tratamento de doenças animais, também são gradualmente adicionados como aditivos alimentares, agentes profiláticos e promotores de crescimento, o que excede a sua utilização terapêutica (Välitalo *et al.*, 2017).

Na União Europeia (UE) e outros países como a Suécia e a Suíça, o uso de antibióticos como promotores de crescimento na criação de animais tem sido proibido nos últimos anos (Kümmerer, 2009b).

Devido ao seu consumo em larga escala, os antibióticos foram detetados em vários ecossistemas, desde ambientes terrestres e aquáticos (Välitalo *et al.*, 2017).

Tabela I: Principais classes de antibióticos

Fonte: (Rang, H.P; Dale M.M; Ritter, J.M; Flower, R.J; Henderson, 2012)

Classificação	Grupos	Exemplo
QUANTO À SUA ESTRUTURA QUÍMICA	β -lactâmicos	Penicilinas
	Aminoglicosídeos	Gentamicina
	Tetraciclina	Doxiciclina
	Quinolonas	Ciprofloxacina (CIP)
	Macrólidos	Azitromicina (AZI)
	Lincosamidas	Clindamicina
	Streptograminas	Quinupristina
	Oxazolidinonas	Linezolida
	Polipeptídeos	Polimixina B
	Fenólicos	Cloranfenicol
	Glicopéptidos	Vancomicina
Sulfonamidas	Sulfadiazina	
QUANTO AO MECANISMO DE AÇÃO	Inibição da síntese da parede celular	β -lactâmicos
	Alteração da permeabilidade da membrana celular	Polimixinas
	Alteração da síntese dos ácidos nucleicos	Quinolonas
	Inibição da síntese proteica por ação sobre ribossomas	Macrólidos
	Inibição da cadeia metabólica envolvida no crescimento celular	Sulfonamidas

1.2. ANTIBIÓTICOS ABORDADOS

Tal como referido anteriormente, os antibióticos que irão ser abordados são os principais representantes das classes farmacêuticas baseado numa *watch list* da UE. Os mesmos pertencem a duas classes distintas: Fluorquinolonas (FQ) (ciprofloxacina (CIP)) e Macrólidos (eritromicina (ERI), azitromicina (AZI) e claritromicina (CLA) (Pereira *et al.*, 2020a).

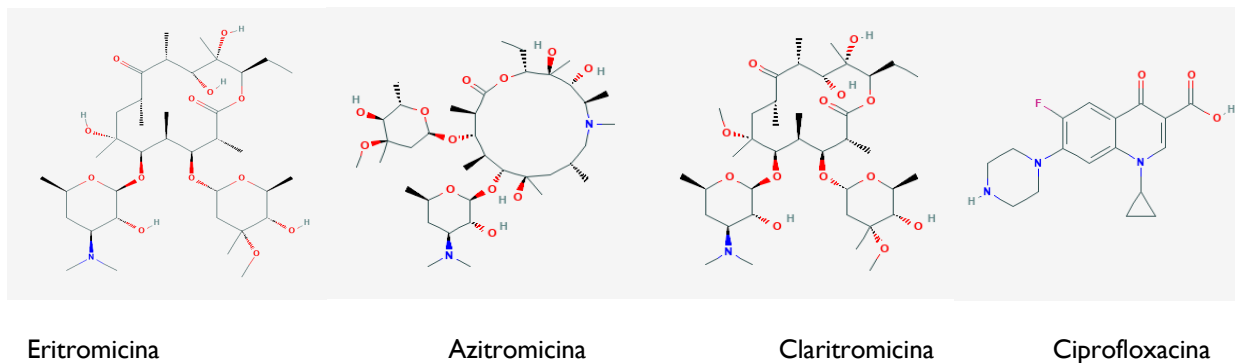


Figura I: Estrutura química da Eritromicina, Azitromicina e Claritromicina e Ciprofloxacina, respectivamente. Fonte: (PubChem)

Estes foram detetados em vários compartimentos do ambiente aquático (águas residuais, superficiais e subterrâneas). (Pereira *et al.*, 2020a, 2020b; Seifrtová *et al.*, 2009)

Após administração, estes, são parcialmente metabolizados e, portanto, uma grande quantidade é excretada sem alterações ou como metabolitos ativos através da urina e das fezes (Grenni, Ancona e Barra Caracciolo, 2018).

A excreção pela urina e/ou fezes é impulsionada por dois mecanismos, os metabolitos da Fase I e da Fase II (Pereira *et al.*, 2020a).

Na Fase I, o metabolismo hepático, através de reações de oxidação, redução e hidrólise modifica a estrutura molecular do fármaco, através da introdução de grupos funcionais, o que facilita depois as reações da fase II (Santos *et al.*, 2010).

As reações de fase II, ou reações de conjugação, consistem na adição de grupos endógenos (ácido glucurónico, sulfato, glutationa, etc.) a grupos funcionais recetivos presentes na molécula original ou no seu metabolito derivado da fase I (Santos *et al.*, 2010).

Desta forma criam-se metabolitos sucessivamente mais polares do que o composto farmacêutico original, aumentando assim a sua excreção (Daughton e Ternes, 1999).

Estes processos geralmente promovem a perda da atividade farmacêutica do composto. No entanto, existem fármacos que só se tornam ativos após conversão metabólica por reações enzimáticas do composto original (pró-fármacos) (Pereira *et al.*, 2020a).

A taxa de excreção contribui para um maior ou menor impacto ambiental e está relacionada com a ocorrência do composto farmacêutico original e dos seus metabolitos no compartimento aquático. Dentro dos antibióticos selecionados, a CIP é a que tem maior taxa de excreção, aproximadamente 84%, em comparação às taxas de ERI, AZI e CLA, que representam 5% - 25%, 12%, 25%, respectivamente (Pereira *et al.*, 2020a).

É de salientar que podem ser observadas alterações sobre o metabolismo destes compostos, isto devido a diferentes capacidades genômicas de metabolização, de raça, sexo, idade e estado de saúde (Pereira *et al.*, 2020a).

1.2.1. MACRÓLIDOS

Os macrólidos derivam do anel lactônico macrocítico da sua estrutura molecular. Tal como ilustrado na Figura 2, estes inibem a síntese proteica das bactérias ao ligar-se reversivelmente à subunidade 50S dos ribossomas, impedindo assim a associação e a ação da peptidiltransferase ou da translocação (ou ambas) (Guimarães, Serafim; Moura, Daniel; Soares da Silva, 2006).

Estes antibióticos têm tido um papel único no tratamento de doenças infecciosas devido ao seu espectro de atividade, propriedades anti-inflamatórias, biodisponibilidade oral, e sua disponibilidade para uso intravenoso (Fernandes *et al.*, 2019).

São amplamente prescritos para o tratamento de infecções agudas das vias respiratórias superiores e inferiores, doenças inflamatórias pélvicas, infecções de pele e tecidos moles, e erradicação da *Helicobacter pylori* (Bastida, Soy e Torres, 2020).

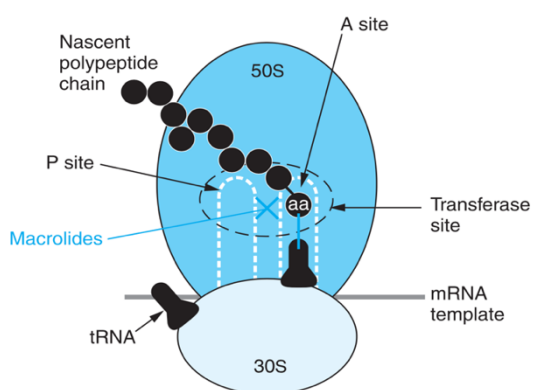


Figura 2: Mecanismo de ação dos Macrólidos

Fonte: (Brunton, 2017)

1.2.1.1 Eritromicina

A eritromicina foi isolada em 1952, a partir da cultura de *Streptomyces erythraeus*.

Possui 14 elementos no anel lactônico macrocítico, ao qual estão ligados dois “açúcares”: a desosamina e a cladinose. É pouco solúvel em água e é uma base fraca (pKa 8,8) (Guimarães, Serafim; Moura, Daniel; Soares da Silva, 2006).

Apresenta um espectro de ação contra uma vasta gama de bactérias Gram-positivas, tais como *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*; algumas bactérias Gram-negativas, tais como *Moraxella catarrhalis*; agentes patogênicos sem parede celular, tais como *Mycoplasma*

pneumoniae; e organismos intracelulares como *Legionella pneumophila*, *Chlamydia pneumoniae*, e *Coxiella burnetti*. É usada preferencialmente para o tratamento de infecções do trato respiratório (Fernandes *et al.*, 2019).

Esta é bem absorvida pelo duodeno, mas o ácido clorídrico inativa-a com facilidade. Torna-se necessário ministrá-la em comprimidos ou cápsulas revestidas com um material resistente ao ácido gástrico e desintegrável no intestino (Rang, H.P; Dale M.M; Ritter, J.M; Flower, R.J; Henderson, 2012).

Distribui-se amplamente em fluidos intracelulares, alcançando atividade antibacteriana quase em todos os locais, exceto o cérebro e o líquido cefalorraquidiano (LCR). A sua ligação às proteínas é cerca de 70% a 80% (Brunton, 2017).

Quanto à eliminação da ERI, o fígado excreta, fundamentalmente na forma intacta, 85%-95% da quantidade absorvida. As concentrações biliares são dez vezes superiores às sanguíneas e a quantidade presente nas fezes é muito elevada. Apenas 4% é eliminado pela urina (Brittain, 1987; Rang, H.P; Dale M.M; Ritter, J.M; Flower, R.J; Henderson, 2012).

1.2.1.2. Azitromicina

A azitromicina é o primeiro de uma classe de antibióticos designada quimicamente por azalidos. É um macrólido com 15 elementos no anel macrocítico, derivado da eritromicina, em que o grupo 9 do anel lactónico é substituído por um átomo de azoto. Esta modificação química confere à molécula maior estabilidade em meio ácido do que a eritromicina. É estável em meio ácido, tem boa biodisponibilidade e uma rápida absorção oral, atinge concentrações teciduais elevadas depois de libertada pelas células fagocíticas e tem semivida plasmática longa.

AZI é menos ativa em bactérias gram-positivas que a eritromicina, porém é consideravelmente mais eficaz sobre *H.influenzae* e *Legionella* (Rang, H.P; Dale M.M; Ritter, J.M; Flower, R.J; Henderson, 2012).

Após administração oral, a excreção biliar é uma das principais vias de eliminação do fármaco inalterado. Observaram-se concentrações muito elevadas de fármaco inalterado na biliar humana. Apenas 12% da AZI é excretada inalterada na urina (Brunton, 2017; Guimarães, Serafim; Moura, Daniel; Soares da Silva, 2006).

1.2.1.3. Claritromicina

A claritromicina é um antibiótico macrólido semissintético obtido a partir da substituição de um grupo CH₃O por um grupo hidroxilo na posição 6 no anel lactónico da eritromicina. É altamente potente contra uma grande variedade de microrganismos Gram-

positivos e Gram-negativos aeróbios e anaeróbios. A CLA é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal após administração oral, no entanto, o efeito de primeira passagem reduz a sua biodisponibilidade para 50% a 55%. Os picos de concentração ocorrem aproximadamente 2 horas após a sua administração (Brunton, 2017).

A CLA e o seu metabolito ativo, 14-hidroxiclaritromicina, distribui-se amplamente e atinge concentrações intracelulares elevadas em todo o corpo. As concentrações tecidulares excedem geralmente as concentrações séricas. A sua ligação às proteínas varia entre 40% a 70% e depende da concentração. É eliminada por mecanismos renais/ não renais, e metabolizada fundamentalmente no fígado a vários metabolitos, sendo o metabolito ativo 14-hidroxiclaritromicina o mais significativo. A semivida de eliminação é de 3 a 7 horas para a CLA e 5 a 9 horas para a 14-hidroxiclaritromicina. A quantidade de CLA excretada inalterada na urina varia de 20% a 40%, dependendo da dose administrada e da formulação (Brunton, 2017).

1.2.2. FLUORQUINOLONAS

As FQ resultam da introdução de um átomo de flúor e de um ciclo aminado na estrutura base das quinolonas, o que permitiu alargar o espectro de ação às bactérias Gram-positivo (Barroso, Helena; Meliço-Silvestre, António; Taveira, 2014).

Exercem a sua atividade bactericida inibindo a replicação e transcrição do DNA bacteriano através da inibição de duas enzimas: DNA girase e topoisomerase IV, o que acaba por culminar na morte celular, tal como ilustrado na Figura 3 (Emmerson e Jones, 2003).

Quanto aos usos terapêuticos, estas são usadas no tratamento de infeções do trato urinário, infeções respiratórias por *Pseudomonas aeruginosa* em doentes com fibrose cística, otite externa causada pela *P. aeruginosa*, osteomielite crônica, erradicação da *Salmonella typhi*, prostatite bacteriana e gonorreia (Rang, H.P; Dale M.M; Ritter, J.M; Flower, R.J; Henderson, 2012).

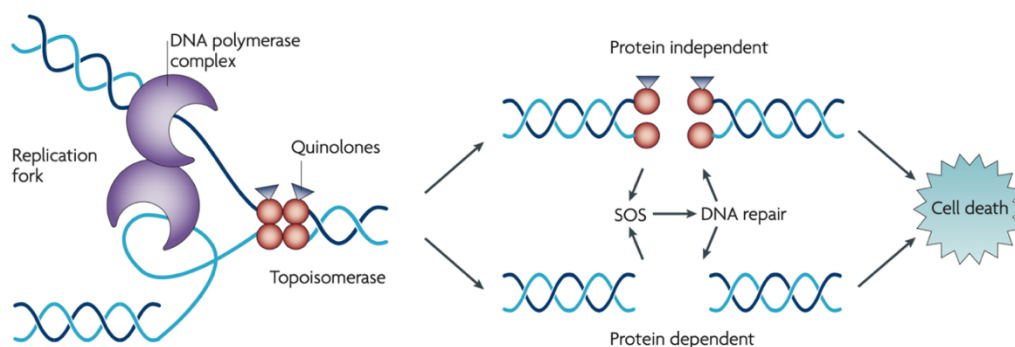


Figura 3: Mecanismo de ação das Quinolonas.

Fonte: (Kohanski, Dwyer e Collins, 2010)

1.2.2.1. Ciprofloxacina

A ciprofloxacina pertence à geração das quinolonas fluoradas estruturalmente relacionadas com o ácido nalidíxico. O principal mecanismo de ação é a inibição da DNA girase (Gonzalez e Henwood, 1989).

É a FQ mais comumente usada e possui um amplo espectro antibacteriano, sendo especialmente ativa nos microorganismos coliformes Gram-negativos, incluindo muitos microorganismos resistentes às penicilinas, cefalosporinas e aminoglicosídeos. No entanto, é também efetiva sobre *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* produtora de penicilinase, *Campylobacter spp.*, e *Pseudomonas*.

Administrada oralmente, a CIP é rápida e extensamente absorvida principalmente ao nível do intestino delgado (Brunton, 2017).

A ligação às proteínas é relativamente baixa e acumula-se em concentrações elevadas em vários tecidos, particularmente no rim, próstata e no pulmão (Rang, H.P; Dale M.M; Ritter, J.M; Flower, R.J; Henderson, 2012).

A CIP é excretada na sua maior parte inalterada por via renal, podendo também ser, embora em menor extensão, através das fezes (Brunton, 2017).

1.3 RESISTÊNCIA BACTERIANA

1.3.1 RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS

Os antibióticos têm demonstrado uma eficácia inquestionável no tratamento das infecções, sendo a sua utilidade indiscutível.

Esta descoberta é considerada o maior marco científico e médico do século XX. O seu uso tanto na medicina humana, como veterinária, reduziu significativamente as taxas de mortalidade e morbidade causadas por doenças infecciosas (Carvalho e Santos, 2016).

Contudo, rapidamente verificou-se que diferentes microorganismos eram suscetíveis de adquirir resistência a fármacos aos quais eram inicialmente sensíveis. É de salientar que esta resistência antimicrobiana causa anualmente cerca de 700 mil mortes em todo o mundo, e cada país é potencialmente afetado por este problema. Se não forem tomadas medidas adequadas, o número poderá aumentar para 10 milhões por ano até 2050 (Felis *et al.*, 2020). A sua resistência pode ser adaptativa ou adquirida, conforme ilustrado na figura 4. A adaptativa pode ser inerente à própria bactéria e específica para determinados antibióticos, nomeadamente: ausência do local de ação; ausência de transporte; impermeabilidade celular.

Já a resistência adquirida engloba alterações genéticas nos microorganismos devidas a: mutações espontâneas; aquisição de genes exógenos por mecanismos de transdução,

conjugação ou transformação, associados a estruturas de ADN (ácido desoxirribonucleico) móveis como plasmídeos, integrões e transposões (Barroso, Helena; Meliço-Silvestre, António; Taveira, 2014).

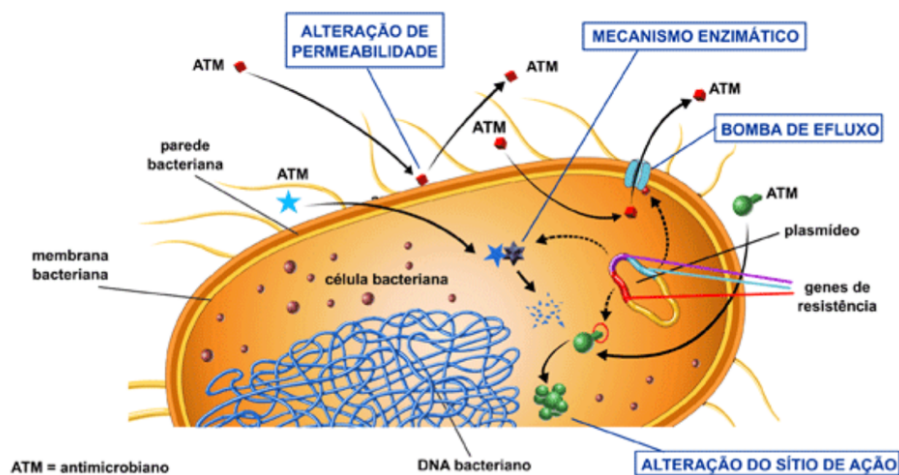


Figura 4: Mecanismos de resistência bacteriana Fonte: (Anvisa, 2007)

1.3.2 RESISTÊNCIA NO AMBIENTE

O consumo generalizado de antibióticos reflete-se diretamente na sua presença em vários compartimentos do ambiente, incluindo o ambiente aquático (Felis *et al.*, 2020). Uma vez que estes são amplamente utilizados, as avaliações de risco da exposição humana à resistência aos antibióticos no ambiente, têm vindo a merecer cada vez mais atenção (Ben *et al.*, 2019).

A sua difusão no ambiente, particularmente em sistemas hídricos naturais, contribui para o desenvolvimento e disseminação global da resistência aos mesmos (Carvalho e Santos, 2016). Uma das principais preocupações com a libertação de antibióticos no ambiente está relacionada com o desenvolvimento de genes de resistência aos antibióticos (ARGs) e bactérias (ARB), que reduzem o potencial terapêutico contra agentes patogénicos em humanos e animais (Rizzo *et al.*, 2013).

Portanto, a ocorrência destes agentes antimicrobianos no meio aquático pode levar a alterações genéticas ou mutacionais em bactérias normalmente sensíveis, permitindo que estas sobrevivam e continuem a proliferar ARB que transportam ARG (Ben *et al.*, 2019).

De facto, foram encontradas ARB no ambiente aquático e solo (Caplin, Hanlon e Taylor, 2008; Kim e Aga, 2007; Kümmerer, 2004, 2009c; Schlüter *et al.*, 2007; Vanneste *et al.*, 2008; Watkinson *et al.*, 2007). A sua transferência para o Homem pode ocorrer através da água ou dos alimentos, se as plantas forem regadas com água superficial, se o estrume for

utilizado como fertilizante, ou se estiverem presentes bactérias resistentes na carne (Kümmerer, 2009c). Na Figura 5 podemos encontrar um esquema que traduz os riscos para a saúde humana decorrentes da resistência aos antibióticos.

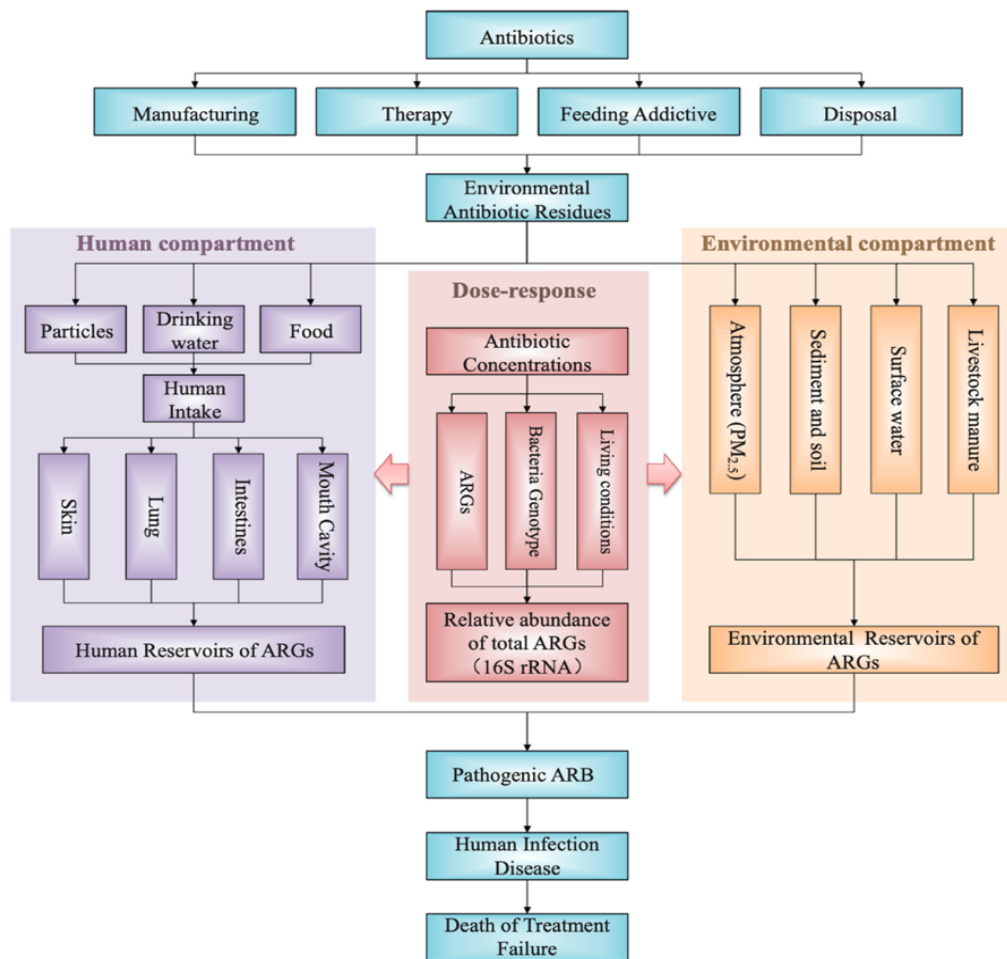


Figura 5: Quadro conceptual de avaliações de risco para a saúde humana da resistência aos antibióticos associada a resíduos de antibióticos no ambiente.

Fonte: (Ben *et al.*, 2019)

1.3.2.1 Água potável

Os riscos associados à resistência aos antibióticos na água potável para a disseminação da resistência e a sua transmissão aos humanos não são conhecidos.

Todavia, esta é uma questão que parece merecer uma investigação adicional (Manaia *et al.*, 2016).

1.3.2.2 Efluentes hospitalares

Segundo (Kümmerer, 2004, 2009c; Schwartz *et al.*, 2006), foram encontradas várias estirpes bacterianas portadoras de diferentes genes de resistência nos efluentes hospitalares.

Assume-se frequentemente que os hospitais são a fonte mais importante para a entrada de antibióticos e bactérias resistentes nas águas residuais municipais. No entanto, alguns artigos indicam que a transferência de resistência e a seleção de bactérias resistentes não são favorecidas mesmo nas altas concentrações de antibióticos encontradas nos efluentes hospitalares ou nos níveis mais baixos encontrados no ambiente aquático. O número de bactérias resistentes encontradas nos efluentes de uma unidade de cuidados intensivos (UCI) de um hospital com o máximo espectro de serviços médicos estava no mesmo intervalo que as encontradas nas estações de tratamento de águas residuais (ETAR) e não foi detetada qualquer diferença entre os esgotos municipais que continham ou não efluentes hospitalares.

Tendo em conta que os efluentes hospitalares contribuem para menos de 1% da quantidade total de esgotos municipais, é plausível que os hospitais não sejam a principal fonte de bactérias resistentes nos esgotos municipais (Kümmerer, 2009c).

1.3.2.3 Águas residuais

As concentrações de antibióticos nas águas residuais e nas ETARs são tipicamente inferiores comparativamente com os efluentes hospitalares. Bactérias resistentes e multi-resistentes, e bactérias filogenéticas distantes estão presentes nas águas residuais assim como nas ETARs (mais especificamente no tanque de arejamento e no processo de digestão anaeróbia). No entanto, ainda não foi demonstrado que a exposição permanente a antibióticos nas ETARs promova o desenvolvimento da resistência aos mesmos e efeitos seletivos sobre as comunidades bacterianas. Também foi demonstrada que as bactérias resistentes dos esgotos são eliminadas nas ETARs, por exemplo, num estudo foram eliminadas até 99% das *Campylobacter spp* (Kümmerer, 2009c).

1.3.2.4 Águas superficiais

As bactérias que são resistentes aos antibióticos estão presentes nas águas superficiais. Os níveis de resistência genética são altamente sazonais, com abundâncias 10-100 vezes maiores no outono em comparação com o verão. Estes resultados demonstram que a estratégia de uso de antibióticos afeta fortemente tanto a abundância como a distribuição sazonal dos genes de resistência nas lagoas associadas, o que tem implicações para a água. A fuga de fossas de armazenamento de resíduos suínos e a aplicação de estrume de suínos no solo podem resultar na dispersão de bactérias resistentes às fontes de água (Kümmerer, 2009c).

1.3.2.5 Águas subterrâneas

Os antibióticos são raramente descobertos nas águas subterrâneas e, quando são encontrados, são em concentrações muito baixas (Kümmerer, 2009c).

1.3.2.6 Sedimentos

Foram descritas elevadas cargas de antibióticos em sedimentos a concentrações suficientemente altas para inibir o crescimento de bactérias para a aquacultura. As bactérias resistentes podem estar presentes nos sedimentos devido à aplicação de antibióticos na aquacultura ou devido à seleção através dos antibióticos presentes nos sedimentos. As substâncias utilizadas na aquacultura podem entrar nos sedimentos diretamente da água sem serem submetidas a qualquer tipo de processo de purificação. Algumas investigações têm demonstrado a presença e persistência de antibióticos aplicados extensivamente na piscicultura em sedimentos por baixo dos viveiros de criação (Kümmerer, 2004, 2009c).

Fluorquinolonas, sulfonamidas e tetraciclina são fortemente adsorvidas. Consequentemente, podem acumular-se facilmente nos sedimentos. Ainda não se sabe até que ponto e em que circunstâncias os compostos são eficazes após a adsorção ou se são libertados e podem contribuir para a resistência (Kümmerer, 2009c).

Foram detetadas bactérias resistentes contra estes compostos nos sedimentos. O aumento da resistência antibacteriana em bactérias sedimentares é frequentemente o indicador ambiental mais sensível da utilização anterior de antibacterianos (Kümmerer, 2004, 2009c).

1.3.3 ARB & ARG

ARB e ARGs têm sido sugeridos como contaminantes ambientais emergentes devido ao aumento indesejável da sua prevalência (influenciado pelas atividades humanas) e das suas potenciais ameaças à saúde induzidas pela transmissão do ambiente para o ser humano. As fontes de carga mais elevadas de ARB e ARGs são: a água de esgoto domésticos e hospitalares (água residuais), instalações de produção de antibióticos (efluentes da indústria farmacêutica), e lotes de alimentação animal (Ben *et al.*, 2019).

Foram encontradas (com base em métodos dependentes da cultura) ARB na água, solo e atmosfera relacionados com *hotspots* contaminados por antibióticos, com alta densidade microbiana, teor de nutrientes e concentração de antibióticos. Isto aumentaria a seleção e propagação de ARB e ARG, especialmente a partir de estações de tratamento de águas residuais, explorações pecuárias e hospitais (Ben *et al.*, 2019).

Os efluentes hospitalares podem conter maiores concentrações de resíduos de antibióticos, metaloides e metais pesados como arsénico ou mercúrio, e uma abundância significativamente maior de ARB & ARG do que os efluentes municipais. Contudo, uma vez que os efluentes hospitalares podem ser classificados como efluentes domésticos, não existe nenhuma recomendação legal para pré-tratamento com o objetivo de reduzir as cargas microbianas antes da sua descarga nos coletores municipais. Esta carência legal pode dever-se ao facto de as descargas de efluentes hospitalares apenas representarem menos de 5% dos efluentes totais municipais, levando à diluição imediata dos resíduos de antibióticos e ARB.

Todavia, este pode ser um argumento falacioso, uma vez que a ARB & ARG, ao contrário de outros contaminantes ambientais, pode proliferar e propagar-se por diferentes nichos e hospedeiros (Manaia *et al.*, 2016).

Os efluentes relacionados com os cuidados de saúde não são a única fonte responsável de antibióticos e determinantes da resistência aos antibióticos como contaminantes ambientais. Foi demonstrado que a maior proporção do consumo de antimicrobianos pelos seres humanos é observada na comunidade e não nos hospitais. Além disso, a recuperação do doente e a antibioterapia são cada vez mais feitas em casa, e os antibióticos são também utilizados em animais de companhia e de produção de alimentos. Direta ou indiretamente, estas fontes podem contribuir para a melhoria da ARB & ARG, parte da qual chegará ao coletor municipal. Aliás, alguns tipos de resíduos de antibióticos (por exemplo, tetraciclina ou sulfonamidas) e alguns ARG podem ser mais frequentes nas águas residuais municipais e biossólidos, do que nos efluentes hospitalares (Manaia *et al.*, 2016).

A distribuição generalizada de alguns ARG em áreas não poluídas, embora com impacto humano, torna muito difícil a identificação dos seus principais reservatórios e vias de disseminação. No entanto, existem evidências de alguns núcleos importantes de disseminação de ARB & ARG contaminantes. Isto sugere que a ARB é ubíqua, capaz de partilhar diferentes ambientes e hospedeiros, terá o potencial de contribuir para a distribuição generalizada da ARG. Em particular, a ARB que pode ser encontrada tanto em ambientes aquáticos como no microbioma humano merece uma atenção especial (Manaia *et al.*, 2016).

Os diferentes fenótipos de ARB podem surgir de diferentes genes que conferem resistência a diferentes antibióticos. O perfil genotípico das bactérias, nomeadamente ARGs, é um indicador mais sensível que facilita a compreensão do mecanismo de seleção antibiótica para ARB, e do mecanismo de ação da resistência aos antibióticos. Milhares de ARGs (com base no método independente da cultura) no ambiente poderiam ser identificados e monitorizados através de métodos quantitativos de reação em cadeia polimérica. Além disso,

foi dada mais recentemente atenção à ocorrência de outros ARGs, incluindo genes de resistência aos macrólidos, às quinolonas, e beta-lactâmicos (Ben *et al.*, 2019).

2. CICLO DE VIDA

Após um curto período de residência nos organismos humanos e animais, os antibióticos têm sido continuamente descarregados nos ecossistemas naturais através da excreção: urina e/ou fezes (Carvalho e Santos, 2016).

Estes são libertados no ambiente como compostos originais, metabolitos e ainda como produtos de transformação obtidos durante os tratamentos da água (biodegradação, fotólise ou hidrólise), levando à contaminação de águas superficiais, águas do mar, águas subterrâneas e mesmo em algumas águas potáveis (Pereira, André M. P. T. *et al.*, 2015). A presença destes compostos é principalmente atribuída à descarga de águas residuais tratadas nas estações de tratamento das águas residuais (ETARs) (que principalmente advêm da excreção humana e do descarte indevido pela sanita e pias), uma vez que os processos convencionais de tratamento de águas residuais não removem efetivamente estes compostos (Carvalho e Santos, 2016).

Estes medicamentos podem entrar no ambiente aquático e terrestre por várias vias, tais como descarga direta de efluentes de estações de tratamento de águas residuais (ETARs) em águas superficiais ou subterrâneas, lixiviados de aterros sanitários, descargas provenientes das indústrias, lagoas de aquicultura e centros urbanos (Ben *et al.*, 2019). Outra possível via será através da utilização para fins veterinários, ou como promotores de crescimento, que são excretados pelos animais e acabam no estrume. Consequente, os antibióticos infiltram-se através do solo e entram nas águas subterrâneas (Kümmerer, 2003). Na Figura 6 mostram-se as possíveis vias de entrada nas águas residuais e ambiente.

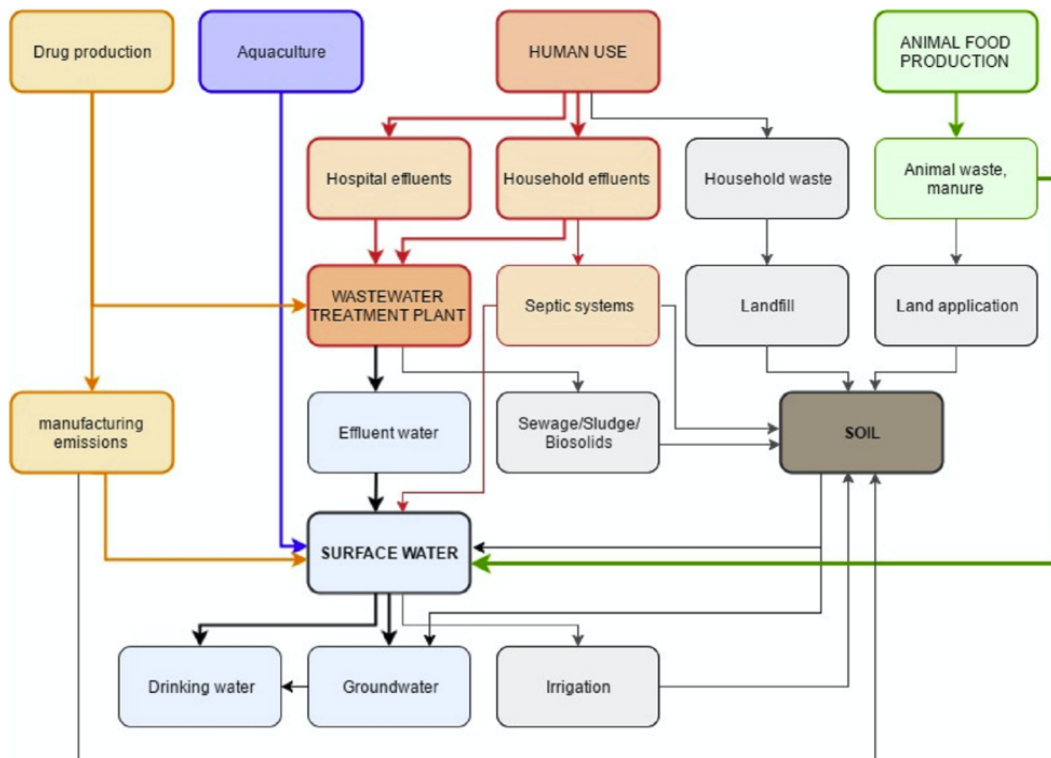


Figura 6: Possíveis vias de entrada nas águas residuais e ambiente. O transporte de antibióticos destinados ao consumo humano, indústria alimentar animal, aquacultura e à produção até às águas superficiais é representado por setas vermelhas, verdes, azuis e laranjas, respetivamente.

Fonte: (Kovalakova et al., 2020)

2.1. DEGRADAÇÃO NA ETAR

Os tipos de tratamentos de um efluente numa ETAR (Figura 7) podem ser quatro: tratamento preliminar, primário, secundário e terciário. Todavia, a necessidade de os utilizar é dependente do tipo e processo de produção das águas a tratar (Cruz, 1997).

1. O tratamento preliminar: composto inteiramente por processos físico-químicos. É feita a remoção dos flutuantes através da utilização de grelhas e de crivos grossos; e a separação da água residual das areias a partir da utilização de canais de areia (Cruz, 1997).
2. O tratamento primário: composto unicamente por processos físico-químicos. Nesta etapa procede-se ao pré-arejamento, equalização do caudal, neutralização da carga do efluente a partir de um tanque de equalização e, seguidamente, procede-se à separação de partículas líquidas ou sólidas através de processos de floculação, floculação e sedimentação. As lamas resultantes deste tratamento estão sujeitas a um processo de digestão anaeróbico num digestor anaeróbico ou tanque séptico (Cruz, 1997). Com

este tratamento pretende-se reduzir o teor de sólidos das águas residuais (óleos, gorduras, areias, grãos e sólidos sedimentáveis) (Luo *et al.*, 2014).

3. O tratamento secundário: constituído por processos biológicos seguidos de processos físico-químicos. Nos processos biológicos podem ser utilizados dois tipos diferentes de tratamento:

- aeróbicos, onde se podem utilizar, dependendo da característica do efluente, tanque de lamas ativadas (o ar é insuflado com arejador de superfície), lagoas arejadas com macrófitos, leitos percoladores ou biodiscos (Cruz, 1997);
- anaeróbico, podem ser utilizadas as lagoas ou digestores anaeróbicos. Existem vários tratamentos biológicos, no entanto, o mais usado é as lamas ativadas (Michael *et al.*, 2013). O processo físico-químico é constituído por um ou mais sedimentadores secundários que dá origem a água isenta de sólidos e flocos biológicos. As lamas resultantes deste tratamento são secas em leitos de secagem, sacos filtrantes ou filtros de prensa (Cruz, 1997).

4. O tratamento terciário: procede-se à remoção de microorganismos patogénicos (através da utilização de lagoas de maturação e nitrificação), e água resultante é sujeita a desinfecção através da adsorção (utilizando o carvão ativado), e, se necessário, tratamento ao cloro e ozono (Cruz, 1997). Estes processos são normalmente utilizados para produzir água de maior qualidade para determinados fins (por exemplo, reutilização de água), e estão sempre associados a custos de tratamento elevados. Assim, a exigência de processos de tratamento terciário é geralmente baseada em objetivos de saúde pública e ambiental (Luo *et al.*, 2014).

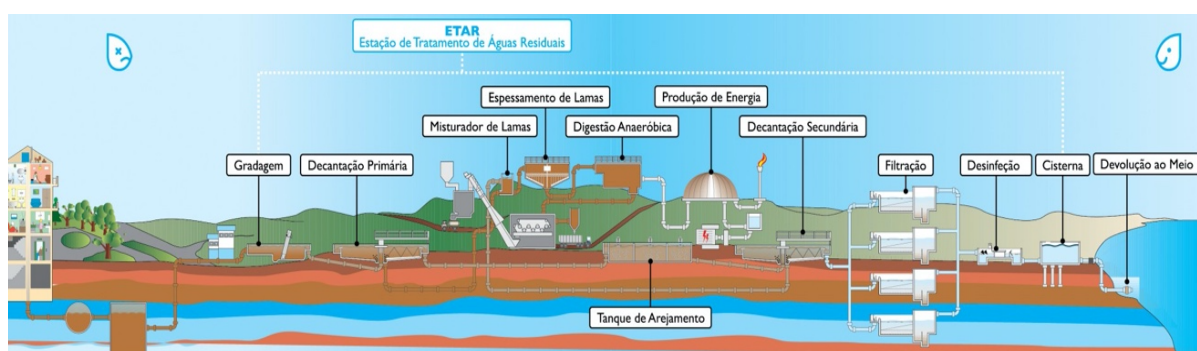


Figura 7: Esquema de funcionamento de uma ETAR

Fonte: (Águas do Norte)

As bactérias e os fungos são os dois grupos de organismos mais aptos a degradar os compostos orgânicos. Os fungos são particularmente importantes nos solos, mas

normalmente não desempenham um papel importante no ambiente aquático. Por outro lado, as bactérias são responsáveis pela maioria dos processos de biodegradação nas ETARs e no meio aquático. A taxa de biodegradação (processo bioquímico) destes compostos nas ETAR e no ambiente aquático dependem do tipo e número de microrganismos presentes e da própria molécula. A presença de substâncias tóxicas farmacêuticas no ambiente aquático demonstra pelo menos uma degradação e eliminação incompletas no tratamento de esgotos e também que os processos de remoção no ambiente aquático são lentos (Kümmerer, 2010).

Características como a sua elevada solubilidade em água e baixa degradação, podem contribuir para a sua não remoção em ETAR (Grujić, Vasiljević e Laušević, 2009). Compostos que não são removidos nas ETARs são conduzidos, no efluente tratado, para águas superficiais, e eventualmente, atingir águas subterrâneas e águas utilizadas para consumo (Kümmerer, 2003). As taxas de remoção, variam entre os 0-100%, dependendo do tipo de fármaco, da origem e composição da água a tratar e da própria estação de tratamento (Mompelat, Bot, Le e Thomas, 2009).

No caso dos macrólidos abordados (AZI, CLA, ERI), a taxa de remoção é aproximadamente 30% enquanto que a CIP apresenta uma taxa de remoção mais elevada (64%) (Pereira *et al.*, 2020a).

2.2. DEGRADAÇÃO NO AMBIENTE

Os antibióticos, após serem introduzidos no ambiente, são distribuídos por outros compartimentos ambientais, nomeadamente ar, solo, água e sedimentos, onde por processos químicos ou bioquímicos podem ser eliminados ou sofrer alterações na sua estrutura. Estas alterações podem ocorrer devido a processos bióticos (fungos e bactérias), não-bióticos (oxidação, hidrólise, fotólise) ou por combinação destes, dando origem a produtos de transformação (Kümmerer, 2009a).

Os principais processos para a remoção de antibióticos nos e dos diferentes compartimentos ambientais são a sorção (importante nas quinolonas) e a biodegradação. A fotodegradação e a hidrólise também podem ser significativas em águas superficiais e ETARs.

A sorção pode ter um impacto na propagação (transporte ligado a partículas) e na biodisponibilidade de fármacos no ambiente. Alguns estudos demonstram que a sorção de colóides constitui um importante reservatório para estes compostos farmacêuticos no ambiente aquático. Estas fortes interações farmacêuticas/colóides podem proporcionar um armazenamento a longo prazo dos fármacos, aumentando assim a sua persistência e reduzindo ao mesmo tempo a sua biodisponibilidade no ambiente. Uma vez que os colóides aquáticos

são abundantes, onnipresentes, e altamente adsorventes, espera-se um impacto na biodisponibilidade e bioacumulação de fármacos (Kümmerer, 2010).

A persistência de antibióticos no ambiente pode variar muito porque os tempos de semi-vida são afetados por vários parâmetros ambientais, tais como localização geográfica, temperatura e pH (Välitalo *et al.*, 2017). Para além dos supracitados, a sua persistência depende das características físico químicas de cada antibiótico, como por exemplo, estrutura molecular, tamanho e solubilidade (Kemper, 2008).

Outros parâmetros a ter atenção são os valores de pK_a (constante de dissociação ácida), $\log K_{ow}$ (coeficiente de partição octanol-água), $\log D_{ow}$ (coeficiente de distribuição n-octanol-água dependente do pH), $\log K_{oc}$ (coeficiente de partição carbono-água orgânica do solo). Estas características podem fornecer informações sobre o estado de ionização dos compostos, da sua hidrofobicidade e podem ajudar a determinar se irão dividir-se em água, biossólidos, sedimentos e/ou meios biológicos (Pereira *et al.*, 2020a).

3. ECOTOXICIDADE EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS

A resistência aos antibióticos não é o único efeito adverso possível da libertação destes em ambientes aquáticos, e estão a ser introduzidos testes de ecotoxicidade para documentar estes efeitos (Baquero, Martínez e Cantón, 2008).

A contínua libertação de produtos químicos das últimas décadas pode induzir toxicidade, bioacumulação (acumulação de uma substância num organismo) e biomagnificação (aumento das concentrações das substâncias em níveis mais elevados da cadeia alimentar, fenómeno que ocorre quando há acumulação progressivo de substâncias de um nível trófico para outro ao longo da cadeia alimentar), podendo dar origem a efeitos indesejáveis a longo prazo (Pereira, Lílian Cristina *et al.*, 2015; Zenker *et al.*, 2014).

A ocorrência de fármacos antimicrobianos no ambiente aquático coloca um grave problema aos organismos vivos que nele habitam. Em primeiro lugar, porque os antibióticos são concebidos para exercer atividades biológicas específicas e a sua ação pode causar um efeito imediato (toxicidade aguda) para os organismos. Em segundo lugar, a exposição a longo prazo dos antimicrobianos aos organismos vivos, mesmo em concentrações sub-inibitórias, pode ser associada à toxicidade crónica (Felis *et al.*, 2020).

Os testes de toxicidade biológica são utilizados na avaliação de risco de substâncias nocivas e há um elevado número de métodos disponíveis para diferentes organismos, variando

entre testes agudos e testes crónicos (Välitalo *et al.*, 2017). Estes diferem na duração e nas respostas finais avaliadas.

São ferramentas que têm como objetivo avaliar o comportamento de um químico presente no ambiente, e os seus efeitos letais ou sub-letais em espécies que não o Homem. A sensibilidade dos organismos a um contaminante estima-se pelos efeitos relacionados com alterações no crescimento, mortalidade, reprodução, morfologia, comportamento entre outros (Pereira *et al.*, 2020b; Preston, 2002).

▪ **Testes de toxicidade aguda**

Os testes de toxicidade aguda avaliam uma resposta rápida e acentuada dos organismos a um estímulo que normalmente se caracterizam por períodos de exposição entre o intervalo de 24 e 96 horas (Costa *et al.*, 2008; Jones, Voulvoulis e Lester, 2004).

Os efeitos tóxicos medidos nestes testes incluem qualquer resposta exibida por um organismo-alvo ou população resultante de um estímulo químico. Normalmente, o efeito observado é a letalidade ou alguma outra manifestação do organismo que a antecede como, por exemplo, o estado de imobilidade (Costa *et al.*, 2008).

Contudo, o facto de uma substância química não produzir efeitos tóxicos sobre organismos aquáticos em testes de toxicidade aguda não indica que ela não seja tóxica para os mesmos (Costa *et al.*, 2008).

▪ **Testes de toxicidade crónica**

Os testes crónicos apresentam um cenário mais próximo da realidade uma vez que a libertação dos produtos químicos para o meio ambiente ocorre de uma maneira contínua em níveis baixos (Santos *et al.*, 2010). São realizados para medir os efeitos de substâncias químicas sobre espécies aquáticas por um período que pode abranger de 1/10 a todo o ciclo de vida do organismo-alvo (Costa *et al.*, 2008). Todavia, estudos deste género podem demorar vários anos para comprovar a questão de forma conclusiva (Jones, Voulvoulis e Lester, 2004).

Estes testes permitem avaliar os possíveis efeitos tóxicos de substâncias químicas sob condições de exposições prolongadas a concentrações sub-letais, ou seja, concentrações que permitem a sobrevivência dos organismos, mas que afetam suas funções biológicas, tais como reprodução, desenvolvimento de ovos, crescimento e maturação (Costa *et al.*, 2008).

- **Organismos mais frequentemente aplicados para os testes de toxicidade ambiental**

A ecotoxicidade aguda ou crónica dos antibióticos e dos seus produtos de transformação foi avaliada por ensaios de ecotoxicidade padrão em organismos de diferentes níveis tróficos, tais como bactérias, algas, invertebrados e peixes (Carvalho e Santos, 2016).

No entanto, uma vez que a gama de espécies é restrita, existe uma incerteza acerca dos efeitos reais nos animais não alvo (Välitalo *et al.*, 2017).

⇒ **Algas Verdes e Cyanobacteria**

As algas e as cianobactérias são uma parte vital da cadeia alimentar nos ecossistemas aquáticos, e pequenas alterações nas populações poderiam afetar o equilíbrio de todo o ecossistema, uma vez que operam como base da cadeia alimentar nos ecossistemas aquáticos (Kovalakova *et al.*, 2020).

Foi proposto que as cianobactérias sejam utilizadas como um instrumento de rastreio sensível para identificar a toxicidade dos antibióticos no ambiente (Xiong *et al.*, 2019). Por exemplo, a Agência Europeia de Avaliação dos Medicamentos (EMA) recomenda explicitamente a utilização de cianobactérias para testes de antimicrobianos (European Medicines Agency, 2018). No entanto, as cianobactérias crescem mais lentamente do que as algas verdes, necessitando assim de um período de crescimento prolongado até 7 dias. Como tal esta não é uma técnica de rastreio rápido (Kovalakova *et al.*, 2020).

Uma revisão bibliográfica incidente sobre a toxicidade dos antibióticos para microalgas ou cianobactérias revela que as ligações tóxicas foram determinadas principalmente para as quinolonas, sulfonamidas, macrólidos, penicilinas e tetraciclinas. As cianobactérias e as algas verdes são organismos de teste sensíveis aos antibióticos. Contudo, existe uma variação entre as diferentes espécies e antibiótico. Conclui-se, que as cianobactérias são mais sensíveis do que as algas verdes na maioria dos casos (Välitalo *et al.*, 2017).

⇒ **Proteobacteria**

As proteobactérias são um grupo de bactérias Gram-negativas composto por vários géneros de bactérias, tais como *Salmonella*, *Vibrio* e *Yersinia*. Devido à sua natureza procariótica, espera-se que estas bactérias sejam as mais sensíveis aos antibióticos. No entanto, as proteobactérias são as menos sensíveis.

⇒ **Daphnia sp.**

É um dos organismos zooplânctônicos utilizados em testes toxicológicos e reage sensivelmente à ampla gama de agentes tóxicos. Os crustáceos são de interesse do ponto de vista ecotoxicológico porque são consumidores primários e um componente importante do zooplâncton nos ecossistemas aquáticos, sendo que a *Daphnia magna* é, mais especificamente, um microcrustáceo de água doce (ISO 6341, 2012).

3.1. EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DOS ANTIBIÓTICOS

Os antibióticos podem ser classificados como extremamente tóxicos para os microrganismos e muito tóxicos para as algas (Jones, Voulvoulis e Lester, 2002).

Num estudo sobre toxicidade aguda de antibióticos (Pereira *et al.*, 2020b), o padrão de toxicidade para os três níveis tróficos foi semelhante para todos os antibióticos, sendo as algas mais suscetíveis a concentrações mais baixas (de 0,0018 a 20,6 mg L⁻¹), seguidas pelos invertebrados (de 0,22 a 120 mg L⁻¹) e peixes (de 84 a 1000 mg L⁻¹). Comparando cada antibiótico, relativamente aos invertebrados, podemos observar que CLA e CIP apresentaram resultados semelhantes, mas quando comparados com ERI, concentrações mais baixas (220 µg L⁻¹) deste antibiótico podem produzir os mesmos efeitos tóxicos, neste caso a inibição do crescimento.

Já outro estudo (Kovalakova *et al.*, 2020) sugere que os antibióticos induzem uma toxicidade aguda relativamente baixa em invertebrados tais como cnidários (*Hydra attenuata*) e crustáceos (*Artemia salina*, *Daphnia magna*, e *Ceriodaphnia dubia*).

Segundo Santos e colaboradores (Santos *et al.*, 2010), os testes de toxicidade crónica realizados em algas demonstraram uma elevada sensibilidade a agentes antibacterianos. Já nos animais vertebrados (como os peixes) colocados diretamente em contacto com baixos níveis de antimicrobianos aparentemente não produziram qualquer tipo de efeitos observáveis.

Num trabalho de 2017 (Välitalo *et al.*, 2017), os macrólidos foram considerados perigosos para organismos invertebrados como a *Daphnia*, indicando que neste grupo em particular, representam um risco significativo para o ambiente.

Em geral, os estudos de toxicidade dos antibióticos no ambiente aquático incidem apenas em fármacos isolados. Uma vez que os antibióticos e os seus produtos de transformação se encontram no ambiente como uma mistura com outros contaminantes antropogénicos, os efeitos aditivos ou sinérgicos devem ser considerados nas avaliações de risco ambiental (Carvalho e Santos, 2016). No entanto, faltam estudos ecotoxicológicos

crônicos sobre os compostos farmacêuticos, o que significa que muitas questões sobre a ameaça ao ambiente destes compostos permanecem sem resposta (Pereira *et al.*, 2020b).

No estudo de Gonzalez-Pleiter e colaboradores, (González-Pleiter *et al.*, 2013) foi testada a toxicidade de diferentes classes de antibióticos em cianobactérias ou algas verdes, tanto isoladamente como em diferentes combinações. Os resultados sugerem que a ERI, em particular, era altamente tóxica tanto para as cianobactérias como para as algas. Na maioria dos casos, os efeitos tóxicos dos antibióticos foram aumentados quando estavam em combinação com outros antibióticos.

3.2. AVALIAÇÃO DO RISCO AMBIENTAL

De forma a avaliar os potenciais riscos para o ambiente, a agência europeia do medicamento (EMA) estabeleceu um conjunto de diretrizes, para que fosse exequível a realização de avaliações de risco ambiental para medicamentos de uso humano, previstas pela legislação. (European Medicines Agency, 2018) A avaliação de riscos ambientais (*Environmental Risk Assessment – ERA*) é executada em duas fases, tal como ilustrado na Figura 8.

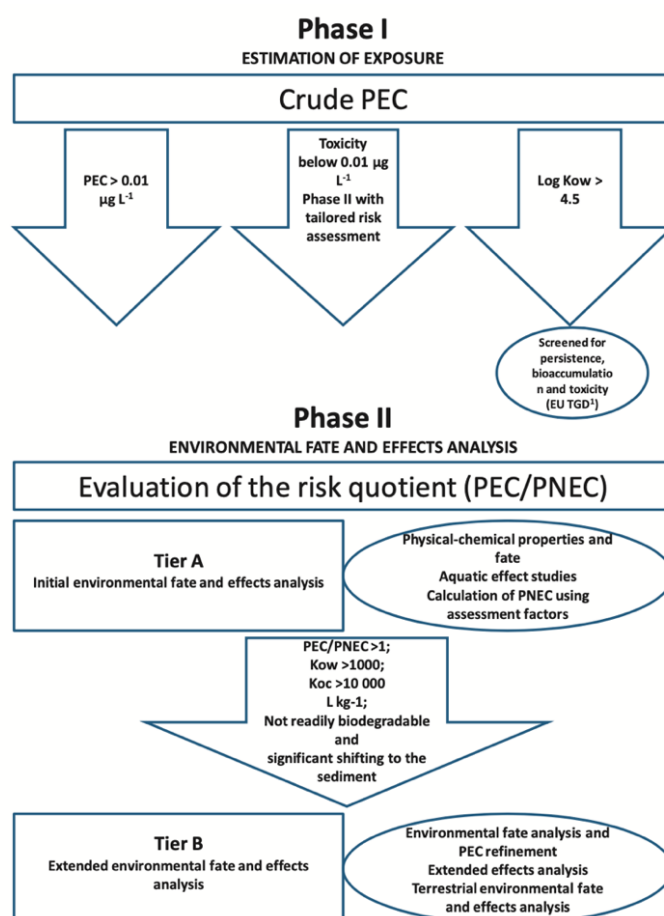


Figura 8: Fluxograma de avaliação de riscos da EMA
Fonte: (Pereira, 2017)

▪ Fase I

O potencial de exposição ambiental é avaliado com base na natureza da substância ativa e na utilização pretendida. Na Fase I, são identificados os produtos que requerem uma avaliação mais extensa, ou seja, que necessitam de uma avaliação de Fase II (*standart* ou *tailored*). Assume-se que as substâncias ativas com utilização reduzida e/ou exposição ambiental restrita terão efeitos ambientais reduzidos, pelo que a avaliação destes terminará na Fase I (ver Anexo I) (European Medicines Agency, 2018).

A avaliação de risco da Fase I consiste numa árvore de decisão (ver Anexo 2). Há dois resultados possíveis da Fase I: pode ser que a avaliação de risco pare, ou que seja necessária uma avaliação de risco de Fase II. Quando o resultado é obtido logo na fase I (ou seja, que não necessita da fase II) o requerente deve produzir um relatório sobre a ERA, discutindo a base da sua decisão (European Medicines Agency, 2018).

Conclusivamente, na Fase I são calculadas Concentrações Ambientais Previstas em águas superficiais (PEC_{SW}) - com base na utilização prognosticada do produto - e mede-se o $\log K_{ow}$. Quando o valor de PEC é \geq do que o limite de ação de 0,01 $\mu\text{g/L}$, a avaliação de risco continua para a Fase II; se $\text{Log } K_{ow} > 4,5$, a persistência, o potencial de bioacumulação e a toxicidade (PBT) devem ser avaliados (European Medicines Agency, 2018).

Quando o valor de PEC é inferior a 0,01 $\mu\text{g/L}$, pressupõe-se que o risco ambiental é improvável e a avaliação termina. No entanto, algumas substâncias/medicamentos que são conhecidos por terem atividade tóxica em concentrações abaixo de 0,01 $\mu\text{g/L}$ (por exemplo, substâncias ativas endócrinas e antiparasitárias) devem entrar na Fase II, independentemente do seu valor PEC, seguindo uma estratégia de avaliação de risco adaptada que aborde o seu mecanismo de ação específico uma vez que podem afetar organismos no ambiente mesmo em concentrações baixas (European Medicines Agency, 2018).

▪ Fase II

Na Fase II é avaliado o impacto ambiental e feita a análise de efeitos. Esta fase está dividida em duas fases/tier: A e B. Esta começa (Fase A) com estudos sobre as propriedades físico-químicas, e sobre o destino ambiental e os efeitos ecotoxicológicos da substância ativa.

A determinação de algumas destas propriedades é, portanto, obrigatória para a avaliação. Na Tabela 2 temos uma visão geral dos estudos obrigatórios e não obrigatórios sobre propriedades físico-químicas, destino e ecotoxicidade (European Medicines Agency, 2018).

Tabela 2: Estudos a serem realizados na Tier A da Fase II e suas *Guidelines*.

Fonte: (European Medicines Agency, 2018)

Study	Guideline
Physico-chemical properties (4.2.1.1)	
Water solubility	OECD 105
Octanol/Water Partitioning (#)	OECD 107 or 123
Dissociation in Water	OECD 112
UV-Visible Absorption Spectrum (*)	OECD 101
Melting Point/Melting Range (*)	OECD 102
Vapour Pressure (*)	OECD 104
Fate properties (4.2.1.2)	
Adsorption - Desorption Using a Batch Equilibrium Method with 3 soils and 2 sludges	OECD 106
Ready Biodegradability Test	OECD 301
Aquatic toxicity (4.2.1.3)	
Algae, growth inhibition	OECD201
Daphnia sp. reproduction	OECD 211
Fish, Early life stage toxicity	OECD 210
Functioning of STP (4.2.5.1)	
Activated sludge, respiration inhibition	OECD 209
Sediment toxicity (choose one of the tests below) (4.2.1.3)	
Lumbriculus sp., spiked sediment	OECD 225
Chironomus, sediment-water toxicity	OECD 218/219
Chironomus, sediment-water life-cycle toxicity	OECD 233

(*) Not mandatory.

(#) Study also requested for Phase I PBT screening.

Uma das avaliações feitas na fase II é a PBT (Persistência, Bioacumulação e Toxicidade).

Como referido anteriormente na Fase I, após a determinação do Log K_{ow} , a persistência, o potencial de bioacumulação e toxicidade devem ser avaliados quando Log $K_{ow} > 4.5$.

A avaliação PBT diz respeito às propriedades intrínsecas de um grupo específico de substâncias ativas, potencialmente nocivas para o ambiente, independentemente dos níveis de exposição. As substâncias ativas que não se degradam bem no ambiente (persistentes), acumulam-se em organismos (bioacumulativas), e são tóxicas, são identificadas na avaliação PBT/vPvB (muito persistente e muito bioacumulativa). As substâncias PBT/vPvB são substâncias que irão bioacumular em organismos e persistir no ambiente. Devido às suas características físico-químicas, não é possível prever o destino ambiental destas substâncias ou o tipo de efeitos adversos que poderão ocorrer durante longos períodos de tempo (European Medicines Agency, 2018). Quanto à persistência esta é avaliada com base nas diretrizes de ensaio da OCDE (teste 301) enquanto a bioacumulação de uma substância é avaliada com base no valor do log K_{ow} . Valores iguais ou superiores a 3 indicam que a substância pode bioacumular. A Tabela 3 apresenta os valores dos antibióticos abordados. Por fim, a toxicidade é avaliada com base numa revisão abrangente da literatura para os diferentes níveis tróficos do ecossistema aquático (algas, crustáceos e peixes).

Considera-se que uma substância cumpre o critério de toxicidade quando a NOEC (*No Observed Effect Concentration*) a longo prazo (toxicidade crónica) é inferior a 0,01 mg/L.

Quando os dados sobre efeitos crónicos não estão disponíveis, são utilizados dados de toxicidade a curto prazo, ou seja, testes de toxicidade aguda, e a substância é considerada potencialmente tóxica se o seu EC50 (*Effective Concentration*) e LC50 (*Lethal Concentration*) para organismos aquáticos, for inferior a 0,1 mg/L (Mendoza et al., 2015).

Tabela 3: Valor do Log K_{ow} dos antibióticos abordados
Fonte: (PubChem)

ANTIBIÓTICOS	Log K _{ow}
Eritromicina	3.06
Azitromicina	4.02
Claritromicina	3.16
Ciprofloxacina	0.28

Para alguns grupos de substâncias, deve ser seguida uma estratégia de avaliação de risco adaptada que aborde o seu mecanismo de ação específico. Na Fase A, a PEC é comparada com uma concentração ambiental aceitável, a Concentração Prevista Sem Efeito (PNEC) para três níveis tróficos (algas, *Daphnias* e peixes).

No que diz respeito aos antibióticos, deve ser realizada uma avaliação de efeito direcionada para o compartimento aquático. Os conhecimentos científicos e os dados empíricos demonstram que uma avaliação de risco adaptada, centrada nos efeitos sobre os níveis tróficos inferiores, incluindo bactérias, algas e invertebrados aquáticos, é suficientemente sensível para os antibacterianos e não são necessários testes em peixes (European Medicines Agency, 2018).

Quando um risco potencial do medicamento para o ambiente é identificado na Tier/Fase A, deve ser realizada uma avaliação da Fase B. Por sua vez, a fase B consiste numa avaliação detalhada utilizando valores ajustados para os cálculos PEC e PNEC. Nesta fase, tanto uma análise do destino como estudos de efeito podem ser realizados (European Medicines Agency, 2018).

O composto farmacêutico é então avaliado gerando um quociente de risco (RQ) avaliando a relação entre a PEC e a PNEC. Quando a relação é inferior a 1, não é esperado qualquer risco do medicamento para o ambiente aquático (European Medicines Agency, 2018).

O RQ pode ser definido através de um critério de classificação de risco comumente utilizado:

- $RQ \leq 0.1$: Risco ambiental baixo;
- $0,1 < RQ \leq 1$: Risco ambiental moderado;
- $RQ > 1$: Risco ambiental elevado.

Num estudo feito aos efluentes finais das ETARs na Europa, o RQ da CIP e AZI foram 0,90 e 0,58 respetivamente. De acordo com os resultados deste estudo, estes antibióticos devem ser considerados como um risco ambiental moderado em massas de água em Portugal, Espanha, Chipre e Alemanha (Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2020).

4. CONCLUSÃO

No decorrer desta monografia podemos perceber que a presença de antibióticos no meio aquático é uma realidade que merece análise e discussão.

A sua identificação como uma classe problemática requer provas relativas ao seu perigo intrínseco e, em particular, à sua ecotoxicidade aquática e toxicidade humana, através de vias de exposição ambiental, bem como factos decorrentes da monitorização da contaminação ambiental generalizada (Carvalho e Santos, 2016).

No entanto, pouco se sabe sobre a ocorrência, destino, efeitos e riscos associados à libertação de antibióticos e outros medicamentos no ambiente o que requer uma adequada avaliação e gestão dos riscos, tanto para os seres humanos como para o ambiente (Kümmerer, 2003).

No que diz respeito à resistência, pensa-se que a colocação de antibióticos, em geral, no meio aquático parece ser de menor importância. Todavia, o impacto dos antibióticos presentes no ambiente aquático na frequência da transferência de resistência é questionável (Kümmerer, 2009c). Os estudos até à data sugerem que a entrada de bactérias resistentes no ambiente a partir de diferentes fontes parece ser a fonte mais importante de resistência no ambiente. No entanto, a informação disponível é insuficiente para se chegar a uma conclusão final sobre o significado e impacto da presença de bactérias resistentes no ambiente. É, por isso, fundamental impedir a seleção de estirpes resistentes em primeiro lugar. Por conseguinte, o uso prudente de antibióticos e desinfetantes reduzirá significativamente o risco para o público em geral e para o ambiente (Kümmerer, 2009c).

Relativamente à ecotoxicidade, apesar dos microorganismos aquáticos apresentarem de uma forma geral sensibilidade a este grupo de medicamentos, a falta de estudos ecotoxicológicos crónicos resultantes da exposição prolongada a baixas concentrações (o qual tornaria o cenário mais próximo da realidade), leva a concluir que muitas questões sobre a ameaça ao ambiente destes compostos permanecem sem resposta, o que realça a necessidade de prosseguir com estudos desta natureza para determinar os efeitos ecotóxicos destes e dos seus metabolitos.

Apesar da legislação atual estabelecer limites no que respeita à concentração máxima admitida em águas superficiais, ainda não estão estabelecidos os requisitos de concentração de antibióticos para a descarga das ETARs para a água recetora, bem como para a utilização de biossólidos em terrenos agrícolas (Carvalho e Santos, 2016). Desta forma, é necessário estabelecer quais as concentrações de antibióticos para a descarga das ETARs.

Para colmatar este problema, é necessário o desenvolvimento e implementação de diretrizes específicas para a recolha e análise de antibióticos em amostras de ambiente aquático para se obterem resultados fiáveis e comparáveis (Carvalho e Santos, 2016).

É de extrema importância diminuir ao máximo a presença desta classe de medicamentos no ambiente. E, enquanto farmacêuticos, devemos consciencializar as pessoas da importância da correta eliminação de medicamentos não utilizados ou fora do prazo de validade de forma a proteger não só o ambiente, mas também o Homem.

BIBLIOGRAFIA

1. **Águas do norte - Tratamento de águas residuais** - [Consult. 4 out. 2020]. Disponível em: <http://www.adnorte.pt/pt/educacao-ambiental/ciclo-urbano-da-agua/tratamento-de-aguas-residuais/?id=116>>
2. ANVISA - **Módulo 3: Resistência Microbiana - Mecanismos e Impacto Clínico**, (2007). [Consult. 26 out. 2020]. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/mec_animacao.htm>
3. BAQUERO, Fernando; MARTÍNEZ, José Luis; CANTÓN, Rafael - Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. **Current Opinion in Biotechnology**. ISSN 09581669. 19:3 (2008) 260–265. doi: 10.1016/j.copbio.2008.05.006.
4. BARROSO, HELENA; MELIÇO-SILVESTRE, ANTÓNIO; TAVEIRA, Nuno. - **Microbiologia Médica**. 2014. ed. [S.l.]: Lidel, 2014. ISBN 9789897520570.
5. BASTIDA, Carla; SOY, Dolores; TORRES, Antoni - The safety of antimicrobials for the treatment of community-acquired pneumonia. **Expert Opinion on Drug Safety**. ISSN 1744764X. 19:5 (2020) 577–587. doi: 10.1080/14740338.2020.1750594.
6. BEN, Yujie *et al.* - Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review. **Environmental Research**. ISSN 10960953. 169:July 2018 (2019) 483–493. doi: 10.1016/j.envres.2018.11.040.
7. BRITTAİN, D. C. - Erythromycin. **Medical Clinics of North America**. ISSN 00257125. 71:6 (1987) 1147–1154. doi: 10.1016/S0025-7125(16)30802-1.
8. BRUNTON, Laurence - **Goodman and Gilman's - The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 13. ed. [S.l.]: Mcgraw-hill education - europe, 2017. ISBN 9781259584732.
9. CAPLIN, Jonathan L.; HANLON, Geoffrey W.; TAYLOR, Huw D. - Presence of vancomycin and ampicillin-resistant *Enterococcus faecium* of epidemic clonal complex-17 in wastewaters from the south coast of England. **Environmental Microbiology**. ISSN 14622912. 10:4 (2008) 885–892. doi: 10.1111/j.1462-2920.2007.01507.x.
10. CARVALHO, Isabel T.; SANTOS, Lúcia - Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario. **Environment International**. ISSN 18736750. 94:2016) 736–757. doi: 10.1016/j.envint.2016.06.025.
11. COSTA, Carla Regina *et al.* - A toxicidade em ambientes aquáticos: Discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**. ISSN 01004042. 31:7 (2008) 1820–1830. doi:10.1590/S0100-4

0422008000700038.

12. CRUZ, L. - Principais técnicas de tratamentos de águas residuais. **Millenium**. 7 (1997) 1–9. ISSN 1098-6596.
13. DAUGHTON, Christian G.; TERNES, Thomas A. - Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? **Environmental Health Perspectives**. ISSN 00916765. 107:SUPPL. 6 (1999) 907–938. doi: 10.1289/ehp.99107s6907.
14. DEMAIN, Arnold L.; SANCHEZ, Sergio - Microbial drug discovery: 80 Years of progress. **Journal of Antibiotics**. ISSN 00218820. 62:1 (2009) 5–16. doi: 10.1038/ja.2008.16.
15. EMMERSON, A. M.; JONES, A. M. - The quinolones: Decades of development and use. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. ISSN 03057453. 51:SUPPL. 1 (2003) 13–20. doi: 10.1093/jac/dkg208.
16. EUROPEAN MEDICINES AGENCY - Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use. **Science Medicines Health**. 1:November (2018) 1–48.
17. FELIS, Ewa *et al.* - Antimicrobial pharmaceuticals in the aquatic environment - occurrence and environmental implications. **European Journal of Pharmacology**. ISSN 18790712. 866:November (2020) 172813. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172813.
18. FERNANDES, Prabhavathi *et al.* - Differentiating the Pharmacodynamics and Toxicology of Macrolide and Ketolide Antibiotics. **Journal of Medicinal Chemistry**. ISSN 15204804. 2019). doi: 10.1021/acs.jmedchem.9b01159.
19. GONZÁLEZ-PLEITER, Miguel *et al.* - Toxicity of five antibiotics and their mixtures towards photosynthetic aquatic organisms: Implications for environmental risk assessment. **Water Research**. ISSN 18792448. 47:6 (2013) 2050–2064. doi: 10.1016/j.watres.2013.01.020.
20. GONZALEZ, John P.; HENWOOD, Julian M. - Pefloxacin: A Review of its Antibacterial Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Use. **Drugs**. ISSN 11791950. 37:5 (1989) 628–668. doi: 10.2165/00003495-198937050-00003.
21. GRENNI, Paola; ANCONA, Valeria; BARRA CARACCILO, Anna - Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. **Microchemical Journal**. ISSN 0026265X. 136: 2018) 25–39. doi: 10.1016/j.microc.2017.02.006.
22. GRUJIĆ, Svetlana; VASILJEVIĆ, Tatjana; LAUŠEVIĆ, Mila - Determination of multiple pharmaceutical classes in surface and ground waters by liquid chromatography-ion trap-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**. ISSN 00219673. 1216:25 (2009) 4989–5000. doi: 10.1016/j.chroma.2009.04.059.

23. GUIMARÃES, SERAFIM; MOURA, DANIEL; SOARES DA SILVA, Patrício. - **Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas**. 6. ed. [S.l.]: Porto Editora, (2006). ISBN 9789720060297.
24. JONES, O. A. H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N. - Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. **Water Research**. ISSN 00431354. 36:20 (2002) 5013–5022. doi: 10.1016/S0043-1354(02)00227-0.
25. JONES, O. A. H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N. - Potential ecological and human health risks associated with the presence of pharmaceutically active compounds in the aquatic environment. **Critical Reviews in Toxicology**. ISSN 10408444. 34:4 (2004) 335–350. doi: 10.1080/10408440490464697.
26. KEMPER, Nicole - Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. **Ecological Indicators**. ISSN 1470160X. 8:1 (2008) 1–13. doi: 10.1016/j.ecolind.2007.06.002.
27. KIM, Sungpyo; AGA, Diana S. - Potential ecological and human health impacts of antibiotics and antibiotic-resistant bacteria from wastewater treatment plants. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews**. ISSN 10937404. 10:8 (2007) 559–573. doi: 10.1080/15287390600975137.
28. KOHANSKI, Michael A.; DWYER, Daniel J.; COLLINS, James J. - How antibiotics kill bacteria: From targets to networks. **Nature Reviews Microbiology**. ISSN 17401526. 8:6 (2010) 423–435. doi: 10.1038/nrmicro2333.
29. KOVALAKOVA, Pavla *et al.* - Occurrence and toxicity of antibiotics in the aquatic environment: A review. **Chemosphere**. ISSN 18791298. 251:(2020) 126351. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.126351.
30. KÜMMERER, K. - Significance of antibiotics in the environment. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. ISSN 03057453. 52:1 (2003) 5–7. doi: 10.1093/jac/dkg293.
31. KÜMMERER, Klaus - Resistance in the environment. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. ISSN 03057453. 54:2 (2004) 311–320. doi: 10.1093/jac/dkh325.
32. KÜMMERER, Klaus - The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use - present knowledge and future challenges. **Journal of Environmental Management**. ISSN 03014797. 90:8 (2009a) 2354–2366. doi: 10.1016/j.jenvman.2009.01.023.
33. KÜMMERER, Klaus - Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part I. **Chemosphere**. ISSN 00456535. 75:4 (2009b) 417–434. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.11.086.

34. KÜMMERER, Klaus - Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part II. **Chemosphere**. ISSN 00456535. 75:4 (2009c) 435–441. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.12.006.
35. KÜMMERER, Klaus - Pharmaceuticals in the environment. **Annual Review of Environment and Resources**. ISSN 15435938. 35:2010) 57–75. doi: 10.1146/annurev-environ-052809-161223.
36. LUO, Yunlong *et al.* - A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. **Science of the Total Environment**. . ISSN 18791026. 473–474:2014) 619–641. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.12.065.
37. MANAIA, Célia M. *et al.* - Antibiotic resistance in urban aquatic environments: can it be controlled? **Applied Microbiology and Biotechnology**. ISSN 14320614. 100:4 (2016) 1543–1557. doi: 10.1007/s00253-015-7202-0.
38. MENDOZA, A. *et al.* - Pharmaceuticals and iodinated contrast media in a hospital wastewater: A case study to analyse their presence and characterise their environmental risk and hazard. **Environmental Research**. ISSN 10960953. 140:2015) 225–241. doi: 10.1016/j.envres.2015.04.003.
39. MICHAEL, I. *et al.* - Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: A review. **Water Research**. ISSN 18792448. 47:3 (2013) 957–995. doi: 10.1016/j.watres.2012.11.027.
40. MOMPÉLAT, S.; BOT, B. LE; THOMAS, O. - Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. **Environment International**. . ISSN 18736750. 35:5 (2009) 803–814. doi: 10.1016/j.envint.2008.10.008.
41. MUNITA, Jose M. *et al.* - HHS Public Access Mechanisms of Antibiotic Resistance. **HHS Public Access**. 4:2 (2016) 1–37. doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.Mechanisms.
42. NISHA, A. R. - Antibiotic residues - A global health hazard. **Veterinary World**. . ISSN 09728988. 1:12 (2008) 375–377. doi: 10.5455/vetworld.2008.375-377.
43. PEREIRA, André - **Risk assessment of human pharmaceuticals in the portuguese aquatic environment**. [S.l.]: Universidade de Coimbra, (2017)
44. PEREIRA, André *et al.* - Selected pharmaceuticals in different aquatic compartments: Part I— Source, fate and occurrence. **Molecules**. ISSN 14203049. 25:5 (2020a). doi: 10.3390/molecules25051026.

45. PEREIRA, André *et al.* - Selected pharmaceuticals in different aquatic compartments: Part II- Toxicity and environmental risk assessment. **Molecules**. ISSN 14203049. 25:8 (2020b). doi: 10.3390/molecules25081796.
46. PEREIRA, André M. P. T. *et al.* - Environmental impact of pharmaceuticals from Portuguese wastewaters: Geographical and seasonal occurrence, removal and risk assessment. **Environmental Research**. ISSN 10960953. 136:2015) 108–119. doi: 10.1016/j.envres.2014.09.041.
47. PEREIRA, Lílian Cristina *et al.* - A perspective on the potential risks of emerging contaminants to human and environmental health. **Environmental Science and Pollution Research**. ISSN 16147499. 22:18 (2015) 13800–13823. doi: 10.1007/s11356-015-4896-6.
48. PRESTON, Benjamin L. - Indirect effects in aquatic ecotoxicology: Implications for ecological risk assessment. **Environmental Management**. ISSN 0364152X. 29:3 (2002) 311–323. doi: 10.1007/s00267-001-0023-1.
49. **PubChem** - [Consult. 15 ago. 2020]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
50. RANG, H.P; DALE M.M; RITTER, J.M; FLOWER, R.J; HENDERSON, G. - **Rang & Dale's Pharmacology**. 7. ed. [S.l.]: Elsevier Inc., 2012. ISBN 9788535259.
51. RIZZO, L. *et al.* - Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. **Science of the Total Environment**. . ISSN 00489697. 447:2013) 345–360. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.01.032.
52. RODRIGUEZ-MOZAZ, Sara *et al.* - Antibiotic residues in final effluents of European wastewater treatment plants and their impact on the aquatic environment. **Environment International**. ISSN 18736750. 140:April (2020) 105733. doi: 10.1016/j.envint.2020.105733.
53. SANTOS, Lúcia H. M. L. M. *et al.* - Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. **Journal of Hazardous Materials**. . ISSN 03043894. 175:1–3 (2010) 45–95. doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.10.100.
54. SCHLÜTER, Andreas *et al.* - Genomics of IncP-I antibiotic resistance plasmids isolated from wastewater treatment plants provides evidence for a widely accessible drug resistance gene pool. **FEMS Microbiology Reviews**. ISSN 01686445. 31:4 (2007) 449–477. doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00074.x.
55. SCHWARTZ, Thomas *et al.* - Real-time PCR detection of *Pseudomonas aeruginosa* in clinical and municipal wastewater and genotyping of the ciprofloxacin-resistant isolates. **FEMS Microbiology Ecology**. ISSN 01686496. 57:1 (2006) 158–167. doi: 10.1111/j.1574-

6941.2006.00100.x.

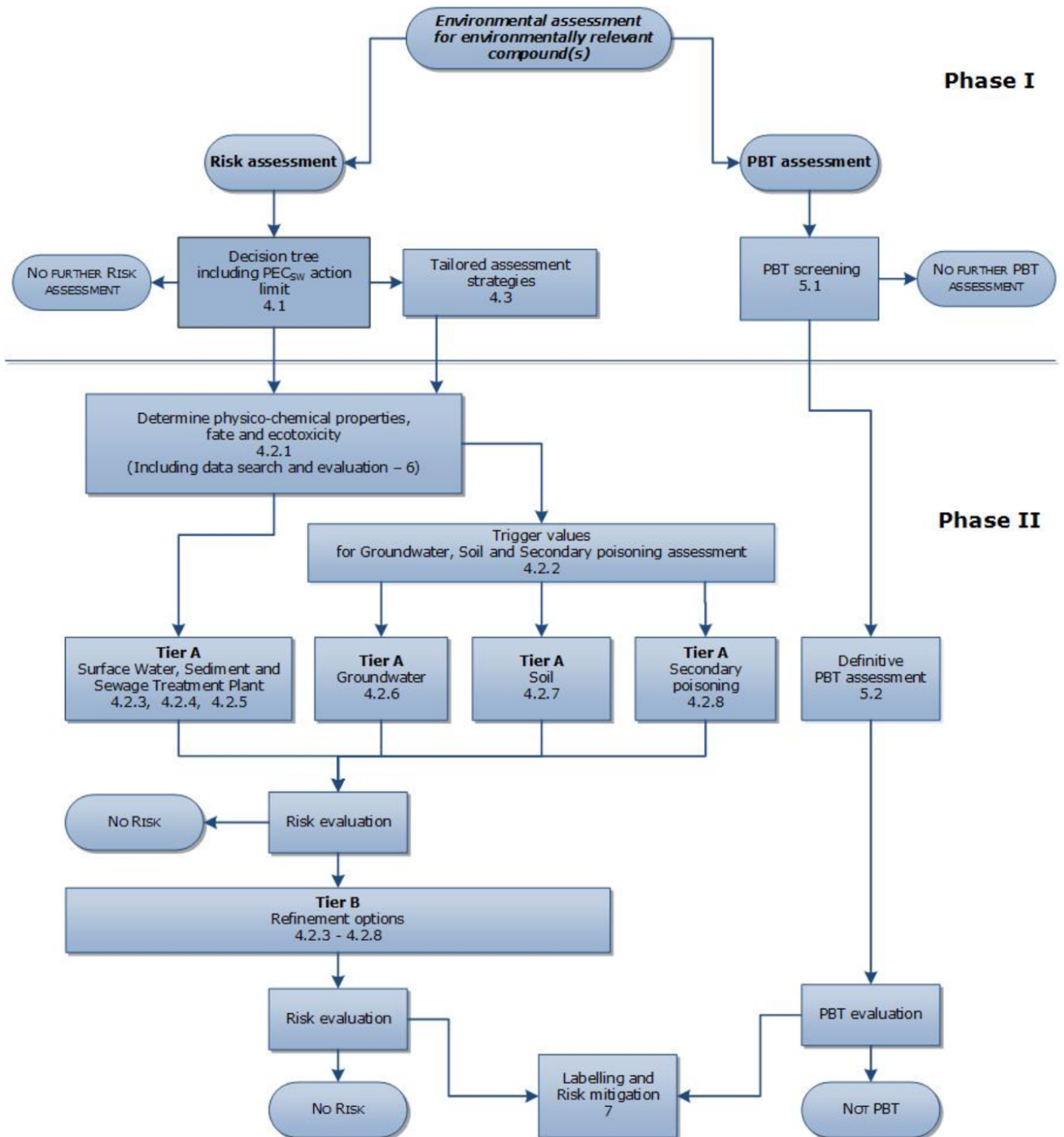
56. SEIFRTOVÁ, Marcela *et al.* - An overview of analytical methodologies for the determination of antibiotics in environmental waters. **Analytica Chimica Acta**. ISSN 00032670. 649:2 (2009) 158–179. doi: 10.1016/j.aca.2009.07.031.
57. VÄLITALO, Pia *et al.* - Toxicological impacts of antibiotics on aquatic micro-organisms: A mini-review. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**. ISSN 1618131X. 220:3 (2017) 558–569. doi: 10.1016/j.ijheh.2017.02.003.
58. VANNESTE, J. L. *et al.* - Isolation of copper and streptomycin resistant phytopathogenic *Pseudomonas syringae* from lakes and rivers in the central north island of New Zealand. **New Zealand Plant Protection**. ISSN 11759003. 61: (2008) 80–85. doi: 10.30843/nzpp.2008.61.6822.
59. WATKINSON, A. J. *et al.* - Antibiotic-resistant *Escherichia coli* in wastewaters, surface waters, and oysters from an urban riverine system. **Applied and Environmental Microbiology**. ISSN 00992240. 73:17 (2007) 5667–5670. doi: 10.1128/AEM.00763-07.
60. XIONG, Jiu Qiang *et al.* - Toxicity of sulfamethazine and sulfamethoxazole and their removal by a green microalga, *Scenedesmus obliquus*. **Chemosphere**. ISSN 18791298. 218:2019) 551–558. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.11.146.
61. ZENKER, Armin *et al.* - Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. **Journal of Environmental Management**. ISSN 10958630. 133:2014) 378–387. doi: 10.1016/j.jenvman.2013.12.017.

ANEXOS

ANEXO I

Visão geral do risco ambiental e avaliação PBT

Fonte: (European Medicines Agency, 2018)



ANEXO 2

Árvore de decisão da Fase I (Q: pergunta)
 Fonte: (European Medicines Agency, 2018)

