TOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA DE DIPIRONA, DICLOFENACO E IBUPROFENO PARA *DAPHNIA SIMILIS* E *RAPHIDOCELIS SUBCAPITATA*

Gustavo Lorenção Bravin, Júlia Faria da Silva, Júlia Cristhine Ressurreição, Manuela Potrich de Jesus, Ingrid Lins Noé, Cristiane dos Santos Vergilio.

[1]LABTOX/LECA – Laboratório de Ecotoxicologia / Laboratório de Estudos em Ciências Ambientais – Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário S/N, Guararema - 29500-000 – Alegre-ES, Brasil, bravingustavo9@gmail.com, juliafaria977@gmail.com, juliacristhine@gmail.com, manuela.p.jesus@edu.ufes.br, ingridlnoe@gmail.com, cristiane.vergilio@ufes.br.

Resumo

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) são amplamente utilizados e, após consumo e excreção, seus resíduos atingem ecossistemas aquáticos, podendo gerar efeitos tóxicos nos organismos. Este estudo avaliou o potencial tóxico da dipirona (DIP), diclofenaco (DIC) e ibuprofeno (IBF) via ensaios agudos com *Daphnia similis* (NBR 12713) e crônicos com *Raphidocelis subcapitata* (NBR 12648). Nos testes agudos, DIP e IBF causaram imobilidade em *D. similis* apenas em concentrações elevadas (≥ 50.000 e 400.000 µg/L, respectivamente), enquanto o DIC apresentou toxicidade a partir de 20 mg/L. Já *R. subcapitata* exibiu elevada sensibilidade crônica à DIP (a partir de 50 µg/L) e ao IBF (a partir de 10 µg/L). O DIC não induziu toxicidade crônica, o que não reduz o risco de exposições prolongadas ou de interação com outros contaminantes. A contagem celular mostrou-se mais precisa na avaliação do estresse algáceo. Conclui-se que os AINEs oferecem risco crônico aos produtores primários, ameaçando a base da rede trófica aquática

Palavras-chave: Anti-inflamatórios não esteroides. Microcrustáceo. algas. Poluentes emergentes.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas – Ecologia.

Introdução

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) são medicamentos enquadrados na classe dos MIPs (medicamentos isentos de prescrição) que são utilizados no tratamento de dores diversas, o que torna seu acesso à população mais facilitado. Além do tratamento de dores agudas, esses medicamentos são amplamente utilizados no manejo de condições dolorosas crônicas, tanto na medicina humana quanto na veterinária (Monteiro & Steagall, 2019), contribuindo para o consumo contínuo desses compostos.

Após a metabolização, os fármacos podem ser excretados pela urina, tanto na forma de metabólitos quanto na forma inalterada. (Silva, 2017). Esses resíduos chegam ao meio ambiente através do esgoto doméstico, que em muitos municípios não passa por tratamento adequado antes de ser liberado no ambiente (Wagner *et al*., 2017). Estudos demonstram que presença de fármacos em efluentes após o tratamento indica que os processos convencionais nem sempre promovem sua remoção completa (Nascimento et al., 2023; Santos et al., 2023), favorecendo a introdução contínua desses compostos nos ecossistemas aquáticos.

Dentre os AINEs, a dipirona (DIP), o diclofenaco (DIC) e o ibuprofeno (IBU) estão entre os fármacos mais detectados em águas superficiais. Estudos demonstram que a DIP é detectada em concentrações na faixa de 0 a 1858 µg/L em águas do Brasil (Nascimento *et al*., 2023). Já o IBU e o DIC são encontrados em concentrações que variam de 0,00333 a 785 µg/L e de 0,00000076 a 759 µg/L, respectivamente (Godoi *et al*., 2025). Isso desperta grande preocupação voltada aos possíveis efeitos tóxicos que esses fármacos podem gerar em organismos que vivem nesses ambientes aquáticos.

Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos tóxicos da DIP, do DIC e do IBU por meio de ensaios de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Daphnia similis* e de toxicidade crônica com a microalga *Raphidocelis subcapitata*.

Metodologia

As soluções foram preparadas utilizando fármacos comerciais macerados até a obtenção de um pó fino, que foi pesado para obtenção de uma solução estoque em meio MS para *D. similis*, e meio L.C. Oligo para *R. subcapitata*, de onde seriam preparadas as outras soluções por meio de diluição. Para a DIP, as concentrações utilizadas foram 5, 50, 500, 5.000, 50.000 e 500.000 µg/L; para o DIC, as concentrações foram de 1, 10, 20, 30, 40, e 50 mg/L; e para o IBU, as concentrações testadas foram de 1, 10, 100, 1.000, 10.000 e 400.000 µg/L. Essas concentrações foram definidas a partir da faixa da concentração ambiental observada, seguindo um padrão crescente até a uma concentração final que se iguale a de um comprimido integro de cada fármaco.

O ensaio de toxicidade aguda com *D. similis* foi realizado com base na normativa NBR 12713 (ABNT, 2016). Neonatos entre 6 h e 24 h de idade foram distribuídos nos tubos de ensaio, contendo 10 mL de cada solução-teste e meio MS no grupo controle. Para todos os tratamentos, foram preparadas 10 réplicas experimentais, sendo inseridos 5 neonatos em cada tubo (50 organismos expostos por tratamento), visando obter uma maior representatividade dos resultados. O experimento foi incubado no escuro, em BOD à temperatura de 21ºC por 48 h. Ao final do ensaio, foram contabilizados os organismos imóveis (critério de letalidade). Como parâmetro de validação, foi considerado a percentual de imobilidade no controle menor ou igual a 10 % (ABNT, 2016).

O ensaio de toxicidade crônica com *R. subcapitata* foi realizado com base na normativa NBR 12648 (ABNT, 2018), adaptado para tubos de ensaio para reduzir o volume de amostra, e obter um maior número de réplicas, aumentando a representatividade dos resultados. As microalgas (1×10^4 células) foram distribuídas em tubos contendo 10 mL de soluções-teste e meio L.C. Oligo no grupo controle, sendo preparadas 10 réplicas experimentais de cada tratamento. As microalgas foram incubadas em BOD a 24ºC, sob luz fluorescente contínua por 72 h. Ao final do ensaio, as algas foram fixadas com 0,5 mL de formol tamponado a 10%, e retirou-se 10 µL de cada réplica para contagem de células em microscópio óptico, utilizando a câmara de Neubauer, para determinação do crescimento algáceo por meio da conversão do número de células em percentual, sendo o grupo controle com percentual igual a 100%. A densidade óptica (DO) à 750 nm também foi avaliada como parâmetro de monitoramento do crescimento algáceo.

Os parâmetros físico-químicos de pH, condutividade (COND), oxigênio dissolvido (OD) e temperatura (TEMP) foram avaliados nos ensaios (Tabela 1). As análises estatísticas e a elaboração dos gráficos foram realizadas no software GraphPad Prism. Os dados de DO foram submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA one-way), seguida do teste de Tukey. Para os percentuais de imobilidade de *D. similis* e de inibição do crescimento de *R. subcapitata*, utilizou-se o teste de Kruskal –Wallis, seguido do pós-teste de Dunn. Todas as concentrações testadas foram comparadas ao respectivo grupo controle, adotando-se nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). A significância estatística foi representada como: $p > 0,05$, não significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e **** $p < 0,0001$.

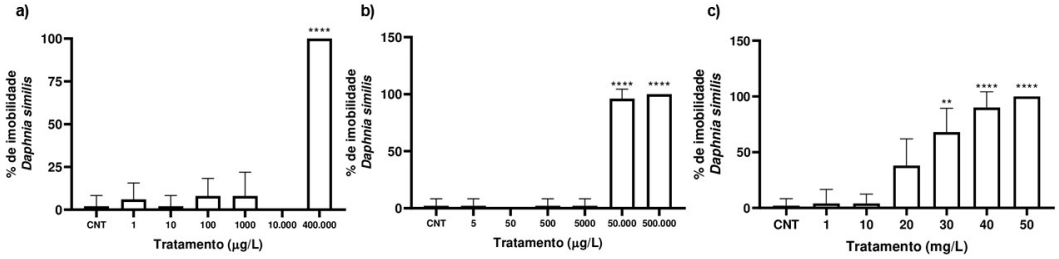
Resultados

No ensaio agudo com *D. similis*, o IBU provocou imobilidade apenas na maior concentração testada, de 400.000 µg/L (Figura 1a), enquanto DIP causou imobilidade nas concentrações de 50.000 e 500.000 µg/L, sendo observada imobilidade de 100% dos organismos na maior concentração (Figura 1b). Por fim, o DIC apresentou efeito crescente a partir de 20 mg/L, tendo efeito significativo a partir de 30 mg/L e alcançando 100% de imobilidade na maior concentração avaliada, de 50 mg/L (Figura 1c).

O ensaio crônico com *R. subcapitata* evidenciou maior sensibilidade na avaliação dos efeitos tóxicos. O IBU reduziu significativamente do crescimento a partir de 100 µg/L, alcançando inibição total na maior concentração testada, de 400.000 µg/L (Figura 2a). A DIP apresentou efeito tóxico a partir de 50 µg/L (Figura 2b), com padrão de dose-resposta não monotônica. Por fim, o DIC induziu efeito crônico significativo sobre o crescimento de *R. subcapitata* somente na concentração de 50 mg/L (Figura 2c).

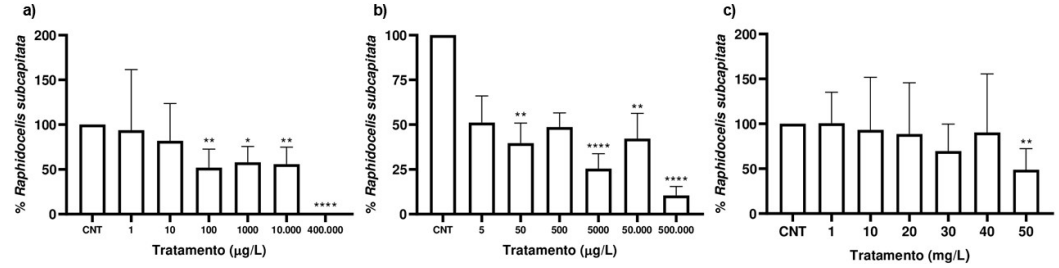
Os dados de contagem celular mostraram-se mais sensíveis para a avaliação da inibição do crescimento quando comparados à densidade óptica (DO). Para o IBU e DIP, a DO apresentou redução significativa apenas na maior concentração testada, de 400.000 µg/L (Figura 3a) e 500.000 µg/L (Figura 3b), enquanto DIC, não mostrou reduções significativas na DO que correspondesse com os resultados da contagem celular (Figura 3c).

Figura 1: Percentual de imobilidade de *Daphnia similis* expostas ao ibuprofeno (a), dipirona sódica (b) diclofenaco (c).



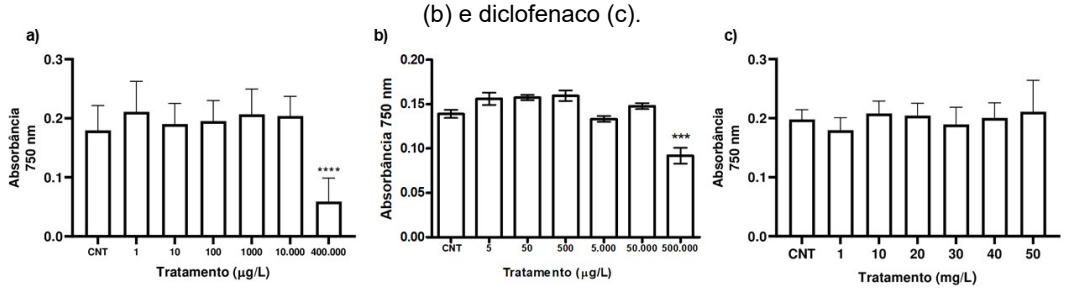
Fonte: os autores.

Figura 2: Percentual de algas *Raphidocelis subcapitata* expostas ao ibuprofeno (a), dipirona (b) e diclofenaco (c).



Fonte: os autores.

Figura 3: Densidade óptica (750 nm) da microalga *Raphidocelis subcapitata* expostas ao ibuprofeno (a), dipirona (b) e diclofenaco (c).



Fonte: os autores.

Tabela 1 – Média dos parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante cada experimento.

ORGANISMOS		*Daphnia similis*				*Raphidocelis subcapitata*			
SOLUÇÕES		TEMP ºC	OD mg/L	pH	COND µS/cm	TEMP ºC	OD mg/L	pH	COND µS/cm
IBU - µg/L	CNT	23,8	7,4	7,0	202,0	25,7	6,7	7,8	264,0
	1	23,8	7,0	6,8	202,0	25,5	6,9	7,8	266,5
	10	24,1	7,2	6,8	196,5	25,7	7,3	8,0	263,0
	100	23,9	7,5	6,7	199,0	25,6	6,7	7,9	284,5
	1000	23,9	7,5	6,8	196,5	25,8	8,4	8,0	270,0
	10.000	23,7	7,4	6,7	194,0	25,8	8,7	8,0	266,0
	400.000	24,1	7,5	4,5	201,0	25,6	8,0	6,9	258,5
DIP - µg/L	CNT	24,8	7,1	5,2	162,5	24,8	8,8	8,5	168,5
	5	24,2	6,8	5,2	162,5	24,6	8,0	8,3	166,0
	50	24,4	6,8	5,4	162,0	24,0	8,3	8,3	167,5
	500	24,3	7,2	5,3	163,0	23,8	8,5	8,3	168,0
	5000	24,4	7,2	5,3	162,0	23,5	8,2	8,3	167,5
	50.000	24,1	7,0	5,4	163,0	23,4	7,9	8,2	169,0
	500.000	24,5	6,5	5,3	170,0	23,6	7,0	7,4	170,0
DIC - mg/L	CNT	23,1	7,3	7,4	234,0	25,8	6,5	7,6	292,5
	1	23,2	6,8	7,3	221,5	25,8	6,6	7,6	285,0
	10	22,8	6,8	7,4	238,0	25,9	6,2	7,9	277,0
	20	23,0	7,3	7,4	249,5	25,8	6,4	7,9	293,0
	30	23,1	7,4	7,5	266,0	26,1	7,8	7,9	275,5
	40	23,2	7,2	7,5	276,0	25,8	8,0	7,8	275,0
	50	22,9	7,5	7,6	286,0	26,1	6,7	8,0	277,5

Fonte: os autores.

Discussão

A grande incidência de AINEs nos ecossistemas aquáticos representa crescente ameaça para os organismos. Os resultados obtidos evidenciaram diferenças expressivas de sensibilidade entre os níveis tróficos avaliados, demonstrando que ensaios agudos com invertebrados, como *D. similis*, podem subestimar os riscos ecológicos à exposição crônica de produtores primários, como *R. subcapitata*.

Os compostos testados são pertencentes a mesma classe de medicamentos (AINEs). Entretanto, os efeitos tóxicos observados possuem diferenças. Nesse sentido, apesar de pertencerem a mesma classe e apresentarem mecanismos de ação semelhantes, esses medicamentos possuem fórmulas estruturais diferentes, o que pode influenciar nos seus mecanismos de toxicidade. Um estudo realizado com os fármacos acetaminofeno (ACE), IBU e DIC com *Daphnia magna* mostrou que ACE e IBU compartilharam alterações no metabolismo de nitrogênio e de aminoácidos de cadeia ramificada, enquanto ACE e DIC induziram mudanças no metabolismo da glicina, serina e treonina (Pereira *et al*., 2024). Isso mostra que diferentes fármacos podem atuar em mecanismos de toxicidade distintos, mesmo sendo pertencentes a mesma classe medicamentosa.

Nos ensaios com IBU, observou-se uma diferença acentuada entre as respostas aguda e crônica. *D. similis* apresentou maior tolerância ao fármaco, com imobilidade significativa apenas em 400.000 µg/L, enquanto *R. subcapitata* demonstrou sensibilidade consideravelmente maior, com redução significativa do crescimento a partir de 100 µg/L. Considerando que os níveis de IBU em águas superficiais variam de 0,00333 a 785 µg/L (Godoi *et al*., 2025), os efeitos crônicos observados no presente estudo demonstram preocupação por estarem dentro da faixa de ocorrência em águas superficiais. Estudos demonstram que o IBU atua como um potente desregulador endócrino. De acordo com Ji *et al.* (2013), um estudo utilizando peixes da espécie *Danio rerio* expostos a concentrações de 10, 100 e 1.000 µg/L do IBU por 14 dias evidenciou uma redução drástica na frequência de ovos desovados em comparação ao grupo controle. Isso sustenta a preocupação em relação a possíveis efeitos tóxicos para a biota relacionados a contaminação do meio ambiente pelo ibuprofeno.

No ensaio com DIP, observou-se toxicidade aguda somente nas maiores concentrações testadas (50.000 e 500.000 µg/L), enquanto o ensaio crônico mostrou toxicidade a partir de 50 µg/L. Isso traz preocupações ao comparar as concentrações testadas com a encontrada ambientalmente, que varia de 0 – 1.858 µg/L (Nascimento *et al*., 2023). Nesse sentido, a faixa de toxicidade apresentada no ensaio crônico (50 µg/L) desperta preocupação em relação a possíveis efeitos nas espécies do ambiente natural. Além disso, o ensaio mostrou um padrão não sequencial ao longo das concentrações testadas, que corrobora com um padrão de resposta dose-dependente não monotônica (NMDR), descrito por Vandenberg et al., (2012), embora não tenham sido realizados testes estatísticos específicos para classificar tendências monotônicas. Um estudo que avaliou a toxicidade de clorpromazina, DIC e lantanídeos para *C. dubia* evidenciou uma estimulação nos parâmetros reprodutivos do microcrustáceo no dia 21, mas não no dia 30 para o DIC (1 mg/L), indicando um efeito de resposta não monotônica transitório sobre as características de reprodução (Gylytė et al., 2023).

Nos ensaios com DIC, *D. similis* apresentou maior sensibilidade do que a microalga *R. subcapitata*, sendo observada imobilidade significativa a partir de 30 mg/L. Entretanto, essa concentração é superior às concentrações ambientais descritas na literatura, que variam entre 0,00000076 e 0,76 mg/L (Godoi *et al*., 2025). Esses resultados indicam que a exposição aguda ao DIC nas concentrações geralmente encontradas em corpos hídricos apresenta baixa probabilidade de causar imobilidade imediata em populações de *D. similis*. Contudo, isso não exclui a possibilidade de efeitos decorrentes de exposições prolongadas ou da interação com outros contaminantes. A imobilidade observada em organismos expostos a concentrações mais elevadas de DIC pode estar associada à indução de estresse oxidativo. De acordo com Nkoom *et al*. (2019), a exposição de *D. magna* ao DIC provoca um aumento no nível de malondialdeído (MDA), que é um subproduto de dano oxidativo à membrana lipídica. No entanto, os resultados crônicos demonstraram que *R. subcapitata* foi pouco sensível ao DIC, ao evidenciar que houve inibição significativa somente na maior concentração testada (50 mg/L), diferente de outros estudos (Hernández-Zamora *et al*., 2025; Russo *et al*., 2023) que demonstram toxicidade relacionada ao DIC para microalgas e cladóceros (*C. dubia)*. Isso pode se dar pela fotodegradação que ocorre com o DIC em exposição contínua a luz (Buser, Poiger e Müller, 1998). Estudos demonstram que soluções de diclofenaco expostas as mesmas condições experimentais de

um ensaio com diferentes microalgas, evidenciaram uma redução de 15 a 28% do fármaco por fotólise (Sánchez-Sandoval *et al*., 2022). Isso pode levar a redução relativa das concentrações de exposição em comparação a aquelas que inicialmente foram definidas, pelo fato de que ensaios algáceos são realizados com luz contínua. Consequentemente, isso pode afetar no real efeito inibitório do DIC para *R. subcapitata*.

Por fim, ao analisar o parâmetro de DO, é possível observar uma redução relativa somente na maior concentração de IBU e DIP (400.000 µg/L e 500.000 µg/L, respectivamente), enquanto que para o DIC, essa a DO não apresentou alterações em relação ao controle. De acordo com a OECD (2011), químicos que geram estresse podem induzir alterações morfológicas e de volume celular, o que pode mascarar a inibição real, quando analisada pela DO. Isso torna indispensável o parâmetro de contagem celular.

Conclusão

O presente estudo traz uma perspectiva importante sobre a avaliação comparativa entre a exposição crônica e aguda desses compostos, pois muitas vezes a utilização exclusiva de ensaios agudos para avaliação de toxicidade de contaminantes pode ocultar o possível efeito de exposições prolongadas de tais compostos. Os fármacos testados demonstraram maior toxicidade crônica em comparação com a aguda. No entanto, alguns fármacos apresentaram toxicidade dentro dos níveis observados em águas superficiais, o que desperta a preocupação para possíveis efeitos na biota local. Os dados reforçam a preocupação dos contaminantes emergentes no meio ambiente, além de elevar a necessidade de entendimento sobre a toxicidade destes compostos para diferentes organismos não-alvo, afim de compreender como esses contaminantes afetam o ecossistema como um todo.

Referências

ABNT. NBR 12713: 2016. Ecotoxicologia aquática — Toxicidade aguda — Método de ensaio com Daphnia spp (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2016.

ABNT. NBR 12648: 2018. Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (Chlophyceae). Rio de Janeiro, 2018.

BUSER, H.-R.; POIGER, T.; MÜLLER, M. D. Occurrence and Fate of the Pharmaceutical Drug Diclofenac in Surface Waters: Rapid Photodegradation in a Lake. **Environmental Science & Technology**, v. 32, n. 22, p. 3449-3456, 1998. Disponível em: https://doi.org/10.1021/es980301x. Acesso em: 8 set. 2026.

GODOI, F. G. A. et al. Review of the Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Consumption, Occurrence, Potential Impacts on Environmental Health, and Insights into Regulatory Decision-Making Brazilian Aquatic Ecosystems. ACS Omega, v. 10, n. 25, p. 26250–26265, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.1021/acsomega.5c01916. Acesso em: 20/08/2026.

GYLYTĖ, B. et al. Long-term toxicity of chlorpromazine, diclofenac and two lanthanides on three generations of *Ceriodaphnia dubia*. **PeerJ**, v. 11, e16472, 2023. DOI: 10.7717/peerj.16472. Acesso em: 18 set. 2026.

HERNÁNDEZ-ZAMORA, M. et al. Diclofenac Produces Diverse Toxic Effects on Aquatic Organisms of Different Trophic Levels, Including Microalgae, Cladocerans, and Fish. **Water**, v. 17, n. 10, p. 1489, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.3390/w17101489. Acesso em: 8 set. 2026.

JI, K. et al. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on hormones and genes of the hypothalamic-pituitary-gonad axis, and reproduction of zebrafish. **Journal of Hazardous Materials**, v. 254–255, p. 242–251, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.03.036. Acesso em: 24/08/2026.

MONTEIRO, B. B.; STEAGALL, P. V. Antiinflammatory Drugs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 49, n. 6, p. 993-1011, 2019. DOI: 10.1016/j.cvsm.2019.07.009. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.07.009.

NASCIMENTO, R. F. do, DE CARVALHO FILHO, J.A.A., NAPOLEÃO, D.C. et al. Presença de anti inflamatórios não esteroidais em águas semiáridas brasileiras. Água Ar Solo Pollut 234, 225 (2023). Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11270-023-06239-2. Acesso em 21/08/2026.

NKOOM, M. et al. Bioconcentration, behavioral, and biochemical effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac in Daphnia magna. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 5704–5712, 2019. DOI: 10.1007/s11356-018-04072-3.

OECD. **Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test**. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1787/9789264069923-en. Acesso em: 24/08/2026.

PEREIRA, E. A. O. et al. Metabolomic-Based Comparison of Daphnia magna and Japanese Medaka Responses After Exposure to Acetaminophen, Diclofenac, and Ibuprofen. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 43, n. 6, p. 1339–1351, 2024. DOI: 10.1002/etc.5876.

RUSSO, C. et al. Diclofenac eco-geno-toxicity in freshwater algae, rotifers and crustaceans. **Environmental Pollution**, v. 335, p. 122251, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122251. Acesso em: 8 set. 2026.

SÁNCHEZ-SANDOVAL, D. S. et al. Diclofenac removal by the microalgae species *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata*, *Scenedesmus acutus*, and *Scenedesmus obliquus*. **3 Biotech**, v. 12, n. 9, art. 210, set. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13205-022-03268-2. Acesso em: 8 set. 2026.

SANTOS, R. M. S. et al. Análise de anti-inflamatórios em uma estação de tratamento de esgoto e águas superficiais em clima semiárido. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, v. 58, n. 2, p. 261–272, 2023. DOI: 10.5327/Z2176-94781629.

SILVA, M. G. P. L. **Contaminação de águas por diclofenaco e ibuprofeno: impacto ambiental e implicações ecotoxicológicas**. 2017. 47 f. Monografia (Graduação em Farmácia) - Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2017. Disponível em: http://www.monografias.ufop.br/handle/35400000/513.

VANDENBERG, L. N. et al. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. **Endocrine Reviews**, v. 33, n. 3, p. 378–455, 2012. DOI: 10.1210/er.2011-1050. Acesso em: 18 set. 2026.

WAGNER, M. C. et al. Ocorrência dos fármacos amoxicilina e cafeína em esgoto doméstico e águas superficiais. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL**, 29., 2017, São Paulo. Anais eletrônicos. Rio de Janeiro: ABES, 2017. Disponível em: https://abes-dn.org.br/anaiseletronicos/36_Download/TrabalhosCompletosPDF/I-311.pdf. Acesso em: 04 set. 2026.

Agradecimentos

Ao LABTOX/LECA e à UFES por todo o apoio estrutural, e à FAPES pelo apoio financeiro.