

Toxicidade aguda em camundongos BALB/c expostos a efluentes de curtume

Dalilla Cristina Socorro de Lemos¹, Bianca Costa e Silva¹, Joyce Moreira de Souza¹, Wellington Alves Mizael da Silva¹, Dieferson da Costa Estrela¹, Raissa Ferreira de Oliveira¹, Abraão Tiago Batista Guimarães¹ & Guilherme Malafaia^{1,2}

RESUMO

Objetivou-se com o presente estudo determinar doses potencialmente letais de efluentes de curtume, por meio da indução de toxicidade aguda em camundongos da linhagem BALB/c, acompanhada de uma avaliação de parâmetros físicos (massa corpórea e massa relativa de distintos órgãos), bioquímicos e comportamentais. 24 fêmeas de camundongos BALB/c foram distribuídas em grupos que receberam, pela via intraperitoneal, duas doses fracionadas de efluentes de curtume (*wet blue*), diluídos em água, que totalizaram as seguintes doses: 11,25%, 22,5% e 45%. O grupo controle recebeu apenas soro fisiológico. Os encontrados neste estudo não apontam para qualquer alteração física na massa corpórea dos animais, tampouco nas massas relativas do fígado, baço, timo e rins. Além disso, nenhuma mudança comportamental pelo screening hipocrático foi observada nos animais, com exceção de um animal do grupo 45% que foi a óbito no 3º dia de avaliação, o que corresponde para essa dose uma concentração de efluente de curtume que mata 16,66% dos animais, não sendo possível calcular a DL50. Em relação aos parâmetros bioquímicos, foi observada uma diminuição nas concentrações séricas da enzima fosfatase alcalina nos animais que receberam efluentes de curtume, em relação ao grupo controle. Logo, conclui-se que efluentes de curtume do tipo *wet blue*, administrados intraperitonealmente, em fêmeas de camundongos BALB/c não causam sinais evidentes de toxicidade aguda nos animais. A DL16,16 foi obtida apenas para a maior dose de efluente pré-estabelecida (45%).

Palavras-chaves: Toxicologia. Modelos experimentais. Curtume. Camundongos.

Acute toxicity in BALB/c mice exposed to tannery effluents

ABSTRACT

The aim of the present study was to determine potentially lethal doses of tannery effluents, through acute toxicity induction in BALB/c mice, accompanied by an assessment of physical parameters (body mass and relative mass of different bodies), biochemical and behavioral. 24 female BALB/c mice were divided into groups receiving, by the intraperitoneal route two divided doses of the tannery effluent (*wet blue*), diluted in drinking water, which amounted to the following doses: 11.25%, 22.5% and 45%. The control group received only saline. Our data do not point to any physical change in the body mass of animals, nor the relative masses of the liver, spleen, thymus and kidneys. In addition, no behavioral change by screening hippocratic was observed in animals, except for an animal of the group 45% who died on the 3rd day of evaluation, corresponding to the dose one tannery effluent concentration that kills 16.66% of the animals, it is not possible to calculate the LD50. The biochemical parameters was observed a decrease in serum levels of the enzyme alkaline phosphatase in animals that receiving tannery effluent in comparison to control group. Therefore, we conclude that tannery effluents from *wet blue* type, administered intraperitoneally to female BALB/c mice do not cause overt signs of acute toxicity in animals. The DL16,16 was obtained only for the highest preset effluent dose (45%).

Keywords: Toxicology. Experimental models. Tannery. Mice.

Autor para correspondência: Guilherme Malafaia
Instituto Federal Goiano – Câmpus Urutaí, GO, Brasil.
E-mail: guilhermeifgoiano@gmail.com

Recebido em: 06 set. 2015

Aceito em: 21 nov. 2015

Editor responsável: Prof. Dr. Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes

¹Instituto Federal Goiano – Câmpus Urutaí, GO, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, Universidade Federal de Goiás, GO, Brasil.

INTRODUÇÃO

Um dos resíduos gerados pelas atividades industriais, refere-se ao efluente de curtume, gerado por indústrias de processamento do couro bovino. Embora essas atividades gerem lucros significativos, contribuindo para o desenvolvimento econômico e social de um país, estas têm sido alvo de preocupações, principalmente em função da grande produção de resíduos/efluentes ao longo do beneficiamento do couro bovino. Conforme discutido por Godecke et al. (2012), o processo de curtimento do couro requer diversos processos mecânicos e químicos de tratamento que resultam em grandes quantidade de resíduos com altas concentrações de matéria orgânica e variados produtos químicos potencialmente tóxicos.

Essa problemática é intensificada, principalmente quando se constata que mesmo após o tratamento recebido em uma estação de tratamento, podem ser encontrados nos efluentes consideráveis cargas orgânicas e inorgânicas, como ácidos, fenóis, sulfatos, sulfetos e, principalmente, elementos tóxicos como o cromo, o qual é utilizado durante o processo de curtimento (Batista & Alovisei, 2010).

Nesse sentido, com vistas a avaliar o impacto desses efluentes nos organismos, estudos toxicológicos já evidenciaram teratogenicidade em espécies de ouriço-do-mar, redução de crescimento de microalgas, bem como diferentes efeitos tóxicos dos efluentes de curtume em microcrustáceos (Oral et al., 2005). Contudo, os resultados advindos desses modelos experimentais, não podem ser extrapolados para os modelos mamíferos, os quais apresentam maior complexidade fisiológica e metabólica. Apesar disso, os estudos sobre efeitos da exposição de efluentes de curtume em modelos experimentais mamíferos são raros. Destacam-se apenas os trabalhos de Siqueira et al. (2011), Moysés et al. (2014) e mais recentemente o estudo de Silva et al. (2015), que utilizaram camundongos Swiss, ratos Wistar e camundongos isogênicos da linhagem C57Bl/6J, respectivamente.

O estudo de Siqueira et al. (2011) avaliou os efeitos da exposição dos animais à ingestão de 0,1% e 1% de efluente de curtume, diluídos em água, por um período de 21 dias. Já Moysés et al. (2014) estudaram ratos Wistar expostos à ingestão das concentrações de 0,1%, 1% e 5% de efluentes de curtume, também diluídos em água, por um período de 30 e 45 dias. Em ambos os estudos, o foco das avaliações foi neurocomportamental e não para a determinação de concentrações de efluentes de curtume que poderiam ser mais ou menos tóxicas aos animais. No estudo de Silva et al. (2015), por outro lado, objetivou-se determinar doses letais de efluentes de curtume em camundongos machos

e fêmeas da linhagem isogênica C57Bl/6J, caracterizando-se como único estudo desenvolvido até o presente momento que abordou essa temática à luz de avaliações de doses letais desses efluentes. Os autores verificaram que a dose de 25% de efluentes de curtume (diluída em água filtrada), administradas intraperitonealmente, mostrou-se inócua a fêmeas de camundongos C57Bl/6J e que doses de até 44% de efluentes de curtume, não foram capazes de ocasionar sinais de toxicidade aguda em camundongos machos da mesma linhagem.

Nesse sentido, nota-se um cenário propício e necessário para o desenvolvimento de novos estudos que avaliem os efeitos da exposição desses efluentes, haja vista que em muitas situações, os mesmos são descartados incorretamente no ambiente e populações são expostas ao risco de desenvolver diferentes consequências patológicas. A análise do desgaste à saúde de trabalhadores expostos a solventes orgânicos e metais pesados, ligados a efluentes ou resíduos sólidos de curtume, é um campo amplamente abordado pela toxicologia ocupacional (Shahzad et al., 2006; Salazar, 2008; Cuberos et al., 2009; Rumin et al., 2013) e, portanto, já foi demonstrado o nexo causal entre a exposição a efluentes de curtume e os diversos agravos à saúde. No entanto, existe uma carência de estudos em modelos animais que se dispuseram a investigar os mecanismos e os efeitos orgânicos desses efluentes sobre a homeostase do organismo, o que pode ser, por exemplo, importante passo para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas.

Nesse contexto, objetivou-se com o presente estudo determinar doses potencialmente letais de efluentes de curtume, por meio da indução de toxicidade aguda em camundongos da linhagem BALB/c. Além disso, buscou-se investigar os efeitos da exposição desses efluentes sobre parâmetros físicos (massa corpórea e massa relativa de distintos órgãos), bioquímicos e comportamentais.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo foram utilizadas fêmeas de camundongos da linhagem isogênica BALB/c oriundas de matrizes obtidas no Biotério do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública de Goiás (IPTSP) (Goiânia, GO, Brasil) e mantidas no Biotério do Laboratório de Pesquisas Biológicas do Instituto Federal Goiano – Câmpus Urutaí (Urutaí, GO, Brasil). Os animais foram submetidos a ciclo normal claro/escuro, sendo os alimentos e líquidos oferecidos ad libitum. Destaca-se que este trabalho foi consistente com os princípios éticos da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto Federal Goiano, GO, Brasil (protocolo n. 18/2014).

Adotou-se neste estudo as diretrizes estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2013), em consonância com a Organization for Economic Cooperation and Development (OECD, 2010), as quais preveem procedimentos específicos para estudos de toxicidade aguda. De acordo com a ANVISA (2013), os ensaios de toxicidade aguda são aqueles utilizados para avaliar a toxicidade produzida por substâncias teste quando administradas em uma ou mais doses durante um período não superior a 24 h,

seguido de observação dos animais por 14 dias após a administração.

Nesse sentido, 24 fêmeas de camundongos BALB/c, adultas (70-90 dias) foram inicialmente pesadas e distribuídas em 4 grupos experimentais distintos (n=6, por grupo), que receberam pela via intraperitoneal diferentes concentrações de efluentes de curtume do tipo wet blue, diluídas em água filtrada, em duas diferentes aplicações em um período inferior a 24 h, conforme pode ser observado na tabela a seguir:

Tabela 1. Demonstrativo das doses aplicadas, pela via intraperitoneal, de efluentes de curtume do tipo wet blue em fêmeas de camundongos BALB/c.

Grupos	1ª dose de efluente aplicada (%) ¹	2ª dose de efluente aplicada (%)	Dose efetiva de efluente aplicada (%)
Grupo controle	0,00	0,00	0,00
Grupo 11,25%	7,50	15,00	11,25
Grupo 22,5%	15,00	30,00	22,50
Grupo 45%	30,00	60,00	45,00

¹Os percentuais de efluentes de curtume foram aplicados de forma diluída em água filtrada e estéril.

Ressalta-se que foi administrada, em cada animal, injeção intraperitoneal de conteúdo de efluente de curtume, diluído em água, ou apenas soro fisiológico (nos animais do grupo controle), em um volume de 2 mL, conforme sugerido por Paiva et al. (2005). Os animais do grupo controle (0%)

receberam apenas soro fisiológico conforme utilizado por Silva et al. (2015).

O efluente de curtume utilizado neste estudo foi obtido de uma indústria curtumeira, localizada em Inhumas (GO, Brasil), cuja caracterização química e físico-química pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2. Caracterização do efluente bruto de curtume do tipo *wet blue* e da água filtrada utilizada na diluição dos resíduos*.

Atributos avaliados	Efluentes de curtume	Água filtrada	CONAMA*
pH a 25°C (UpH)	4,05	7,19	6,00-9,50
Cloretos (mg/L)	2.000,00	ND1	SR2
Sólidos dissolvidos totais (SDT) (mg/L)	37.380,00	30,00	SE
Sódio (mg/L)	9.690,00	5,01	SE
Zinco (mg/L)	0,30	1,06	0,18
Cálcio (mg/L)	601,20	4,00	SR
Chumbo (mg/L)	0,32	<0,50	0,50
Arsênio (mg/L)	<0,010	<0,010	0,010
Magnésio (mg/L)	364,80	1,21	SR
Cromo (mg/L)	859,00	<0,05	0,05
Cádmio (mg/L)	0,095	<0,001	0,001
Níquel (mg/L)	0,55	<0,025	0,025

A análise dos efluentes brutos de curtume e da água seguiu a metodologia preconizada pelo American Public Health Association (APHA, 2005). Todas as análises foram realizadas em laboratório comercial, localizado em Goiânia, GO, Brasil. () Valores máximos permitidos pela resolução nº 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) em seu Art. 15, que dispõe sobre a qualidade mínima da água Classe II. ND: atributo não determinado; SR: atributo sem referência.

A avaliação comportamental dos animais foi realizada pelo screening hipocrático (Malone & Robichaud, 1962) 4 h, 24 h, 48 h e 72 h após as aplicações das doses de efluentes de curtume e monitorados durante 14 dias, conforme preconizado pela ANVISA (2013). Por meio do

screening hipocrático foi possível ter uma estimativa geral da natureza toxicológica das concentrações aplicadas nos animais sobre o seu estado de consciência e disposição, atividade e coordenação do sistema motor, reflexos, atividades sobre o sistema nervoso central e sobre o sistema

nervoso autônomo. Foi previsto o cálculo da dose letal mediana (DL50), utilizando-se o método clássico de regressão linear (por meio do software ASSISTAT).

Ao final do experimento, os animais sobreviventes foram pesados novamente e na sequência, foram anestesiados com triibromoetanol (0,1 mL/0,8 mg) via intraperitoneal, para retirada de sangue pelo plexo ocular para posterior análise dos níveis sérios de albumina e da enzima fosfatase alcalina, consideradas biomarcadores de lesão hepática (Jesus et al., 2014). Em seguida, os animais foram eutanizados, via deslocamento cervical, tendo sido avaliadas as massas relativas dos fígado, baço, rins e timo. Ressalta-se que a massa relativa foi calculada a partir da razão órgão inteiro/massa corporal, conforme metodologia utilizada por Estrela et al. (2014).

Inicialmente, a normalidade de todos os dados foi avaliada pelos testes Anderson-Darling e Kolmogorov-Smirnov. Na sequência, para análise dos dados iniciais e finais de cada grupo experimental aplicou-se a análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas. Já os dados referentes às massas iniciais e finais de todos os grupos experimentais, assim como a massa relativa dos órgãos e as concentrações sérias de fosfatase alcalina e albumina foram comparados entre os grupos experimentais, aplicando-se análise de variância simples (one way ANOVA), com pós-teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o software ASSISTAT, versão 7.7 (cópia distribuída gratuitamente).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observado ganho de massa corpórea dos animais de nenhum dos grupos experimentais, a partir das aferições realizadas antes e na sequência de 14 dias de monitoramento, após a aplicação das doses de efluentes de curtume (Figura 1A). Além disso, não foram verificadas diferenças entre as massas dos grupos experimentais, nem no início, tampouco ao final do experimento (Figura 1A).

Os poucos estudos prévios de toxicidade aguda ou crônica causada por efluentes de curtume em modelos animais mamíferos não avaliaram parâmetros físicos (Siqueira et al., 2011; Moysés et al., 2014, Silva et al., 2015), o que dificulta comparações. De todo modo, segundo Júnior et al. (2012), a variação de peso é um dos parâmetros mais utilizados em estudos toxicológicos para indicar o aparecimento, muitas vezes, precoce, da toxicidade de uma substância em um animal. Da mesma forma, outros trabalhos têm avaliado o ganho ou a perda de peso corporal e ganho ou

perda de massa relativa de órgãos em estudos que avaliaram o efeito de certas substâncias em diferentes áreas da toxicologia, como na toxicologia médica, ambiental e alimentar (Bhaskar & Mohanty, 2014; Lu et al., 2014; Mukerji et al., 2015; Das et al., 2015; Olson et al., 2015). Logo, os dados deste estudo não sugerem efeitos tóxicos de ordem física nos animais, causados pelas aplicações das diferentes doses de efluentes de curtume.

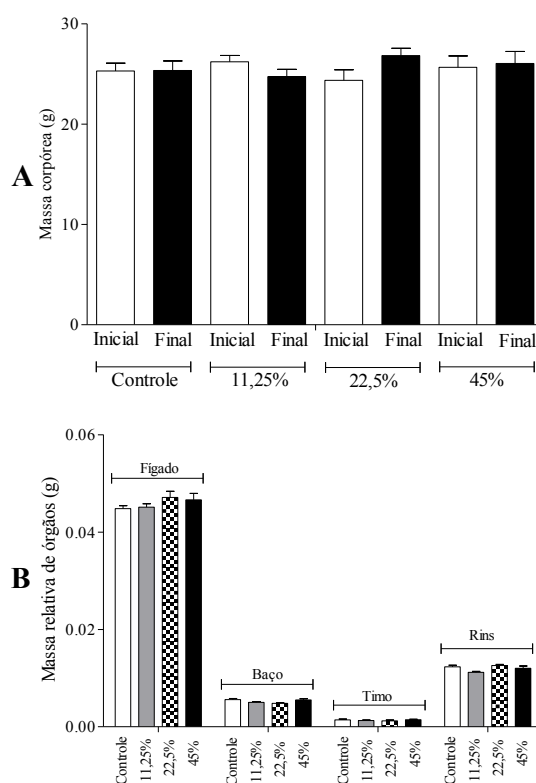


Figura 1 - (A) Massa corpórea inicial e final e (B) massa relativa de fígado, baço, timo e rins de camundongos fêmeas BALB/c que receberam diferentes doses de efluentes de curtume (pela via intraperitoneal). As barras indicam a média + erro padrão dos dados. Em "A" a massa inicial e final de cada grupo experimental e entre os grupos foi comparada pela análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas. Em "B" aplicou-se análise de variância de uma via (one way ANOVA), a 5% de probabilidade. A ausência de símbolos ou letras sobre as barras indicam a ausência de diferença estatística entre os grupos experimentais para cada parâmetro avaliado. n=6 para os grupos controle, 11,25% e 22,5%. n=5 para o grupo 45%.

Quando às massas relativas dos órgãos avaliados, não foi observada qualquer alteração macroscópica, tampouco diferenças estatisticamente significativas no peso do fígado, baço, timo e rins entre o grupo controle e aqueles tratados com diferentes doses de efluentes de curtume, demonstrando que nenhum dos órgãos avaliados foi alterado pelos tratamentos (Figura 1B).

Em relação às análises bioquímicas, observou-se diminuição nas concentrações sérias da enzima fosfatase alcalina nos animais que

receberam diferentes aplicações de efluentes de curtume (Figura 2A). No entanto, para as concentrações de albumina não foi observada diferença entre os grupos experimentais (Figura 2B).

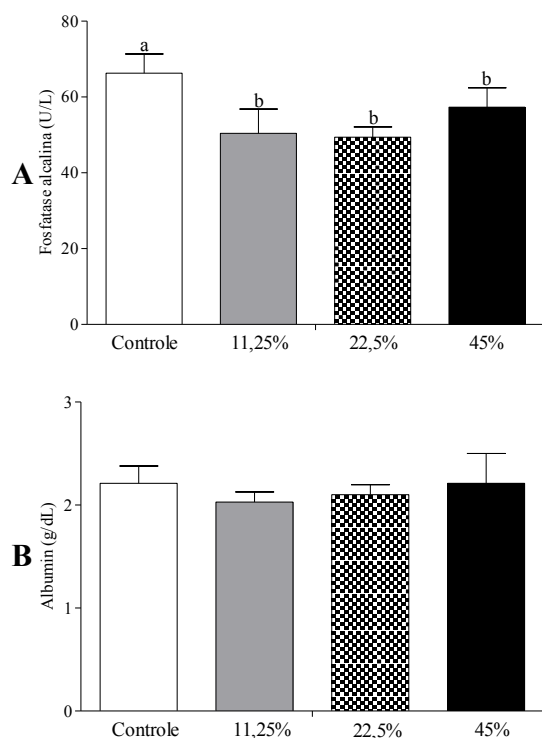


Figura 2 - Concentrações séricas de fosfatase alcalina (A) e albumina (B) de camundongos fêmeas BALB/c que receberam diferentes doses de efluentes de curtume (pela via intraperitoneal). As barras indicam a média + erro padrão dos dados. Aplicou-se análise de variância de uma via (one way ANOVA), a 5% de probabilidade, com pós-teste de Tukey. Letras distintas indicam diferenças estatísticas entre os grupos. Em "B", a ausência de símbolos ou letras sobre as barras indicam a ausência de diferença estatística entre os grupos experimentais. n=6 para os grupos controle, 11,25% e 22,%. n=5 para o grupo 45%.

Quanto a esses resultados, embora os dados obtidos sugiram que os efluentes de curtume podem alterar as concentrações séricas da enzima fosfatase alcalina, deve-se ponderar que novas investigações merecem ser conduzidas afim de melhor compreender as diferenças encontradas. A fosfatase alcalina é considerada um dos biomarcadores de lesão hepática mais básicos, porém, sua avaliação isolada ou conjugada apenas com a avaliação da albumina (proteína mais abundante no plasma), constitui uma limitação para possível diagnóstico de disfunção hepática e, conseqüente, uma limitação deste estudo.

A fosfatase alcalina, isoenzimas e isoformas, cuja heterogeneidade se deve, respectivamente, a fatores genéticos e a modificações ocorridas após a síntese proteica (Martins, 2001), avalia a função hepatobiliar, sendo sua elevação não totalmente específica de colestase

(Jesus et al., 2014). Assim, é importante que novos estudos envolvendo outros distintos biomarcadores, como aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama-GT (GGT), bilirrubina e plaquetas, sejam conduzidos para melhor compreender os efeitos dos efluentes de curtume no metabolismo dos animais. Em acréscimo, alguns estudos têm indicado a importância de considerar uma possível resposta diferencial na concentração de enzimas e hormônios em diferentes sexos e idades, o que pode representar uma variação dos efeitos de substâncias tóxicas de acordo com a idade e sexo do indivíduo exposto (Luine, 2014; Siqueira et al. 2014).

Em relação às avaliações do screening hipocrático, não foi observada qualquer alteração nos animais quanto ao seu estado de consciência e disposição, atividade e coordenação do sistema motor, reflexos, atividades sobre o sistema nervoso central e sobre o sistema nervoso autônomo, nos períodos avaliados. Apenas um animal do grupo 45% de efluente de curtume foi a óbito após 3 dias da administração do tratamento, o que corresponde à dose letal (DL16,16). Assim, não foi possível calcular a DL50.

Esses dados demonstram que apesar do efluente de curtume utilizado conter concentrações elevadas de vários metais pesados, incluindo Cr, Cd, Pb e Ni (em teoria altamente tóxicos) (Tabela 2), e mesmo a partir de aplicações intraperitoneais, não foram observadas evidências de toxicidade nos animais. Há de se ponderar que a via intraperitoneal pré-definida neste estudo, representa uma grande área do organismo em que ocorre a absorção rápida da substância aplicada no animal, sem a ocorrência de fatores que podem interferir na absorção das substâncias quando comparada, por exemplo, à via oral, em que a ação do pH estomacal, a possibilidade da substância administrada sofrer metabolismo de primeira passagem, a interação com alimentos e substâncias ingeridas, dentre outras. No entanto, acredita-se que podem ter reduzido a disponibilidade dos elementos potencialmente tóxicos presentes no efluente de curtume, os quais podem explicar a baixa mortalidade de animais observada neste estudo, especialmente na maior dose aplicada (45%).

O efluente de curtume utilizado continha concentração muito elevada de sólidos dissolvidos totais (SDT) – uma medida de todas as substâncias orgânicas e inorgânicas dissolvidas em um dado líquido, revelando a proporção de diferentes sólidos – (Tabela 2), o que corresponde à uma concentração mais de mil vezes maior do que aquela encontrada na água filtrada. Nesse caso, a

adsorção de elementos químicos potencialmente tóxicos do efluente à partículas orgânicas ou inorgânicas do próprio efluente, bem como sua complexação com cátions e ânions presentes no meio, poderia ter reduzido a disponibilidade dos constituintes tóxicos dos efluentes de curtume e sua, conseqüente, absorção pelo organismo. Esse fato poderia explicar a baixa mortalidade observada neste estudo.

Outro fator que pode explicar os achados do presente estudo refere-se à biotransformação dos constituintes recebidos pelos animais. A linhagem estudada pode ter biotransformado rapidamente as substâncias tóxicas recebidas, impedindo que danos evidentes ocorressem no organismo. Conforme discutido por Azevedo & Chasin (2004), uma substância pode ser biotransformada por diferentes vias, que variam entre espécies e linhagens de animais, em diferentes velocidades, provavelmente em virtude da presença e da atuação de diferentes sistemas enzimáticos. Logo, reações envolvendo processos oxidativos, processos de redução, degradação e conjugação ou síntese pode ter promovido a inativação de potenciais substâncias tóxicas e impedido a expressão de seus efeitos prejudiciais aos animais estudados no período de avaliação pré-determinado.

Por fim, outra possível explicação ligada à baixa mortalidade dos animais estaria relacionada à frequência da exposição ao efluente de curtume. Neste estudo, foram aplicadas nos animais doses fracionadas das doses de efluentes em um período inferior a 24 h. Nesse caso, essas aplicações fracionadas podem ter reduzido o efeito tóxico dos efluentes de curtume, uma vez que a duração da exposição aos efluentes não foi aumentada. Assim, é de se supor que uma dose única de um agente que produz efeito imediato e severo, poderá produzir menos do que a metade ou nenhum efeito, quando dividida em duas ou mais doses, administradas durante um período de várias horas ou dias (Azevedo & Chasin, 2004). No entanto, é importante ressaltar que a redução do efeito provocado pelo aumento de frequência (ou seja, do fracionamento da dose) só ocorrerá quando a velocidade de eliminação é maior do que a de absorção, de modo que os processos de biotransformação e/ou excreção ocorram no espaço entre duas exposições ou quando o efeito tóxico pela substância é parcial ou totalmente revertido antes da exposição seguinte. Como neste estudo não houve um aprofundamento dos mecanismos toxicológicos envolvidos na aplicação dos efluentes de curtume, sugere-se que novos trabalhos sejam conduzidos afim de se estudar melhor as formas como esses constituintes são

disponibilizados e absorvidos pelos animais, considerando, também que linhagens distintas de roedores podem responder de forma diferente a xenobióticos.

No estudo previamente publicado, que mais se assemelha ao presente, Silva et al. (2015) objetivaram determinar doses letais de efluentes de curtume em camundongos também isogênicos, porém da linhagem C57Bl/6J. Na ocasião, fêmeas de camundongos C57Bl/6J receberam, intraperitonealmente, por 5 dias consecutivos, injeções de concentrações de 100%, 75%, 50% e 25% de efluentes de curtume, diluídas em água e camundongos C57Bl/6J machos receberam pela mesma via de administração 44%, 38%, 32% e 26% de efluentes de curtume. Foi verificado que a concentração de 25% de efluentes de curtume administrada intraperitonealmente mostrou-se inócua a fêmeas de camundongos C57Bl/6J e que doses de até 44% de efluentes de curtume, não causaram sinais de toxicidade aguda em camundongos machos da mesma linhagem. Vale salientar que Silva et al. (2015) utilizaram efluente de curtume diferente do utilizado no presente estudo. No presente trabalho fez-se o uso do efluente de curtume oriundo da etapa de curtimento do couro (conhecido como wet blue), enquanto que Silva et al. (2015) utilizaram efluente da etapa de depilação da couro bovino, conhecido como efluente de caleiro. De qualquer forma, esses dados corroboram a hipótese de que linhagens diferentes podem responder de forma distinta a componentes químicos potencialmente tóxicos e que mais estudos são encorajados.

CONCLUSÃO

Baseado nas condições experimentais adotadas neste estudo, conclui-se que efluentes de curtume do tipo wet blue, administrados intraperitonealmente, em fêmeas de camundongos BALB/c não causam sinais evidentes de toxicidade aguda nos animais. A DL₁₆ foi obtida apenas para a maior dose de efluente pré-estabelecida (45%). Como perspectivas de estudos, encoraja-se a realização de novos estudos, afim de determinar a DL₅₀, a partir de diferentes vias de administração do efluente utilizado, diferentes tipos de efluentes de curtume (brutos ou tratados), diferentes sexos e idades e variadas espécies de animais, considerando que xenobióticos podem ter diferentes mecanismos de ação em diferentes espécies e linhagens de roedores avaliadas. Acredita-se que estudos como este possam promover informações para o delineamento e seleção dos níveis de dose para estudos mais prolongados (toxicidade crônica) ligados aos efluentes de curtume.

REFERÊNCIAS

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2013). Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/e0f1d9004e6248049d5fddd762e8a5ec/Guia+de+Estudos+N%C3%A3o+Cl%C3%ADnicos+-+vers%C3%A3o+2.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 28/04/2015.
- APHA (American Public Health Association). (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater. 20. ed. New York: APHA, AWWA, WPCR, 1997. 1194 p.
- Azevedo, F. A., Chasin, A. D. M. (2004). As bases toxicológicas da ecotoxicologia. São Paulo: InterTox.
- Batista, M. M. & Alovisei, A. M. T. (2010). Alterações de atributos químicos do solo e rendimento da cana soca pela utilização de lodo de curtume. Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente, 13(17), 387-396.
- Bhaskar R., Mohanty B. (2014). Pesticides in mixture disrupt metabolic regulation: in silico and in vivo analysis of cumulative toxicity of mancozeb and imidacloprid on body weight of mice. General and Comparative Endocrinology, 205, 2226-234.
- Cuberos E., Rodriguez A. I. & Pietro E. (2009). Niveles de cromo y alteraciones de salud en una población expuesta a las actividades de curtiembres en Bogotá, Colombia. Revista de Salud Pública, 11(2), 278-289.
- Das, K. P., Grey, B. E., Rosen, M. B., Wood, C. R., Tatum-Gibbs, K. R., Zehr, R. D., et al. (2015). Developmental toxicity of perfluorononanoic acid in mice. Reproductive Toxicology, 51, 133-144.
- Estrela, D. C., Lemes, C. G. C., Guimarães, A. T. B. & Malafaia, G. (2014). Effects of short-term malnutrition in rats. Scientia Plena, 10, 1-13.
- Godecke, M. V., Rodrigues, M. A. S. & Naime, R. H. (2012). Resíduos de curtume: estudo das tendências de pesquisa. Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental, 7(7), 1357-1378.
- Jesus, G. C., Sousa, H. H. B. A., Barcelos, R. S. S. (2014) Principais patologias e biomarcadores das alterações hepáticas. Estudos, 41, 525-537.
- Júnior, H. B. P., Borges, L. M., Sousa, L. A. D., Cunha, L. C., Júnior, R. S., Melo, D. F. A., et al. (2012) Avaliação da toxicidade aguda do extrato hexânico de frutos de *Melia azedarach* (Meliaceae) em camundongos. Ciência Animal Brasileira, 13, 512-519.
- Lu, L., Fan, Y., Yao, W., Xie, W., Guo, J., Yan, Y., et al. (2014). Safety assessment of the fermented *Phylloporia ribis* (*Lonicera japonica* Thunb.) mycelia by oral acute toxicity study in mice and 90-day feeding study in rats. Food and Chemical Toxicology, 69, 18-24.
- Luine, V. N. (2014). Estradiol and cognitive function: past, present and future. Hormones and Behavior, 66(4), 602-618.
- Malone, M. H. & Robichaud, R. C. (1962). A Hippocratic screening for pure or drug materials. *Lloydia*, 25, 23-53.
- Martins, M. J. R. C. (2001). Fosfátase alcalina: atividades em diversas situações fisiológicas e patológicas: relações com sistemas de transporte transmembranar. (Tese de doutoramento). Universidade do Porto, Portugal.
- Moisés, F. S., Bertoldi, K., Spindler, C., Sanches, E. F., Elsner, V. R., Rodrigues, M. A. S., et al. (2014). Exposition to tanneru wastewater did not alter behavioral and biochemical parameters in Wistar rats. *Physiology & Behavior*, 129, 160-166.
- Mukerji, P., Era, J. C., Buck, R. C. & O'Connor J. C. (2015) Oral repeated-dose systemic and reproductive toxicity of 6:2 fluorotelomer alcohol in mice. *Toxicology Reports*, 2, 130-143.
- Olson, J. A., Schwartz, J. A., Hahka, D., Nguyen, N., Bunch, T., Jensen, G. M., et al. (2015). Toxicity and efficacy differences between liposomal amphotericin B formulations in uninfected and *Aspergillus fumigatus* infected mice. *Medical Mycology*, 53, 107-118.
- Oral, R., Meriç, S., Tünay, O., Nicolam E., Petruzzelli, D. & Pagano G (2005). Multi-species toxicity monitoring in a chromium-based leather tannery wastewater. Disponível em: <<http://www.srcosmos.gr/srcosmos/showpub.aspx?aa=6537>>. Acesso em: 28/04/2015.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) (2010). Draft guidance document n. 116 on the design and conduct of chronic toxicity and carcinogenicity studies, supporting TG 451, 452, 453 table of contents. Disponível em: <<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/44960015.pdf>>. Acesso em: 28/04/2015.
- Paiva, F.P., Maffili, V.V., Santos, A.C.S. Curso de manipulação de animais de laboratório. Salvador: Ministério da Saúde, FIOCRUZ, 2005.
- Rumin, C. R., Silva, D. B., Souza, M. A. R. (2013). Intervenção em Saúde do trabalhador em um curtume do Oeste Paulista. *Revista Psicologia, Organizações e Trabalho*, 13(2), 127-140.
- Salazar, E. M. G. (2008). Economía ecológica frente a economía industrial. El caso de la industria de la curtuduría en México. *Argumentos*, 21(56), 55-71.
- Shahzad, K., Akhtar, S., Mahmud, S. (2006). Prevalence and determinants of asthma in adult male leather tannery workers in Karachi, Pakistan: A cross sectional study. *BMC Public Health*, 6, 292-298.
- Silva, B. C., Lemos, D. C. S., Sá, B. F., Ferreira, R. O., Souza, J. M., Menezes, I. P. P., et al. (2015). Determinação de doses letais de efluente de curtume em camundongos C57B6/J. *Multi-Science Journal*, 2, 45-49.
- Siqueira, E. P., Zani, C. L., Alves, T. M. A., Parreiras, P. M., Martins-Filho, O. A., Araújo, M. S. S. et al. (2014) Evaluation of the In vitro leishmanicidal and In vivo acute oral toxicity of the *Caesalpinia echinata* L. extracts as source of natural products against leishmaniasis. *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, 4(3), 30-38.

Siqueira, I. R., Vanzella, C., Bianchetti, P., Rodrigues, M. A. S. & Stülp, S (2011). Anxiety-like behaviour in mice exposed to tannery wastewater: the effect of photoelectrooxidation treatment. *Neurotoxicology and Teratology*, 33, 481-484.