

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



**Ocorrência de fármacos nos moluscos
bivalves:
Casos de estudo**

Cristina de Jesus França Pereira

Monografia orientada pela Professora Doutora Cristina M. M. Almeida,
Professora Auxiliar.

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2021

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



**Ocorrência de fármacos nos moluscos
bivalves:
Casos de estudo**

Cristina de Jesus França Pereira

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentado à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Cristina M. M. Almeida,
Professora Auxiliar.

2021

Resumo

A ocorrência de fármacos no meio hídrico é um problema ambiental atual e pertinente. A contaminação dos ecossistemas e das espécies aquáticas, pode de forma direta ou indireta afetar a saúde humana. Os moluscos bivalves são animais marinhos fortemente afetados pela contaminação das águas, inerente ao facto de se alimentarem por filtração da água. Predominam nas zonas costeiras, estuários ou rios, os quais, são mais afetadas pelo impacte dos efluentes das Estações de Tratamento das Águas Residuais. Existem vários estudos que evidenciam a presença de diversos fármacos em mexilhões *Mytilus galloprovincialis* e *Mytilus edulis*, amêijoas *Chamelea gallina*, *Ruditapes philippinarum* e *Corbicula fluminea*, e ostras *Crassostrea gigas*. Nos mexilhões, destacam-se o diclofenac (0,5 a 171,1 ng/g), carbamazepina (35 a 280 ng/g), etinilestradiol (3 a 196,7 ng/g), paroxetina (30 ng/g) e sertralina (6,12 ng/g). O etinilestradiol também foi detetado em amêijoas *R. philippinarum* na concentração de 3,42 ng/g. Em amêijoas *C. fluminea*, foi detetado carbamazepina (5,1 ng/g), oxazepam (6,9 a 7,4 ng/g), sertralina (56 a 140 ng/g) e fluoxetina (10 a 12 ng/g). Estes psicofármacos foram igualmente detetados em ostras, destacando a presença de sertralina (4,6 ng/g) e do seu metabolito principal, norsertralina (2,75 ng/g). O diclofenac foi encontrado em ostras na concentração de 5,7 ng/g. Nos estudos *in vitro*, identificaram-se os potenciais efeitos dos fármacos nos bivalves. Nos estudos com mexilhões verificou-se uma diminuição do desenvolvimento larval normal quanto expostos a anti-hipertensores, anti-inflamatórios não esteroides ou etinilestradiol. A exposição de amêijoas *C. fluminea* a carbamazepina causou uma diminuição na taxa de filtração do sifão. Quanto ao impacte na saúde humana, existem poucos dados relativos à exposição secundária a fármacos pelo consumo de moluscos bivalves. Atualmente, as classes farmacoterapêuticas identificadas como as de maior impacte ambiental são os antibióticos, os antineoplásicos e os estrogénios.

Palavras-chave: moluscos bivalves; fármacos; mexilhões; amêijoas; ostras

Abstract

Pharmaceutical occurrence in the water is a current and relevant environmental issue. The contamination of ecosystems and aquatic species can, directly or indirectly, affect human health. Bivalve molluscs are marine animals strongly affected by the water contamination since they're filter feeders. They're prevalent in coastal areas, estuaries or rivers, which are affected by the impact caused by the Waste Water Treatment Plants effluents. There are many case studies that confirm the presence of multiple drugs in mussels *Mytilus galloprovincialis* and *Mytilus edulis*, clams *Chamelea gallina*, *Ruditapes philippinarum* and *Corbicula fluminea*, and oysters *Crassostrea gigas*. The medicines detected in mussels, with greater emphasis, were diclofenac (0,5 to 171,1 ng/g), carbamazepine (35 to 280 ng/g), ethinylestradiol (3 to 196,7 ng/g), paroxetine (30 ng/g) and sertraline (6,12 ng/g). Ethinylestradiol was also detected in clams *R. philippinarum*, its concentration was 3,42 ng/g. In clams *C. fluminea*, it was detected carbamazepine (5,1 ng/g), oxazepam (6,9 to 7,4 ng/g), sertraline (56 to 140 ng/g) and fluoxetine (10 to 12 ng/g). These psychopharmaceuticals were equally detected in oysters, highlighting the presence of sertraline (4,6 ng/g) and its metabolite, norsertraline (2,75 ng/g). Diclofenac was found in oysters, its concentration was 5,7 ng/g. In the in vitro studies, it was possible to identify some effects on bivalves caused by pharmaceuticals. In studies run on mussels, it was noticeable a reduction of normal larvae development when exposed to anti-hypertensors, non-steroidal anti-inflammatory drugs or ethinylestradiol. The exposure of clams *C. fluminea* to carbamazepine caused a reduction in siphon's filtration rate. About the impact on human health, there is little data related to the secondary exposure to drugs via consumption of bivalve molluscs. The most prejudicial pharmacotherapeutic classes could be antibiotics, cytotoxics and estrogens.

Keywords: Bivalve molluscs; pharmaceutical; mussels; clams; oysters

Agradecimentos

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, por ter sido uma segunda casa e por me ter proporcionado oportunidade atrás de oportunidade de conhecimento, de diversão e de verdadeiro companheirismo.

À Professora Doutora Cristina Almeida, pela orientação durante estes meses e por toda a ajuda que permitiram que a realização deste trabalho fosse possível.

À minha família, que me apoiou incondicionalmente durante os últimos 6 anos. À minha mãe, que sempre foi e continuará a ser a melhor pessoa que conheço e um enorme exemplo de perseverança, que esteve presente em todos os momentos felizes e menos felizes que encontrei durante o meu percurso académico e que sempre me motivou para fazer mais e melhor. Ao meu pai, que, desde a minha infância, cativou o meu interesse pelo mundo marinho (uma vez que partilho o aniversário com o falecido mergulhador francês Jacques Cousteau), mostrando-me a sua coleção de moluscos, entre eles bivalves, que capturou desde a sua juventude. A ambos, um sincero obrigado.

Ao Fábio, meu porto de abrigo e melhor amigo, que nunca me deixou desamparada quando me sentia mais insegura e que me encorajou nos momentos que a esperança parecia desaparecer.

À Bia, Ionela, Pedro, Margarida, Cláudia e Bárbara, que se tornaram umas das pessoas mais importantes na minha vida, que me apoiaram tanto em momentos académicos como pessoais e, sem as quais, teria sido muitíssimo difícil chegar a esta fase final do curso.

Aos restantes, os meus amigos do Cacém e da Faculdade de Farmácia, que presenciaram o meu percurso académico, celebrando comigo as minhas vitórias e não me deixando abalar com as derrotas. São, sem dúvida, uma segunda família que levarei sempre na memória.

Acrónimos e abreviaturas

AINE – Anti-Inflamatório Não Esteróide

DDR – Dose Diária Recomendada

ETA – Estação de Tratamento de Água

ETAR – Estação de Tratamento de Águas Residuais

EUA – Estados Unidos da América

LQ – Limite de Quantificação

MRL – Valor máximo de resíduos

Índice

| | |
|-------------------------------------------------------|-----|
| Resumo | i |
| Abstract | ii |
| Agradecimentos | iii |
| Acrónimos e abreviaturas | iv |
| Índice..... | v |
| Índice de Figuras | vi |
| Índice de Tabelas | vii |
| Introdução | 1 |
| 1 Ciclo urbano da água | 3 |
| 2 Moluscos bivalves..... | 6 |
| 2.1 Definição..... | 6 |
| 2.2 Características | 7 |
| 2.3 Consumo | 8 |
| 3 Materiais e Métodos..... | 10 |
| 3.1 Metodologia | 10 |
| 3.2 Bivalves selecionados nos casos de estudo..... | 10 |
| 3.3 Locais de colheita selecionados | 14 |
| 4 Casos de estudo..... | 15 |
| 4.1 Nota introdutória..... | 15 |
| 4.2 Antibióticos..... | 15 |
| 4.3 Antiepiléticos e anticonvulsivantes..... | 16 |
| 4.3.1 Estudos <i>in vitro</i> | 17 |
| 4.4 Antifúngico | 18 |
| 4.5 Anti-hipertensores..... | 19 |
| 4.5.1 Estudos <i>in vitro</i> | 19 |
| 4.6 Anti-histamínicos..... | 19 |
| 4.7 Anti-Inflamatórios Não Esteróides | 20 |
| 4.7.1 Estudos <i>in vitro</i> | 22 |
| 4.8 Estrogénios e Progestagénios..... | 23 |
| 4.8.1 Estudos <i>in vitro</i> | 24 |
| 4.9 Psicofármacos | 25 |
| 4.9.1 Estudos <i>in vitro</i> | 26 |
| 5 Impacte na saúde humana | 28 |
| 6 Conclusões | 31 |
| Referências Bibliográficas | 32 |

Índice de Figuras

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Ciclo urbano da água (7) | 3 |
| Figura 2. Zonação dos andares supra, médio e infralitoral com base no hidrodinamismo. Adaptado de Saldanha L. Fauna Submarina Atlântica. 3ª Edição. Francisco Lyon de Castro, editor. Mem-Martins: Publicações Europa-América, Lda.; 1997. 16, 197–209 p..... | 6 |
| Figura 3. Exemplos de <i>Mytilus galloprovincialis</i> (esquerda) e <i>Mytilus edulis</i> (direita). | 11 |
| Figura 4. Exemplos de <i>Chamelea gallina</i> | 12 |
| Figura 5. Exemplos de <i>Ruditapes philippinarum</i> (46)..... | 12 |
| Figura 6. Exemplo de <i>Corbicula fluminea</i> (49)..... | 13 |
| Figura 7. Exemplos de <i>Crassostrea gigas</i> | 14 |

Índice de Tabelas

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Principais moluscos capturados em Portugal durante o ano 2020. Adaptado de Direção-Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos. Estatísticas da Pesca - 2020. 2021st ed. Instituto Nacional de Estatística I.P., editor. Lisboa; 2021. 55 p. (36)..... | 8 |
| Tabela 2. Concentrações e fatores de bioacumulação em mexilhões-do-mediterrâneo após exposição a carbamazepina (63)..... | 17 |
| Tabela 3. Concentrações de AINEs nos mexilhões da Baía de Portonovo, 2014 (1) .. | 21 |
| Tabela 4. Concentrações de estradiol e etinilestradiol na Lagoa de Yundang (34)..... | 24 |
| Tabela 5. Concentrações de psicofármacos em amêijoas-asiáticas (59)..... | 26 |
| Tabela 6. Quantidade média teórica de fármaco disponível para ingestão por pessoa residente em Portugal no ano de 2020 e respetivo valor por kg de massa corporal. | 29 |

Introdução

A presença de fármacos nos ecossistemas aquáticos tem sido um tópico de elevada preocupação na última década (1). Estes são designados como contaminantes de interesse emergente, isto é, são substâncias químicas que são detetadas no ambiente, para os quais ainda não há programas de monitorização e cujo destino e impacto biológico ainda não são totalmente conhecidos (2,3).

A ocorrência de fármacos no meio ambiente é uma consequência do seu elevado consumo na medicina humana e veterinária (1). Em Portugal, no primeiro trimestre de 2021, foram dispensadas, em meio ambulatorio, 40.404.388 embalagens de medicamentos. As dez classes terapêuticas mais vendidas foram os antidiabéticos, modificadores do eixo renina angiotensina, ansiolíticos, sedativos e hipnóticos, antidepressores, anticoagulantes, modificadores da secreção gástrica, depressores da atividade adrenérgica, antiepilépticos e anticonvulsivantes e antipsicóticos (4).

Outra causa para este fenómeno é a reduzida remoção destes compostos nas estações de tratamento de águas residuais (ETARs) (1), para os quais não há tratamento específico. Como tal, estes permanecem nas águas que irão desaguar nos recursos hídricos (rios, mares ou oceanos). Alguns fármacos são lipofílicos, e consequentemente, tornam-se persistentes e têm tendência a acumular no ecossistema aquático (5).

Os moluscos bivalves são geralmente usados como bioindicadores de contaminação, pois acumulam, nos seus tecidos, fármacos e outros contaminantes. Os mexilhões têm sido utilizados extensivamente como sentinelas no “*Mussel Watch Programme*” para descrever o atual estado de contaminação aquática, assim como para detetar alterações na qualidade ambiental dos estuários e zonas costeiras (5).

A contaminação dos moluscos torna-se um problema relevante de segurança alimentar, uma vez que os produtos de pesca e aquacultura, como os bivalves, têm uma elevada importância na indústria nacional. Fazem parte da gastronomia tradicional e são o principal ingrediente de alguns pratos nacionais, como a carne de porco à alentejana ou as amêijoas à Bulhão Pato (6).

Os objetivos desta monografia são explicar como é que os fármacos se podem tornar contaminantes ambientais, demonstrar a contaminação detetada em moluscos bivalves e os efeitos adversos potencialmente provocados pelos fármacos, e fazer um balanço de benefício-risco associado ao seu consumo.

O presente trabalho começa por explicar o ciclo urbano da água e quais os principais tipos de fármacos que se podem tornar contaminantes ambientais. De seguida, menciona as características dos moluscos bivalves e a sua importância como “sentinelas” ambientais. Na apresentação dos casos de estudo, identifica os fármacos mais detetados nas diversas espécies de moluscos bivalves e quais os efeitos nocivos observados. Por último, faz a ponte para a saúde humana e da possibilidade de o ser humano ficar exposto a fármacos através dos alimentos, nomeadamente, moluscos bivalves.

1 Ciclo urbano da água

O ciclo urbano da água (Figura 1) é o conjunto de processos que permite a utilização de água na comunidade e a sua devolução com qualidade ao meio ambiente.

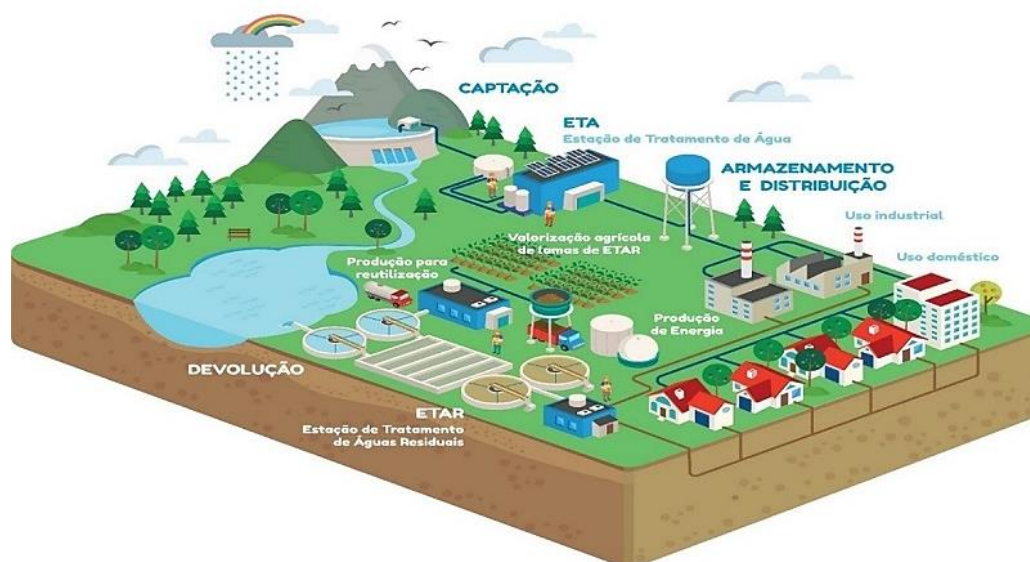


Figura 1. Ciclo urbano da água (7)

A água é captada no meio hídrico, a partir de águas superficiais (rios ou albufeiras) ou de águas dos lençóis freáticos (furos ou poços). Após a captação, a água segue para a estação de tratamento de água (ETA), onde irá sofrer tratamento até ter as características físicas, químicas e microbiológicas próprias para consumo humano, de acordo com os requisitos definidos no Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto e Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro (8,9). A água tratada entra na rede de distribuição, através da qual, chega às casas dos consumidores. Depois de utilizada, a água segue nas canalizações até à rede de esgotos, que irá ter como destino as ETARs, onde sofre diversos tipos de tratamento até ser considerada ambientalmente segura e ser devolvida ao meio hídrico (10,11).

Os principais tipos de tratamento nas ETARs são o tratamento preliminar ou gradagem, em que é feita de remoção dos sólidos de maiores dimensões; tratamento primário, em que se retira a maior parte dos sólidos suspensos na água; tratamento secundário, onde há um tratamento biológico com bactérias que digerem a matéria orgânica existente; e tratamento terciário, em que as águas residuais são submetidas a uma desinfecção e remoção de nutrientes. As lamas que resultam de cada um destes

tratamentos, após elas próprias sofrerem um tratamento adequado, são encaminhadas para produção de combustível ou usadas como fertilizante (10).

Durante a fase de consumo de água, a população geral utiliza medicamentos e excreta, principalmente pela urina, uma fração inalterada do fármaco e os seus metabolitos para as águas residuais. A indústria farmacêutica, pelas lavagens dos equipamentos, e os hospitais, pelo elevado consumo e incorreta eliminação de medicamentos, contribuem também para a introdução de fármacos nas águas residuais (12,13). Estes produtos irão posteriormente ser detetados em águas superficiais, devido a uma incompleta remoção nas ETARs, à sua estabilidade no meio hídrico e à baixa volatilidade dos fármacos (12–14).

Nas ETARs, os fármacos podem ter três destinos possíveis: podem ser oxidados a dióxido de carbono e água; podem ser adsorvidos nos sólidos em suspensão, se forem lipofílicos; ou persistem nas águas onde irão atingir o meio hídrico sob a forma do composto original ou de um metabolito (12,15).

Os fármacos acídicos como os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), dos quais são exemplos ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, cetoprofeno, naproxeno, diclofenac e indometacina (16) estão ionizados a pH neutro e, por isso, não são adsorvidos pelas lamas, e permanecem na fase aquosa (12). Fármacos básicos e zwitteriões, como as fluoroquinolonas, são adsorvidos pelas lamas em grande extensão, ou seja, podem atingir as zonas terrestres quando a lama é utilizada como fertilizante na agricultura podendo, posteriormente, infiltrar-se nas águas superficiais e nos aquíferos (12).

De modo ilustrativo, apresenta-se o estudo realizado por Letsinger *et al.* (17) estuário de Humber (Reino Unido), no qual se detetaram fármacos em 58-97% das amostras de água recolhidas. O fármaco em maior concentração foi o ibuprofeno, seguido do paracetamol, diclofenac, trimetoprim e citalopram. Este perfil pode ser explicado pelos respetivos valores de pK_a e do pH da água marinha (pH \approx 8).

Outro fator importante na ocorrência de fármacos nas águas é a biodegradação, aeróbica e anaeróbica, uma vez que auxilia a remoção dos fármacos da fase aquosa. Ocasionalmente, os metabolitos na forma conjugada podem ser clivados nas ETARs, resultando na libertação de fármaco inalterado. Temos como exemplo, o observado com

o 17 α -etinilestradiol, carbamazepina, atenolol, metoprolol, trimetoprim e diclofenac (remoção menor a 10% para a maioria e cerca de 10–39% para o diclofenac) (12).

Os fármacos que não foram eliminados nas ETARs irão ser libertados nos ecossistemas aquáticos, nomeadamente nos marinhos (13), como estuários e zonas costeiras (18). Embora as concentrações de fármacos no meio aquático sejam na ordem de ng/L, estes compostos tornam-se potencialmente tóxicos para os organismos aquáticos (19). Há muitos estudos publicados que demonstram o efeito dos fármacos em vertebrados como os peixes, e existe evidência dos efeitos diretos que os fármacos têm em espécies de invertebrados, como moluscos bivalves (19).

2 Moluscos bivalves

2.1 Definição

Os moluscos pertencem ao Reino *Animalia* e ao Filo *Mollusca*, o que significa que possuem um corpo mole que está parcial ou totalmente encapsulado por um exoesqueleto, constituído por uma concha de carbonato de cálcio (20). Do Filo *Mollusca* destaca-se a Classe *Bivalvia*, que possui a característica adicional do seu exoesqueleto ser constituído por duas conchas calcárias, com tamanho variável entre 2 e 200 mm (21).

A vida dos moluscos bivalves começa num ovo após fertilização do óvulo e meiose pós-zigótica. Após replicações sucessivas, tornam-se embriões e posteriormente larvas. As larvas já possuem concha e conseguem nadar. Quando as larvas estão maduras, entram em metamorfose mudando para seres sedentários que habitam em zonas bentónicas. Os bivalves juvenis e adultos continuam a crescer mas o seu crescimento é influenciado pelo clima e a localização nas zonas infralitoral e mediolitoral (Figura 2) (22,23).



Figura 2. Zonagem dos andares supra, médio e infralitoral com base no hidrodinamismo. Adaptado de Saldanha L. Fauna Submarina Atlântica. 3ª Edição. Francisco Lyon de Castro, editor. Mem-Martins: Publicações Europa-América, Lda.; 1997. 16, 197–209 p.

Estes animais têm como habitat águas marinhas, salobras e doces (21). Os mexilhões, por exemplo, vivem em águas marinhas, em zonas costeiras de substrato duro até 8 metros de profundidade. Conseguem viver em águas poluídas, como nas áreas portuárias, nos cascos dos navios, boias e nos cais (23,24). Outros bivalves, como as ostras e amêijoas, vivem nos fundos arenosos de rias e estuários (23).

Em Portugal, as áreas onde os moluscos bivalves são mais estudados são as que possuem as características mencionadas anteriormente, nomeadamente o Estuário do Tejo, Estuário do Sado, Ria Formosa e Ria de Aveiro (6,25,26).

2.2 Características

Os moluscos bivalves alimentam-se do fitoplâncton suspenso na água e, no caso dos bivalves que vivem subterrados, da matéria orgânica presente no sedimento, como detritos de plantas, bactérias e algas (24). A alimentação efetua-se através da capacidade filtrante dos bivalves, uma vez que as brânquias têm funções respiratória e digestiva (22). As brânquias possuem uma mucosa que captura o plâncton e cílios que provocam uma corrente de água e a subsequente entrada de água pelo sifão inalante e, depois de passar na faringe, é encaminhada para a cavidade atrial e de seguida, expelida pelo sifão exalante (22,27).

A capacidade filtrante de cada espécie depende do peso e do comprimento do bivalve (28). A taxa média de filtração dos mexilhões é de 1,8 litros de água por hora e a máxima é de 2,6 litros por hora (29,30). As amêijoas podem filtrar até 5 litros de água por hora (31).

Este modo de alimentação permite que os bivalves sejam suscetíveis a contaminação por parte de partículas suspensas na água, sejam estas metais pesados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, pesticidas, fármacos ou outras substâncias potencialmente tóxicas, como os desreguladores endócrinos (24,32).

No caso dos bivalves que vivem em substrato duro, a principal preocupação são os fármacos que fiquem dissolvidos ou suspensos na água, como os AINEs. Como documentado por Mezzelani *et al.* (33) que, no período de 2014 a 2017, detetaram diclofenac em mexilhões, no intervalo de concentrações de 1,40 a 171,1 ng/g (massa seca), ibuprofeno nas concentrações de 8 a 140 ng/g (massa seca) e nimesulida com valores entre 2 e 80 ng/g (massa seca).

No entanto, em bivalves que vivem nos fundos arenosos, estes podem ser contaminados quer com fármacos suspensos na água, quer com os fármacos lipofílicos adsorvidos no sedimento. Como mostra o estudo de Zhang *et al* (34), no qual detetaram compostos estrogénicos, nomeadamente estradiol e etinilestradiol em amêijoas, nas concentrações de 3,62 e 3,42 ng/g, e no sedimento onde estas habitavam, nas concentrações de 2,68 a 3,72 ng/g (peso seco) e 1,93 a 2,48 ng/g (peso seco), respetivamente.

2.3 Consumo

Em Portugal, os moluscos bivalves são consumidos com elevada frequência, havendo uma maior procura no período do verão (35).

Em 2020, foram capturadas 16.031 toneladas de moluscos, o que corresponde a 65.806.000 €. Entre os bivalves mais consumidos, destacam-se o berbigão, a amêijoa, o mexilhão, as navalhas e as ostras (Tabela 1) (6,35,36).

Tabela 1. Principais moluscos capturados em Portugal durante o ano 2020. Adaptado de Direção-Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos. Estatísticas da Pesca - 2020. 2021st ed. Instituto Nacional de Estatística I.P., editor. Lisboa; 2021. 55 p. (36)

| Principais espécies | Portugal | |
|---------------------|-------------------|---------------------------|
| | Massa (toneladas) | Preço (milhares de euros) |
| Moluscos | 16 031 | 65 806 |
| Amêijoa | 1 016 | 2 938 |
| Berbigão | 3 302 | 3 912 |
| Conquilha | 811 | 2 289 |
| Longueirão | 265 | 1 000 |
| Mexilhão | 31 | 46 |
| Ostra | 75 | 79 |

A aquacultura dos bivalves tem uma elevada importância socioeconómica em Portugal, pelo que se torna necessário conhecer os possíveis contaminantes destes animais e o seu impacto na saúde humana.

3 Materiais e Métodos

3.1 Metodologia

Para a realização desta monografia foi efetuada uma pesquisa bibliográfica entre janeiro e agosto de 2021 com recurso a várias bases de dados, como o PubMed, ScienceDirect, Elsevier, ResearchGate e ainda o motor de busca Google Scholar, com recurso das seguintes palavras-chave: “*drug occurrence*”, “*pharmaceuticals*”, “*molluscs*” e “*bivalves*”. Selecionaram-se os artigos com enfoque nos estudos de ocorrência nacionais e internacionais de fármacos em diversas espécies de bivalves.

Os critérios de inclusão dos casos de estudos foram a espécie de bivalve ser encontrada em Portugal e o local de colheita ser nas zonas costeiras europeias: A exceção é amêijoia *Corbicula fluminea*, que embora seja uma espécie dominante em Portugal, ela é uma amêijoia de água doce e pouco estudada em Portugal, sendo necessário recorrer aos estudos realizados nos rios americanos.

As concentrações de fármacos nos bivalves nos vários estudos de ocorrência foram obtidas de trabalho de campo onde se analisaram os bivalves colhidos nos respetivos habitats ou adquiridos em mercados locais.

Os casos de estudo foram organizados em função da classe farmacoterapêutica dos fármacos detetados, listando-os por ordem dos bivalves mais relevantes como sentinelas ambientais (mexilhão – amêijoia – ostra), seguindo geralmente uma ordem cronológica.

3.2 Bivalves selecionados nos casos de estudo

O critério de seleção das espécies de moluscos apresentadas nos casos de estudo foi o habitat, nomeadamente, os moluscos que habitam nas zonas costeiras de Portugal, como espécie nativa ou espécie invasora.

Das espécies nativas são exemplo duas espécies de mexilhão, do género *Mytilus*, *M. galloprovincialis* (Lamarck, 1819), nome comum mexilhão-do-mediterrâneo (37), e *M. edulis* (Linnaeus, 1758), nome comum mexilhão (38) (Figura 3).



Figura 3. Exemplos de *Mytilus galloprovincialis* (esquerda) e *Mytilus edulis* (direita).

Ambas as espécies vivem em zonas costeiras da Europa com substrato duro, em zonas resguardadas como portos e estuários (39). Em Portugal é possível observar *M. galloprovincialis* ao longo de toda a costa, enquanto o *M. edulis* se encontra principalmente no Estuário do Tejo, no Estuário do Sado, na costa de Setúbal e na Ria Formosa (40,41).

Os mexilhões alimentam-se de fitoplâncton e detritos suspensos na água que os rodeia (39,42).

Outra espécie indígena é a *Chamelea gallina*, ou vulgo Pé-de-burrinho, uma amêijoia de água salgada que possui em média 2,5 a 3,5 cm de comprimento, podendo chegar a um máximo de 5 cm (Figura 4) (23,43,44). Esta amêijoia alimenta-se das partículas em suspensão como, por exemplo, algas e bactérias, assim como também digere pequenas partículas de detritos (44).

O seu habitat é habitualmente em fundos arenosos, entre 5 a 20 metros de profundidade, tendo já sido encontrada a cerca de 400 metros de profundidade (23). Esta espécie pode ser encontrada ao longo das costas orientais do Atlântico, desde a Noruega, ilhas britânicas, Portugal, Marrocos e até às ilhas da Madeira e das Canárias. Encontra-se também nos mares Mediterrâneo, Negro e Adriático (44).



Figura 4. Exemplos de *Chamelea gallina*.

Das espécies introduzidas, é exemplo a *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850), nome comum amêijoja japonesa, que é um bivalve que mede em média 5 cm de comprimento, podendo atingir os 8 cm (45,46) (Figura 5).



Figura 5. Exemplos de *Ruditapes philippinarum* (46)

O seu habitat é o solo das lagoas costeiras, constituído por areia, lodo ou argila rígida (46). É nativa das regiões Sudoeste Asiático e Indo-Pacífico e encontra-se presente em países como Filipinas, China e Japão. Foi introduzida em Portugal através da aquacultura e agora é considerada uma espécie instalada que está presente na Ria de Aveiro, no estuário do Tejo e na Ria Formosa (47).

Alimentam-se de plâncton e microrganismos suspensos na água e presentes no sedimento (31,46). Estes bivalves apresentam um elevado potencial para bioacumulação (31).

Outro exemplo de uma espécie introduzida é a *Corbicula fluminea* (O. F. Müller, 1774), nome comum amêijoa-asiática, que é um bivalve de água doce que pode atingir os 5 cm de comprimento (48,49) (Figura 6).



Figura 6. Exemplar de *Corbicula fluminea* (49).

É uma espécie originária da ásia e atualmente distribui-se pela Europa, nordeste asiático (exceto China), leste do Pacífico, América do Norte e oceano Atlântico ocidental (49,50). Em Portugal, já foi observada no Rio Sorraia, na zona de Mora, na albufeira da Barragem do Alqueva e ao longo de todo o Rio Guadiana (49).

A *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) é igualmente uma espécie introduzida. Este bivalve tem como nome comum ostra-gigante (51) uma vez que o seu tamanho varia normalmente entre 8 e 15 cm, mas que pode atingir um máximo 30 cm de comprimento (52) (Figura 7).

C. gigas é espécie originária do Japão e foi introduzida em Portugal em 1700 para aquacultura e poderá também ter surgido por transporte marítimo, por fixação aos cascos dos navios (47). O seu habitat de preferência são solos de substrato duro, fixando-se a rochas, no entanto também podem ser encontradas em solos constituídos por areia e lodo (52).

As ostras-gigantes alimentam-se de bactérias, protozoários, diatomáceas, larvas de outros invertebrados e detritos, através da filtração da água (53).



Figura 7. Exemplos de *Crassostrea gigas*.

3.3 Locais de colheita selecionados

Os casos de estudo relativos à contaminação de moluscos bivalves por fármacos abordados decorrem em diferentes zonas costeiras do mundo, dando principal foco às europeias.

4 Casos de estudo

Os seguintes casos de estudo abordam a contaminação de mexilhões do género *Mytilus spp.*, amêijoas *Chamelea gallina*, *Ruditapes philippinarum*. e *Corbicula fluminea*, assim como em ostras do género *Crassostrea spp.* ilustrando as concentrações dos fármacos encontradas nestes moluscos.

São mencionados também estudos de exposição *in vitro* para estudar o impacto que estes fármacos têm nos moluscos bivalves.

4.1 Nota introdutória

Os casos de estudo relatam casos de ocorrência de fármacos em moluscos bivalves de locais de produção para consumo humano e de moluscos em zonas não protegidas e, por isso, com maiores concentrações de contaminantes.

4.2 Antibióticos

McEneff *et al.* (53) adquiriram mexilhões das espécies *M. galloprovincialis* e *M. edulis* de uma zona de produção de moluscos e colocaram-nos em 3 locais ao longo da costa irlandesa, dois deles próximos de ETARs de tratamento secundário. Foi detetado trimetoprim nos mexilhões, nos meses de outubro e novembro, nas concentrações de 9,22 ng/g e 7,28 ng/g (massa seca), respetivamente. As concentrações mencionadas anteriormente não ultrapassam o valor máximo de resíduos (MRL) nos alimentos, 50 ng/g, o que significa que estes bivalves, apesar de contaminados, encontram-se dentro do intervalo de segurança para consumo humano (54). Estes valores podem ser justificados com o facto da função básica do trimetoprim ter um grau de ionização de 13% a pH marinho, enquanto a função ácida está na forma não ionizada. O que significa que 87% destas moléculas estão na forma neutra e, por isso, aptas a atravessar as membranas fosfolipídicas das células dos moluscos.

Outro antibiótico detetado em *M. galloprovincialis* foi a azitromicina, na concentração de 13,3 ng/g (massa seca). Estes mexilhões foram colhidos no delta do rio Pó, em Itália, que é uma das melhores zonas de produção de moluscos na Europa (55).

Amostras colhidas no estuário do Tejo continham azitromicina na concentração de 11,8 ng/g (massa seca). Esta zona encontra-se contaminada por fármacos pela eliminação indevida por parte da indústria, pelo uso na agricultura e pelo uso humano seja em ambulatório ou em ambiente hospitalar da Área Metropolitana de Lisboa (55). Esta contaminação é preocupante uma vez que o estuário do Tejo está indicado como uma zona de produção de bivalves, inclusive de mexilhões *Mytilus spp.* (56).

Em 2015, já tinha sido reportado a presença de azitromicina em exemplares de *M. galloprovincialis*, *C. gallina* e *C. gigas* capturados no Delta do Ebro, em Espanha, uma zona de cultivo de bivalves, na concentração de 2,9 ng/g, 1,2 ng/g e 3,0 ng/g (massa seca), respetivamente (57).

Como não está definido um MRL para a azitromicina, não será possível interpretar se estas concentrações estarão ou não dentro do intervalo aceitável de segurança para consumo humano (54,58).

4.3 Antiepiléticos e anticonvulsivantes

Mezzelani *et al.* (33) estudaram a ocorrência de carbamazepina nos mexilhões-do-mediterrâneo dos viveiros no mar Adriático, entre julho de 2014 e julho de 2017. Este fármaco foi detetado em 95% das espécies, sendo um dos fármacos mais abundantes com concentrações a variar entre os 35 ng/g e 280 ng/g (massa seca).

Entre maio de 2011 e abril de 2012, McEneff *et al.* (53) estudaram a exposição à carbamazepina dos mexilhões das espécies *M. galloprovincialis* e *M. edulis* de 3 locais da costa irlandesa. Carbamazepina foi detetada nos tecidos dos mexilhões, no entanto com valores abaixo do limite de quantificação.

Este mesmo fármaco foi detetado em exemplares de *C. fluminea*, colhidas de um efluente de um hospital psiquiátrico, em França, em 2016. A sua concentração variou entre 2,0 e 2,7 ng/g (59).

Nos Estados Unidos da América (EUA), verificou-se também a presença de carbamazepina em ameijôas-asiáticas, em zonas não protegidas. Em Pecan Creek, em 2019, estes bivalves continham concentrações entre 1,3 e 5,1 ng/g (60) e também em junho de 2013, no Rio Bosque, apresentavam concentrações de carbamazepina nos valores de 1,2 e 1,9 ng/g (61).

Este fármaco antiepilético e anticonvulsivante foi detetado em ostras-gigantes colhidas em Inglaterra, em 2019, na concentração de 0,06 ng/g (62). Em 2015, já se tinha documentado a presença carbamazepina em ostras-gigantes, capturadas no Delta do Ebro, Espanha, local de cultivo para consumo, na concentração de 2,1 ng/g (massa seca) (57).

4.3.1 Estudos *in vitro*

Oliveira et al. (63) quantificaram a presença de carbamazepina e calcularam os respetivos fatores de bioacumulação em exemplares *M. galloprovincialis* (Tabela 2) após exposição aguda (96 horas) e exposição crónica (28 dias).

Tabela 2. Concentrações e fatores de bioacumulação em mexilhões-do-mediterrâneo após exposição a carbamazepina (63).

| Concentração de exposição (µg/L) | Concentração de carbamazepina nos tecidos dos mexilhões (ng/g) | | Fator de bioacumulação | |
|----------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------|------------------------|-------------------|
| | Exposição aguda | Exposição crónica | Exposição aguda | Exposição crónica |
| Controlo | < LQ | < LQ | < LQ | < LQ |
| 0,3 | 0,53 | 0,6 | 1,9 | 2,2 |
| 3,0 | 4,2 | 4,9 | 1,9 | 1,5 |
| 6,0 | 9 | 10,9 | 1,5 | 1,8 |
| 9,0 | 12 | 13 | 1,4 | 1,5 |

Trombini *et al.* (64) estudaram a exposição de amêijoas japonesas a carbamazepina. A concentração de carbamazepina no meio hídrico era de 15,36 µg/L e as concentrações nas amêijoas no início e 24 horas após exposição foram de 16,04 ng/g e 14,69 ng/g, respetivamente.

Quando expostas às concentrações de carbamazepina de 0,3, 3,0 e 9,0 µg/L, as amêijoas japonesas apresentam concentrações de 0,034, 0,6 e 10,9 ng/g, respetivamente. Os fatores de bioacumulação calculados para as mesmas concentrações são de 0,11, 0,2 e 1,2, respetivamente (25).

Num estudo de exposição de amêijoas-asiáticas a várias concentrações de carbamazepina, não se verificaram alterações estatisticamente significativas nas concentrações mais baixas (0,5 e 5,0 ng/g). No entanto, a taxa de filtração do sifão diminuiu significativamente (3,45 mL/h) quando comparado com o controlo (19,27 mL/h), quando expostos à concentração de 50 mg/g (65). Com base neste estudo, podemos afirmar que as amêijoas-asiáticas, referidas no caso de estudo do Rio Bosque mencionado anteriormente, não sofreriam este efeito uma vez que a concentração mais elevada de carbamazepina a que foram expostas foi de 0,0939 ng/g (66). Para os restantes casos de estudo desta espécie, não podemos concluir o mesmo, porque os investigadores não quantificaram a concentração de carbamazepina na água dos locais de colheita, a que as amêijoas estariam expostas.

Di Poi *et al.* (67) calcularam os valores mínimos aos quais as ostras-gigantes teriam de estar expostas para causar efeitos durante o desenvolvimento embrionário e durante a metamorfose. A dose mínima necessária para comprometer o desenvolvimento embrionário era de 8,2 mg/L e para interferir com a metamorfose era necessário 14,22 mg/L de carbamazepina. Não podemos confirmar se as ostras-gigantes dos casos de estudo estariam ou não a ser afetadas desta forma, uma vez que nesses mesmos casos, não há quantificação da carbamazepina na água dos locais de colheita.

4.4 Antifúngico

Maskrey *et al.* (62) detetaram a presença do fármaco antifúngico, clotrimazol, em exemplares de *M. edulis* e *C. gigas* colhidos na costa inglesa. A sua concentração era de 0,22 ng/g e 0,56 ng/g, respetivamente. O clotrimazol é um fármaco lipofílico que se encontra na forma não ionizada a pH marinho (68), o que poderia significar que seria mais bioacumulado. Uma explicação para a baixa concentração detetada é o facto de ser lipofílico, o que significa que tem tendência a sedimentar e ser adsorvido pelo substrato em vez de estar suspenso na água. Para além disso, o clotrimazol é utilizado em terapêuticas de curta duração, ou seja, não sendo a sua quantidade significativa para contaminar os mexilhões que se alimentam da água, nem as ostras que se alimentam simultaneamente das partículas em suspensão e das partículas sedimentadas.

4.5 Anti-hipertensores

A contaminação dos mexilhões-do-mediterrâneo por valsartan foi estudada por Mezzelani *et al.* (33), desde julho de 2014 a julho de 2017, no mar Adriático, em zonas de cultivo para consumo. Este fármaco foi detetado na maioria das amostras, em concentrações entre 0,5 e 6,7 ng/g (massa seca).

Exemplares de *M. edulis* colhidos na costa inglesa apresentavam-se contaminados com propranolol cuja concentração era de 0,38 ng/g (62).

As funções básicas do valsartan e do propranolol estão totalmente ionizadas a pH marinho. No entanto, estes fármacos possuem log P de 3,68 e 3,03, respetivamente, o que significa que são lipofílicos e aptos a atravessar as membranas fosfolipídicas das células dos moluscos (69).

Amêijoas-asiáticas de água doce colhidas num efluente em França, apresentavam concentrações de beta-bloqueadores e antagonistas dos recetores de angiotensina II, nomeadamente, atenolol (64,1 ng/kg), bisoprolol (104,1 ng/kg), propranolol (63,1 ng/kg), sotalol (348,2 ng/kg) e losartan (38,5 ng/kg) (59).

O propranolol foi igualmente detetado em ostras-gigantes colhidas na costa inglesa com uma concentração de 0,32 ng/g (62)

4.5.1 Estudos *in vitro*

Capolupo *et al.* (70) estudaram a toxicidade de propranolol em mexilhões-do-mediterrâneo. Após 48 horas de exposição a 50 ng/mL de propranolol, verificaram que 18,5% dos embriões testados apresentaram um desenvolvimento larval anormal (70).

4.6 Anti-histamínicos

O anti-histamínico, difenidramina, foi detetado em mexilhões colhidos ao longo da costa inglesa, na concentração de 0,04 ng/g (62).

Este valor é justificado pelo grau de ionização da difenidramina, que a pH marinho apresenta um valor de 89% (71). A molécula, uma vez ionizada, torna-se polar e dificulta a entrada nas células através da membrana fosfolipídica.

A cetirizina foi detetada em amêijoas-asiáticas, num efluente em França, num local não protegido para consumo. A concentração máxima foi de 1,3 ng/g (59).

A difenidramina encontrava-se em exemplares de *C. fluminea* colhidos no Rio Bosque, EUA, em valores entre 1,6 e 2,8 ng/g (61). O grau de ionização da difenidramina no intervalo de pH previsto para o Rio Bosque (6,5 a 9) é de 0,996 a 0,43, respetivamente, o que significa que em momentos em que o rio tenha o pH mais básico é possível uma maior contaminação destas amêijoas (71,72). Também no Texas, em Pecan Creek, foi detetado difenidramina em concentrações entre 2,9 e 22,1 ng/g (60).

4.7 Anti-Inflamatórios Não Esteróides

Mezzelani *et al.* (1) descreveram a ocorrência de AINEs (diclofenac, ibuprofeno, cetoprofeno e nimesulida) em mexilhões-do-mediterrâneo da Baía de Portonovo (mar Adriático) entre julho e setembro de 2014. Tanto o ibuprofeno como o diclofenac só foram detetados nos mexilhões-do-mediterrâneo no mês de agosto. No entanto, a nimesulida foi detetada durante todo o período do ensaio (Tabela 3), o que levou os investigadores a considerar que este fármaco era persistente no ambiente.

Este mesmo estudo não detetou cetoprofeno nos organismos. Este facto pode ser explicado pelo grau de ionização do cetoprofeno a pH marinho, o qual o impede de atravessar as membranas fosfolipídicas das células do molusco.

Mezzelani *et al.* (33) continuaram a sua pesquisa no mar Adriático sobre a ocorrência dos mesmos fármacos (AINEs), entre julho de 2014 e julho de 2017, realizando colheitas em locais de cultivo de mexilhões. O diclofenac era o fármaco mais abundante nos *M. galloprovincialis*, com concentrações entre 1,40 ng/g e 171,1 ng/g (massa seca).

Tabela 3. Concentrações de AINEs nos mexilhões da Baía de Portonovo, 2014 (1)

| Fármaco | Concentração (ng/g massa seca) | | |
|------------|--------------------------------|-------------|---------------|
| | Julho 2014 | Agosto 2014 | Setembro 2014 |
| Diclofenac | < LD | 16,1 ± 14,7 | < LD |
| Ibuprofeno | < LD | 9,39 ± 0,59 | < LD |
| Nimesulida | 6,04 ± 10,47 | 4,18 ± 2,54 | 2,99 ± 5,18 |

Igualmente no mar Adriático, Capolupo *et al.*, 2017 (32) transplantaram mexilhões-do-mediterrâneo para 6 diferentes locais não protegidos da lagoa Pialassa dei Piomboni. Após 28 dias de exposição *in situ*, colheram-nos e analisaram-nos, tendo sido detetado diclofenac no intervalo 2,1 ng/g a 4,6 ng/g peso fresco.

Cunha *et al.* (5) também quantificaram o diclofenac em mexilhões da espécies *M. galloprovincialis* e *M. edulis* recolhidos em 8 locais da costa portuguesa (Viana do Castelo, Matosinhos, Aveiro, Peniche, Algés, Costa da Caparica, Aljezur e Faro), a 185 quilómetros de distância da costa, entre janeiro e outubro de 2015. Todas estas localizações estão definidas como zonas de produção de mexilhões para consumo (56). O diclofenac foi quantificado nos mexilhões capturados em 7 destes 8 locais, com concentrações entre os 0,5 ng/g e 4,5 ng/g (massa seca), sendo que as concentrações mais elevadas (4,5 ng/g e 4,0 ng/g) foram encontradas em Matosinhos e Costa da Caparica, respetivamente. Os autores justificaram estes valores devido ao facto destes pontos de amostragem se encontrarem próximos das cidades com maior densidade populacional de Portugal, Porto e Lisboa respetivamente.

Du *et al.* (61) identificaram a presença de celecoxib e diclofenac em amêijoas-asiáticas colhidas no Rio Bosque, EUA. As concentrações de celecoxib variaram entre 7,9 e 16 ng/g e as concentrações de diclofenac encontram-se entre 18 e 33 ng/g.

A função ácida do diclofenac está completamente ionizada a pH marinho, no entanto a função básica, nesse mesmo pH, está sob a forma neutra. O que significa que o diclofenac é um fármaco com uma função polar e que, por isso, permanece em suspensão na água, e com uma função apolar lipofílica que permite a entrada nas células dos moluscos.

Existe MRL para o diclofenac no entanto não está definido para os bivalves, pelo que não se pode garantir que estes bivalves estejam em conformidade para serem consumidos.

4.7.1 Estudos *in vitro*

Mezzelani *et al.* (73) quantificaram a bioacumulação de diclofenac e ibuprofeno em mexilhões-do-mediterrâneo. Após 14, 30 e 60 dias de exposição, os valores de bioacumulação de diclofenac são de 1,63, 3,63 e 2,25 ng/g e os valores de concentração de ibuprofeno são de 25,6, 24,6 e 45,1 ng/g, respetivamente. Os investigadores classificaram a exposição a diclofenac como um contaminante de baixo perigo enquanto a exposição a ibuprofeno como um perigo intermédio.

O desenvolvimento larval dos exemplares de *M. galloprovincialis* foi afetado em cerca de 28%, comparativamente ao controlo, quando expostos a 0,01 µg/L de diclofenac. Após exposições a concentrações de diclofenac entre 0,1 e 100 µg/L, verificou-se que apenas 50% das larvas se desenvolveram normalmente e que 20 a 40% das conchas apresentavam deformações nas linhas da margem dorsal (2).

Balbi *et al.* (74) estudaram o impacte que o diclofenac tem no desenvolvimento larval dos mexilhões-do-mediterrâneo. No intervalo de concentrações de 0,1 e 100 µg/L, detetou-se que menos de 50% dos exemplares analisados tiveram um desenvolvimento larval normal.

A exposição ao ibuprofeno provocou uma diminuição no desenvolvimento embrionário nos mexilhões em 22% e 25% após exposição a concentrações de 100 e 1000 µg/L, respetivamente. Foram detetadas má-formações nas zonas convexas de dobradiça das conchas de 10% de todos os embriões (2).

Não é possível afirmar que nos casos de estudo mencionados anteriormente, os mexilhões pudessem ter estes atrasos no desenvolvimento larval ou com má-formações, uma vez que nesses estudos, não há quantificação destes fármacos na água dos locais de colheita.

4.8 Estrogénios e Progestagénios

Caban *et al.* (75) analisaram exemplares de *M. edulis* da Baía de Gdańsk, Polónia, uma zona poluída que não é utilizada para produção de bivalves. A concentração de etinilestradiol detetada nestes mexilhões foi de 310 ng/g (massa seca).

Pojana *et al.* (76) mediram, durante um período de um ano, as concentrações destes fármacos na água, no sedimento e em exemplares de *M. galloprovincialis* da Lagoa de Veneza, Itália. As concentrações variam conforme a altura do ano e o local de colheita, no entanto todos eles são zonas poluídas impróprias para produção. O intervalo de concentrações de estradiol na água é de 1,0 a 175 ng/L e as concentrações de etinilestradiol na água variam entre 0,8 e 34 ng/L. As concentrações de etinilestradiol no sedimento variam entre 2,0 e 41 ng/g (massa seca). Nos mexilhões, detetaram concentrações de etinilestradiol entre 3 e 38 ng/g (massa seca).

Chiu *et al.* (77) mediram a concentração de compostos estrogénicos em exemplares de *M. galloprovincialis*, transplantados para 5 locais habitualmente poluídos, e impróprios para cultivo, ao longo da costa chinesa. As concentrações de estradiol em mexilhões-do-mediterrâneo variaram entre 82,9 e cerca de 193,3 ng/g (massa seca) e as concentrações de etinilestradiol variaram entre cerca de 180 e 196,7 ng/g (massa seca).

No estuário do Tejo, uma zona de produção de mexilhões, a hormona esteroide levonorgestrel foi detetada em mexilhões, em concentrações que variaram até 15,0 ng/g massa seca (55).

Zhang *et al.* (34) quantificaram a contaminação dos sedimentos, das águas e das amêijoas com 17β -estradiol e 17α -etinilestradiol, na Lagoa Yundang, China, uma zona habitualmente poluída. Os resultados das concentrações da água superficial e do sedimento referem-se a um dos locais de colheita, que se encontra num afluente da ETAR de Xiamen (Tabela 4).

Tabela 4. Concentrações de estradiol e etinilestradiol na Lagoa de Yundang (34)

| Fármaco | Concentração | | |
|-----------------|----------------------------|--------------------------------|------------------------------------------------------|
| | Água Superficial (ng/L) | Sedimento (ng/g massa seca) | <i>R. philippinarum</i> (ng/g peso em lípidos) |
| Estradiol | 1,31 | 3,71 | 3,62 |
| Etinilestradiol | 0,43 | 2,48 | 3,42 |

Estas hormonas, tal como o clotrimazol mencionado anteriormente, são lipofílicas e encontram-se na forma não ionizada a pH marinho, e por isso terão uma maior tendência a sedimentar do que a permanecer suspensas na água. No entanto, ao contrário do clotrimazol, este grupo de substâncias ativas são largamente utilizadas pela população (utilização crónica) e, por isso, haverá mais moléculas disponíveis em suspensão para os mexilhões captarem juntamente com a água e o seu alimento.

4.8.1 Estudos *in vitro*

Capolupo *et al.* (70) estudaram o efeito que etinilestradiol tem na fertilização dos gâmetas e no desenvolvimento larval de *M. galloprovincialis*. Quando expostos a 500 ng/L de etinilestradiol, a fertilização reduziu 24% face ao controlo. Os níveis de desenvolvimento larval normal reduziram 19,9, 29,5 e 32,0% quando houve exposição com concentrações de 5, 50 e 500 ng/L de etinilestradiol, respetivamente.

Com base neste estudo, podemos afirmar que os mexilhões-do-mediterrâneo analisados no caso de estudo de Pojana *et al.* (76), quando expostos a concentrações até 34 ng/L de etinilestradiol, estariam em condições que permitiriam comprometer o desenvolvimento larval dos novos seres vivos.

4.9 Psicofármacos

A paroxetina (antidepressor) e o lormetazepam (ansiolítico, sedativo e hipnótico) foram encontrados em exemplares de *M. galloprovincialis* (33). O estudo decorreu durante três anos (julho 2014 - julho 2017) em três locais de cultivo de bivalves do mar Adriático. As concentrações médias de paroxetina variaram entre 2 ng/g e 16,7 ng/g (massa seca), havendo um pico nos meses de julho de 2016 e 2017, com valores de 30 ng/g e 49,9 ng/g (massa seca). As concentrações médias de lormetazepam variaram entre 0,4 ng/g e 2,4 ng/g (massa seca). No entanto, durante o ano de 2016, verificou-se um aumento significativo das concentrações desta substância nos mexilhões. Em maio detetou-se concentrações de lormetazepam nos valores de 104,8 e 288 ng/g, em outubro de 207,6 e 439,5 ng/g e em dezembro de 137,5 e 235,2 ng/g.

Exemplares de *M. edulis* colhidos na costa inglesa apresentavam-se contaminados por antidepressores. Os mexilhões continham amitriptilina (1,09 ng/g), citalopram (0,29 ng/g) e o seu principal metabolito, desmetilcitalopram (0,08 ng/g), fluoxetina (0,10 ng/g), sertralina (6,12 ng/g) e o seu principal metabolito, norsertralina (4,41 ng/g), e venlafaxina (0,07 ng/g) (62).

A sertralina também foi detetada na concentração de 1,5 ng/g, em mexilhões-do-mediterrâneo colhidos na costa nordeste de Espanha, em Sant Feliu de Guíxols e no delta do rio Ebro, locais de cultivo para consumo, (78).

Nos mexilhões colhidos no delta do rio Pó, em Itália, que é uma zona habitualmente poluída, detetou-se 36,1 ng/g (massa seca) de venlafaxina e 20,6 ng/g (massa seca) de citalopram. Este local de colheita encontra-se próximo de uma ETAR, um hospital e alguns lares de idosos, sendo esta uma possível justificação para os elevados teores de fármacos antidepressivos (55).

Em 2015, já tinha sido detetada venlafaxina em mexilhões-do-mediterrâneo, assim como em pé-de-burrinho e ostras-gigantes, colhidos no Delta do Ebro. As concentrações registadas foram de 2,7 ng/g, 2,1 ng/g e 2,3 ng/g (massa seca), respetivamente (57).

Durante o mês de maio de 2011, Bebianno *et al.* (59) colheram exemplares de *C. fluminea* de um efluente do hospital psiquiátrico de Montpon, França. Vários ansiolíticos e antidepressores foram detetados nas amêijoas asiáticas (Tabela 5).

Tabela 5. Concentrações de psicofármacos em amêijoas-asiáticas (59)

| Ansiolíticos, sedativos e hipnóticos | | Antidepressores | |
|---------------------------------------------|-----------------------------|------------------------|-----------------------------|
| Fármaco | Concentração (ng/kg) | Fármaco | Concentração (ng/kg) |
| Alprazolam | até 12,2 | Citalopram | 25 - 56 |
| Diazepam | 34 - 101 | Amitriptilina | até 20,9 |
| Oxazepam | 6880 - 7434 | Fluoxetina | 13 - 34 |
| Hidroxizina | 5 - 18 | Sertralina | até 10 |

Em junho de 2013, durante 3 dias, foram colhidas amêijoas-asiáticas do Rio Bosque, no Texas, EUA. Nas amêijoas-asiáticas foram detetados vários fármacos, nomeadamente, sertralina (56 e 140 ng/g), o principal metabolito da sertralina ou desmetilsertralina (19 e 37 ng/g) e fluoxetina (10 e 12 ng/g) (61).

As amêijoas-asiáticas capturadas no Pecan Creek, EUA, apresentam concentrações de 97 a 341 ng/g de sertralina e de 45 a 160 ng/g de desmetilsetralina. As concentrações de fluoxetina e o seu principal metabolito, norfluoxetina, em exemplares de *C. fluminea* foram de 4,1 a 12 ng/g e de 0,7 a 2,7 ng/g, respetivamente (60).

Quando Maskrey *et al.* (62) analisaram exemplares de *C. gigas* colhidos na costa inglesa, estes continham amitriptilina (0,48 ng/g), citalopram (0,18 ng/g), desmetilcitalopram, principal metabolito de citalopram, (0,05 ng/g), fluoxetina (0,05 ng/g), sertralina (4,60 ng/g), norsetralina, principal metabolito de sertralina (2,75 ng/g) e venlafaxina (0,04 ng/g).

O antidepressivo citalopram também foi detetado em 2015, na concentração de 1,9 ng/g (massa seca) em ostras-gigantes capturadas no Delta do Ebro, zona importante de produção de marisco (57).

4.9.1 Estudos *in vitro*

Num estudo publicado em 2017, documentou-se a exposição *in vitro* de *M. galloprovincialis* a sertralina, durante 48 horas. Os investigadores detetaram que este

fármaco causa toxicidade no embrião, o que o impede de ter um desenvolvimento normal. A concentração mínima que causou efeito foi de 10 µg/L e a concentração que permitiu causar este efeito em metade da população estudada foi de 206,8 µg/L (79).

Di Poi *et al.* (67) calcularam os valores mínimos aos quais as ostras-gigantes teriam de estar expostas a velanfaxina para causar efeitos durante o desenvolvimento embrionário e durante a metamorfose. Definiram que a dose mínima necessária para comprometer o desenvolvimento embrionário normal era de 0,57 mg/L e que para interferir com a metamorfose era necessário apenas 0,09 mg/L de venlafaxina.

Para determinar os fatores de bioacumulação da fluoxetina, sertralina e norfluoxetina (principal produto de metabolismo da fluoxetina), Burket *et al.* (66) executaram um estudo de exposição *in vitro* a estes fármacos durante 8 dias. Os fatores de bioacumulação calculados para a fluoxetina e sertralina foram de 181 L/kg e de 537 L/kg, respectivamente, o que significa que ambos têm bioacumulação reduzida.

5 Impacte na saúde humana

Os moluscos bivalves são utilizados nas gastronomias portuguesa e mundial por serem alimentos ricos em proteínas e diversos minerais, enquanto possuem reduzidas quantidades de hidratos de carbono e de lípidos.

A possibilidade dos bivalves estarem contaminados com fármacos suscita a dúvida de qual o impacte que esta contaminação poderá ter na saúde humana e se este risco poderá superar o benefício nutricional destes alimentos.

Atualmente existe pouca informação acerca da exposição de humanos a fármacos presentes no ambiente, através do consumo de bivalves contaminados (80).

Nem todos os fármacos presentes nas águas residuais têm potencial para serem prejudiciais ou tóxicos para o ser humano. Os fármacos antibacterianos, antiparasitários, antifúngicos e antineoplásicos, devido ao seu modo de atuação, poderão ser os que mais afetam a saúde humana por exposição ambiental (80,81).

A presença de fármacos antimicrobianos em águas residuais, apesar de tratamento nas ETARs, contribui para o desenvolvimento de bactérias, fungos e vírus resistentes a estas terapêuticas. Consequentemente, podem também potenciar o aparecimento de microrganismos resistentes no ser humano por ingestão de bivalves contaminados (80–83).

Alguns dos exemplos vistos anteriormente foram os mexilhões e ostras-gigantes com vestígios de clotrimazol, com concentrações de 0,22 ng/g e 0,56 ng/g, respetivamente (62) e mexilhões contaminados com trimetoprim na concentração de 9,22 ng/g (53). Ainda que exista esta informação, não existe uma ligação direta comprovada entre a libertação de antibióticos no ambiente e os riscos para a saúde humana (80).

Com base nos valores de pescado capturado em 2020 (Tabela 1) e na população residente em Portugal no mesmo ano, 10.298.252 pessoas (84), calculou-se a quantidade média de bivalves consumidos por habitante. Tendo por base os valores de concentração de fármaco encontrado nos bivalves (devido à ausência de valores em Portugal no mesmo período de tempo, utilizou-se os valores de concentração máxima detetados como exemplo), fez-se uma estimativa do aporte teórico de fármaco ingerido por pessoa (Tabela 6) e por massa corporal, considerando um indivíduo de 70 kg. Nesta

tabela, não estão contabilizadas as amêijoas, apesar de serem os bivalves com maior captura e valor económico, por existirem variadas espécies de amêijoas e neste trabalho só estão mencionadas três, sendo uma delas de água doce, o que resultaria no valor teórico de aporte de fármaco muito inflacionado.

Tabela 6. Quantidade média teórica de fármaco disponível para ingestão por pessoa residente em Portugal no ano de 2020 e respetivo valor por kg de massa corporal.

| Molusco Bivalve | Fármaco | Concentração de fármaco no bivalve (ng/g) | Quantidade de bivalves capturada per capita (g) | Aporte de fármaco per capita (ng) | Aporte de fármaco per capita (ng/kg) |
|-----------------|---------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Mexilhões | Azitromicina | 13,3 | 3,01 | 40,0 | 0,57 |
| | Carbamazepina | 280 | | 843 | 12 |
| | Clotrimazol | 0,22 | | 0,66 | 0,009 |
| | Diclofenac | 171,1 | | 515 | 7,4 |
| | Difenidramina | 0,04 | | 0,12 | 0,0017 |
| | Ibuprofeno | 9,39 | | 28,3 | 0,40 |
| | Lormetazepam | 439,5 | | 1323 | 19 |
| | Nimesulida | 6,04 | | 19,3 | 0,28 |
| | Paroxetina | 49,9 | | 150 | 2,1 |
| | Propranolol | 0,38 | | 1,14 | 0,016 |
| | Sertralina | 6,12 | | 18,4 | 0,26 |
| | Trimetoprim | 9,22 | | 27,8 | 0,40 |
| Valsartan | 6,70 | 20,2 | 0,29 | | |
| Ostras | Carbamazepina | 2,10 | 7,28 | 15,3 | 0,22 |
| | Citalopram | 1,9 | | 13,8 | 0,20 |
| | Clotrimazol | 0,56 | | 4,08 | 0,058 |
| | Propranolol | 0,32 | | 2,33 | 0,033 |
| | Sertralina | 4,60 | | 33,5 | 0,48 |

Embora o aporte destes fármacos através dos bivalves seja diminuto face às concentrações usadas no decorrer da sua utilização em terapêutica, não podem ser

desvalorizados os potenciais efeitos tóxicos decorrentes da exposição crónica devido ao consumo frequente destes bivalves em determinados grupos populacionais ou de maior vulnerabilidade. Por outro lado, também não podemos eliminar a hipótese de efeitos agudos decorrentes do consumo pontual de moluscos bivalves contaminados com concentrações superiores, nomeadamente, os apanhados em zonas não protegidas e alvo de contaminação pelas ETAR.

A biodisponibilidade destes compostos nos bivalves pode ser influenciada pela confeção, uma vez que estes alimentos são consumidos depois de cozinhados e este processo poderá causar alterações na sua composição.

Existem fármacos que após a cozedura ainda se tornam mais concentrados, é o caso do diclofenac que sofreu um aumento de 1,3 µg/g para 37,6 µg/g e do gemfibrozil, fármaco antilipídico, que aumentou a concentração de 0,4 µg/g para 8,5 µg/g (30).

Pelo contrário, o trimetoprim é um fármaco que pode reduzir a sua concentração (de 21,7 µg/g para 16,7 µg/g) aquando a cozedura e portanto, mesmo presente nos alimentos, a sua concentração irá diminuir e causar menos efeitos nefastos (30,53).

Outra classe terapêutica que poderá afetar a saúde pública é a dos estrogénios e progestagénios. Apesar de não haver um consenso acerca da exposição ambiental a compostos que desregulam o sistema endócrino e não haver um MRL exigido (54), há dados que sugerem que doses reduzidas destes fármacos têm efeitos adversos na saúde humana (77). Estes podem ocorrer em diversos estádios da vida e poderão ter efeitos aditivos ou sinérgicos. No entanto, é difícil estabelecer uma relação causa-efeito (80).

Exemplos destes compostos são o 17β-estradiol e o 17α-etinilestradiol, encontrados em mexilhões, cujas concentrações máximas detetadas foram de 193,3 ng/g e 310 ng/g (75–77), e em amêijoas nas concentrações de 3,62 ng/g e 3,42 ng/g, respetivamente (34).

6 Conclusões

A presença de fármacos e seus metabolitos no meio hídrico constitui uma preocupação ambiental pela sua interferência nos ecossistemas e de forma direta ou indireta na saúde humana.

Uma classe de animais frequentemente afetada são os marinhos, como os moluscos bivalves, uma vez que se alimentam exclusivamente por filtração da água circundante, como os mexilhões, ou também das partículas que se encontram depositadas no sedimento como as amêijoas e ostras. Estas espécies vivem nos estuários dos rios e nas zonas costeiras, as quais são alvo do impacto dos efluentes das águas residuais, as quais ainda contêm concentrações significativas de alguns contaminantes, nomeadamente, fármacos. Os fármacos que têm maior tendência para persistirem no ambiente são os fármacos acídicos como os AINEs, como visto pelas concentrações de diclofenac nos mexilhões, no valor máximo de 171,1 ng/g e de ibuprofeno no valor de 9,39 ng/g. Também os fármacos lipofílicos, como os antiepiléticos, anticonvulsivantes e os estrogénios e progestagénios estão presentes nos mexilhões com concentrações na ordem dos 300 ng/g.

O principal efeito destes fármacos nos moluscos bivalves dá-se ao nível do desenvolvimento embrionário e larval. No entanto, estes dados de toxicidade resultam de estudos *in vitro*, os quais não refletem as concentrações reais a que os bivalves estão expostos no seu habitat e conseqüentemente estes efeitos estão sobrevalorizados. Relativamente ao potencial impacto na saúde humana, são necessários estudos de ocorrência de moluscos adquiridos em zonas protegidas, nomeadamente, nos viveiristas.

Quanto ao consumo de alimentos contaminados com fármacos, ou seja, o impacto na saúde humana, é um tema que necessita de mais investigação.

É necessário identificar melhor quais os fármacos mais prejudiciais, definir MRLs para mais fármacos e mais espécies, definir relações causais e, possivelmente, estudos de dose-resposta, quantificar a sua biodisponibilidade e estudar os efeitos que poderão ter num indivíduo que faça terapêutica com esse mesmo fármaco.

Referências Bibliográficas

1. Mezzelani M, Gorbi S, Da Ros Z, Fattorini D, D'Errico G, Milan M, et al. Ecotoxicological potential of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in marine organisms: Bioavailability, biomarkers and natural occurrence in *Mytilus galloprovincialis*. *Mar Environ Res*. 2016;121:31–9.
2. Fabbri R, Montagna M, Balbi T, Raffo E, Palumbo F, Canesi L. Adaptation of the bivalve embryotoxicity assay for the high throughput screening of emerging contaminants in *Mytilus galloprovincialis*. *Mar Environ Res*. 2014;99:1–8.
3. Sauvé S, Desrosiers M. A review of what is an emerging contaminant. *Chem Cent J*. 2014;1:8–15.
4. Infarmed I.P. Monitorização mensal do consumo de medicamentos no ambulatório - Março 2021. 2021
5. Cunha SC, Pena A, Fernandes JO. Mussels as bioindicators of diclofenac contamination in coastal environments. *Environ Pollut*. 2017;225:354–60.
6. Oliveira MCRM. Moluscos Bivalves em Portugal: Composição Química e Metais Contaminantes. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa; 2012.
7. EPAL. Ciclos da Água. Educação Ambiental. 2021 [cited 2021 May 17]. Available from: <https://www.epal.pt/EPAL/menu/epal/comunicação-ambiental/ciclo-da-água>
8. Ministério do Ambiente do Ordenamento Do Território e do Desenvolvimento Regional. Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de Agosto. *Diário da República*: 1.^a Série 2007 p. 5747–65.
9. Ambiente. Decreto-Lei n.º 152/2017, de 7 de dezembro. *Diário da República*: 1.^a série 2017 p. 6555–76.
10. Águas de Portugal. O ciclo urbano da água. 2015 [cited 2021 Mar 30]. Available from: <https://www.adp.pt/pt/atividade/o-que-fazemos/o-ciclo-urbano-da-agua/?id=28>
11. Marsalek J, Jiménez-Cisneros JE, Malmquist PA, Karamouz M, Goldenfum J, Chocat B. Urban Water Cycle Processes and Interactions. Technical Documents

- in Hydrology. 2006. 4 p.
12. Nikolaou A, Meric S, Fatta D. Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Anal Bioanal Chem.* 2007;387(4):1225–34.
 13. Claessens M, Vanhaecke L, Wille K, Janssen CR. Emerging contaminants in Belgian marine waters: Single toxicant and mixture risks of pharmaceuticals. *Mar Pollut Bull.* 2013;71(1–2):41–50.
 14. Campbell A, Hanania J, Stenhouse K, Suarez LV, Donev J. Energy Education - Volatile. 2020 [cited 2021 Mar 31]. Available from: <https://energyeducation.ca/encyclopedia/Volatile>
 15. Kalyva M. Fate of pharmaceuticals in the environment - A review. UMEA University; 2017.
 16. DrugBank. Gemfibrozil. 2021 [cited 2021 Mar 6]. Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01241>
 17. Letsinger S, Kay P, Rodríguez-Mozaz S, Villagrassa M, Barceló D, Rotchell JM. Spatial and temporal occurrence of pharmaceuticals in UK estuaries. *Sci Total Environ.* 2019;678:74–84.
 18. Luis LG, Barreto Â, Trindade T, Soares AMVM, Oliveira M. Effects of emerging contaminants on neurotransmission and biotransformation in marine organisms - An in vitro approach. *Mar Pollut Bull.* 2016;106(1–2):236–44.
 19. Damásio J, Barceló D, Brix R, Postigo C, Gros M, Petrovic M, et al. Are pharmaceuticals more harmful than other pollutants to aquatic invertebrate species: A hypothesis tested using multi-biomarker and multi-species responses in field collected and transplanted organisms. *Chemosphere.* 2011;85(10):1548–54.
 20. Luitfried Salvini-Plawen. Mollusk animal phylum. *Encyclopedia Britannica.* 2020. Available from: <https://www.britannica.com/animal/mollusk>
 21. WoRMS Editorial Board. Bivalvia. *World Register of Marine Species.* 2021. Available from: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=105>
 22. Helm M, Bourne N. Basic bivalve biology: taxonomy, anatomy and life history. In: *FAO Fisheries Technical Paper 471: Hatchery culture of bivalves.* 2004.

23. Saldanha L. Fauna Submarina Atlântica. 3^a Edição. Francisco Lyon de Castro, editor. Mem-Martins: Publicações Europa-América, Lda.; 1997. 16, 197–209 p.
24. Morton B. Bivalve. Encyclopedia Britannica. 2020 [cited 2021 Jul 29]. Available from: <https://www.britannica.com/animal/bivalve>
25. Almeida Â, Calisto V, Esteves VI, Schneider RJ, Soares AMVM, Figueira E, et al. Presence of the pharmaceutical drug carbamazepine in coastal systems: Effects on bivalves. *Aquat Toxicol*. 2014;156:74–87.
26. Silva LJG, Martins MC, Pereira AMPT, Meisel LM, Gonzalez-Rey M, Bebianno MJ, et al. Uptake, accumulation and metabolization of the antidepressant fluoxetine by *Mytilus galloprovincialis*. *Environ Pollut*. 2016;213:432–7.
27. EMEPC. Identificação das Espécies de Tunicados Não Indígenas da Costa Portuguesa. Projeto BioMar PT. 2016. Available from: <http://biomarpt.ipma.pt/pdfs/5638TUNICADOS.pdf>
28. Riisgård HU. On measurement of filtration rates in bivalves - The stony road to reliable data: Review and interpretation. *Mar Ecol Prog Ser*. 2001;211:275–91.
29. Monteiro LMPS. Estudo da eficácia da depuração na redução da contaminação bacteriológica do mexilhão (*Mytilus* spp.) e a sua viabilidade. Faculdade de Medicina da Universidade do Porto; 2004.
30. McEneff G, Barron L, Kelleher B, Paull B, Quinn B. The determination of pharmaceutical residues in cooked and uncooked marine bivalves using pressurised liquid extraction, solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2013;405(29):9509–21.
31. Silva S, Cravo A, Ferreira C, Correia C, Almeida CM. Biomarker Responses of the Clam *Ruditapes decussatus* Exposed to a Complex Mixture of Environmental Stressors under the Influence of an Urban Wastewater-Treatment Plant. *Environ Toxicol Chem*. 2021;40(1):272–283.
32. Capolupo M, Franzellitti S, Kiwan A, Valbonesi P, Dinelli E, Pignotti E, et al. A comprehensive evaluation of the environmental quality of a coastal lagoon (Ravenna, Italy): Integrating chemical and physiological analyses in mussels as a biomonitoring strategy. *Sci Total Environ*. 2017;598:146–59.
33. Mezzelani M, Fattorini D, Gorbi S, Nigro M, Regoli F. Human pharmaceuticals

- in marine mussels: Evidence of sneaky environmental hazard along Italian coasts. *Mar Environ Res.* 2020;162(August):105–37.
34. Zhang X, Gao Y, Li Q, Li G, Guo Q, Yan C. Estrogenic Compounds and Estrogenicity in Surface Water, Sediments, and Organisms from Yundang Lagoon in Xiamen, China. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2011;61(1):93–100.
 35. Autoridade de Segurança Alimentar e Económica. Conselhos sobre consumo de Marisco / Bivalves. Conselhos Práticos para os Consumidores. 2014 [cited 2021 May 27]. Available from: <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/conselhos-praticos-para-os-consumidores/conselhos-sobre-consumo-de-marisco--bivalves-.aspx>
 36. Direção-Geral de Recursos Naturais Segurança e Serviços Marítimos. Estatísticas da Pesca - 2020. Instituto Nacional de Estatística I.P., editor. Lisboa; 2021. 55 p.
 37. WoRMS Editorial Board. *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819). World Register of Marine Species. 2021 [cited 2021 Feb 6]. Available from: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=140481>
 38. WoRMS Editorial Board. *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758. World Register of Marine Species. 2021. Available from: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=140480>
 39. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819). Species Fact Sheets. 2021 [cited 2021 Feb 7]. Available from: <http://www.fao.org/fishery/species/3529/en>
 40. Naturdata. *Mytilus galloprovincialis*. 2018 [cited 2021 Sep 5]. Available from: <https://naturdata.com/especie/mytilus-galloprovincialis/6091/0/>
 41. Naturdata. *Mytilus edulis*. 2018 [cited 2021 Sep 5]. Available from: <https://naturdata.com/especie/mytilus-edulis/6092/0/>
 42. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758). Species Fact Sheets. 2016 [cited 2021 Feb 7]. Available from: <http://www.fao.org/fishery/species/2688/en>
 43. IPMA, SNMB. Lista de Espécies de Bivalves. 2018 [cited 2021 Apr 3]. p. 2. Available from: <https://www.ipma.pt/bin/docs/publicacoes/pescas.mar/lista->

especies-bivalves-062018.pdf

44. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758). Species Fact Sheets. 2021 [cited 2021 Apr 3]. Available from: <http://www.fao.org/fishery/species/2697/en>
45. WoRMS Editorial Board. *Ruditapes philippinarum* (A. Adams & Reeve, 1850). World Register of Marine Species. 2021 [cited 2021 Apr 5]. Available from: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=231750>
46. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850). Species Fact Sheets. 2021 [cited 2021 Apr 5]. Available from: <http://www.fao.org/fishery/species/3543/en>
47. EMEPC. Identificação das Espécies de Moluscos Não Indígenas da Costa Portuguesa. Proj BioMar PT. 2016;Curso nº11:135–61.
48. WoRMS Editorial Board. *Corbicula fluminea* (O. F. Müller, 1774). World Register of Marine Species. 2021 [cited 2021 Apr 12]. Available from: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=181580>
49. Naturdata. *Corbicula fluminea*. 2018 [cited 2021 Apr 12]. Available from: <https://naturdata.com/especie/corbicula-fluminea/6322/0/>
50. Integrated Taxonomic Information System. *Corbicula fluminea* (O. F. Müller, 1774). ITIS Report. 2021 [cited 2021 Apr 12]. Available from: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=81387#null
51. WoRMS Editorial Board. *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). World Register of Marine Species. 2021 [cited 2021 May 4]. Available from: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=140656>
52. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). Species Fact Sheets. 2021 [cited 2021 May 4]. Available from: <http://www.fao.org/fishery/species/3514/en>
53. McEneff G, Barron L, Kelleher B, Paull B, Quinn B. A year-long study of the spatial occurrence and relative distribution of pharmaceutical residues in sewage effluent, receiving marine waters and marine bivalves. *Sci Total Environ.* 2014;476–477:317–26.

54. Comissão Europeia. Regulamento (UE) N° 37/2010 da Comissão de 22 de Dezembro de 2009. Jornal Oficial da União Europeia Comissão Europeia; 2009 p. 25.
55. Álvarez-Muñoz D, Rodríguez-Mozaz S, Maulvault AL, Tediosi A, Fernández-Tejedor M, Van den Heuvel F, et al. Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in macroalgae, bivalves, and fish from coastal areas in Europe. Vol. 143, Environmental Research. 2015. p. 56–64.
56. IPMA. Zonas de Produção Moluscos Bivalves. Mapas de Zonas de Produção. 2021 [cited 2021 Aug 30]. Available from: <https://www.ipma.pt/pt/bivalves/zonas/>
57. Alvarez-Muñoz D, Huerta B, Fernandez-Tejedor M, Rodríguez-Mozaz S, Barceló D. Multi-residue method for the analysis of pharmaceuticals and some of their metabolites in bivalves. *Talanta*. 2015;136:174–82.
58. Habibi B, Ghorbel-Abid I, Lahsini R, Chehimi Ben Hassen D, Trabelsi-Ayadi M. Development and Validation of a Rapid HPLC Method for Multiresidue Determination of Erythromycin, Clarithromycin, and Azithromycin in aquaculture fish muscles. *Acta Chromatogr*. 2019;31(2):109–12.
59. Bebianno MJ, Sroda S, Gomes T, Chan P, Bonnafe E, Budzinski H, et al. Proteomic changes in *Corbicula fluminea* exposed to wastewater from a psychiatric hospital. *Environ Sci Pollut Res*. 2016;23(6):5046–55.
60. Burket SR, White M, Ramirez AJ, Stanley JK, Banks KE, Waller WT, et al. *Corbicula fluminea* rapidly accumulate pharmaceuticals from an effluent dependent urban stream. *Chemosphere*. 2019;224:873–83.
61. Du B, Haddad SP, Luek A, Scott WC, Saari GN, Kristofco LA, et al. Bioaccumulation and trophic dilution of human pharmaceuticals across trophic positions of an effluent-dependent wadeable stream. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2014;369(1656).
62. Maskrey BH, Dean K, Morrell N, Turner AD. A simple and rapid UHPLC-MS/MS method for the quantitation of pharmaceuticals and related compounds in mussels and oysters. *Environ Toxicol Chem*. 2021;
63. Oliveira P, Almeida Â, Calisto V, Esteves VI, Schneider RJ, Wrona FJ, et al.

- Physiological and biochemical alterations induced in the mussel *Mytilus galloprovincialis* after short and long-term exposure to carbamazepine. *Water Res.* 2017;117:102–14.
64. Trombini C, Hampel M, Blasco J. Assessing the effect of human pharmaceuticals (carbamazepine, diclofenac and ibuprofen) on the marine clam *Ruditapes philippinarum*: An integrative and multibiomarker approach. *Aquat Toxicol.* 2019;208:146–56.
 65. Chen H, Zha J, Liang X, Li J, Wang Z. Effects of the human antiepileptic drug carbamazepine on the behavior, biomarkers, and heat shock proteins in the Asian clam *Corbicula fluminea*. *Aquat Toxicol.* 2014;155:1–8.
 66. Burket SR, Wright M V., Baker LF, Chambliss CK, King RS, Matson CW, et al. Periphyton, bivalves and fish differentially accumulate select pharmaceuticals in effluent-dependent stream mesocosms. *Sci Total Environ.* 2020;745:140882.
 67. Di Poi C, Costil K, Bouchart V, Halm-Lemeille MP. Toxicity assessment of five emerging pollutants, alone and in binary or ternary mixtures, towards three aquatic organisms. *Environ Sci Pollut Res.* 2018;25(7):6122–34.
 68. DrugBank. Clotrimazole: Uses, Interactions, Mechanism of Action. 2005 [cited 2021 Sep 2]. Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00257>
 69. DrugBank. Valsartan: Uses, Interactions, Mechanism of Action. 2005 [cited 2021 Sep 2]. Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00177>
 70. Capolupo M, Díaz-Garduño B, Martín-Díaz ML. The impact of propranolol, 17 α -ethinylestradiol, and gemfibrozil on early life stages of marine organisms: effects and risk assessment. *Environ Sci Pollut Res.* 2018;25(32):32196–209.
 71. DrugBank. Diphenhydramine: Uses, Interactions and Mechanism of Action. 2005 [cited 2021 Sep 2]. Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01075>
 72. Mcfarland A, Adams T. Semiannual Water Quality Report for the Bosque River Watershed. *Texas Inst Appl Environ Res.* 2018;1803(June):23.
 73. Mezzelani M, Gorbi S, Fattorini D, D’Errico G, Consolandi G, Milan M, et al. Long-term exposure of *Mytilus galloprovincialis* to diclofenac, Ibuprofen and Ketoprofen: Insights into bioavailability, biomarkers and transcriptomic

- changes. *Chemosphere*. 2018;198:238–48.
74. Balbi T, Montagna M, Fabbri R, Carbone C, Franzellitti S, Fabbri E, et al. Diclofenac affects early embryo development in the marine bivalve *Mytilus galloprovincialis*. *Sci Total Environ*. 2018;642:601–9.
 75. Caban M, Szaniawska A, Stepnowski P. Screening of 17 α -ethynylestradiol and non-steroidal anti-inflammatory pharmaceuticals accumulation in *Mytilus edulis trossulus* (Gould, 1890) collected from the Gulf of Gdańsk. *Oceanol Hydrobiol Stud*. 2016;45(4):605–14.
 76. Pojana G, Gomiero A, Jonkers N, Marcomini A. Natural and synthetic endocrine disrupting compounds (EDCs) in water, sediment and biota of a coastal lagoon. *Environ Int*. 2007;33(7):929–36.
 77. Chiu JMY, Po BHK, Degger N, Tse A, Liu W, Zheng G, et al. Contamination and risk implications of endocrine disrupting chemicals along the coastline of China: A systematic study using mussels and semipermeable membrane devices. *Sci Total Environ*. 2018;624:1298–307.
 78. López-García E, Postigo C, López de Alda M. Psychoactive substances in mussels: Analysis and occurrence assessment. *Mar Pollut Bull*. 2019;146(April):985–92.
 79. Estévez-Calvar N, Canesi L, Montagna M, Faimali M, Piazza V, Garaventa F. Adverse effects of the SSRI antidepressant sertraline on early life stages of marine invertebrates. *Mar Environ Res*. 2017;128:88–97.
 80. Lockwood S, Saïdi N, Morgan VA. Options for a strategic approach to pharmaceuticals in the environment. European Commission; 2016. 52–67 p. Available from: https://ec.europa.eu/info/sites/info/files/study_report_public_consultation_pharmaceuticals_environment.pdf
 81. Cizmas L, Sharma VK, Gray CM, McDonald TJ. Pharmaceuticals and personal care products in waters: occurrence, toxicity, and risk. *Environ Chem Lett*. 2015;13(4):381–94.
 82. Cabello FC. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: A growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ*

- Microbiol. 2006;8(7):1137–44.
83. Heuer OE, Kruse H, Grave K, Collignon P, Karunasagar I, Angulo FJ. Human health consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture. *Clin Infect Dis.* 2009;49(8):1248–53.
 84. Instituto Nacional de Estatística. Portugal em números - 2020. Instituto Nacional de Estatística, editor. Lisboa, Portugal; 2021. 12 p.