



AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DE OXITETRACICLINA PARA PÓS-LARVAS DE TILÁPIA DO NILO

Natalia Akemi **Takeshita**¹; Bruna Milke **Chiste**²; Claudio Martin **Jonsson**³; Cristiano Campos
Mattioli⁴; Hamilton **Hisano**⁵

Nº 19408

RESUMO – Com a intensificação da aquicultura, o surgimento de doenças torna-se cada vez mais frequente. A oxitetraciclina é um dos antibióticos mais utilizados na piscicultura para o controle de infecções bacterianas. O objetivo deste estudo foi determinar a concentração letal média (CL_{50-96h}) de oxitetraciclina em pós-larvas de tilápia-do-nylo *Oreochromis niloticus*, assim como a influência de distintos níveis desse antibiótico no peso e comprimento final e na qualidade de água. Foram utilizadas 126 pós-larvas com peso médio inicial de $32,25 \pm 3,74$ mg, previamente aclimatadas por 48 horas e cada aquário continha sete pós-larvas mantidas em jejum durante o experimento. Os parâmetros de qualidade de água (pH, oxigênio dissolvido, temperatura, dureza, condutividade e amônia total) foram medidos diariamente. Foram utilizadas cinco concentrações de oxitetraciclina (2,01; 2,44; 3,31; 3,65 e 4,59 mg L⁻¹) e um controle (sem o antibiótico), sendo três repetições por concentração. A concentração letal média (CL_{50}) de 96 horas encontrada do antibiótico oxitetraciclina para pós-larvas de tilápia-do-nylo foi de 3,45 mg L⁻¹, porém não houve diferença estatística significativa para o peso e comprimento final. O oxigênio dissolvido diferiu ($p < 0,05$) ao decorrer do tempo experimental, correlacionando os efeitos deletérios biológicos e ambientais ao aumento da oxitetraciclina presente no ambiente.

Palavras-chaves: piscicultura, antibiótico, letalidade, efeitos tóxicos.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Medicina Veterinária, Centro Universitário de Jaguariúna - UNIFAJ, Jaguariúna-SP; nataliaakemi3@gmail.com.

2 Colaborador, Bolsista CNPq (ITI-A): Graduação Medicina Veterinária, Centro Universitário de Jaguariúna - UNIFAJ, Jaguariúna-SP.

3 Colaborador, Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP.

4 Colaborador, Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial do CNPq – Nível B, Jaguariúna-SP.

5 Orientador: Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; hamilton.hisano@embrapa.br.



ABSTRACT – *With the intensification of aquaculture, the emergence of disease becomes more frequent. Oxytetracycline is one of the antibiotics most used in fish culture for the control of bacterial infections. The objective of this study was to determine the median lethal concentration (LC_{50-96h}) of the oxytetracycline for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* post-larvae, as well as the influence of different levels of this antibiotic on final weight and length and water quality. A total of 126 post-larvae were used with an initial average weight of $32,25 \pm 3,74$ mg, were previously acclimated for 48 hours, and each aquarium contained seven individuals kept fasted during the experiment. The parameters of water quality (pH, dissolved oxygen, temperature, conductivity, hardness and total ammonia) were measured daily. Five concentrations of oxytetracycline (2.01; 2.44; 3.31; 3.65; and 4.59 mg L⁻¹) and one control (without the antibiotic), were used with three replicates per concentration. The 96-hour median lethal concentration (LC_{50}) for oxytetracycline for Nile tilapia post-larvae was 3.45 mg L⁻¹, there was no statistically significant difference of final weight and length. The dissolved oxygen differed ($p < 0.05$) during the experimental period, correlating the deleterious biological and environmental effects with the increase of oxytetracycline present in the aquatic environment.*

Keywords: fish farming, antibiotic, lethality, toxic effects.

1 INTRODUÇÃO

A tilápia-do-nilo é a principal espécie produzida na aquicultura continental brasileira. De acordo com dados do IBGE (2017), a produção de tilápia no Brasil em 2017 alcançou 283.249 toneladas, representando 58,4% do total da produção da piscicultura. Os sistemas de produção preconizados atualmente são baseados no uso de altas densidades de estocagem de peixes, como o exemplo de tanques redes que podem atingir até 80-120 kg/m³ (GARCIA *et al.*, 2013). Dessa forma, problemas com baixa qualidade de água e altas densidades podem aumentar o risco de doenças, tornando a produção cada vez mais dependente de químicos para o tratamento de enfermidades, como os antimicrobianos (MONTEIRO *et al.*, 2015).

Os antimicrobianos correspondem a uma classe de fármacos utilizados em larga escala na produção aquícola (CABELLO *et al.*, 2013) e podem ser de origem natural ou sintética, possuindo efeito bactericida ou bacteriostático, evitando o crescimento de bactérias patogênicas (CÂNADA-CÂNADA *et al.*, 2009). A oxitetraciclina é um antibiótico do grupo das tetraciclinas e sua utilização é bastante difundida mundialmente para o tratamento de infecções bacterianas em peixes (RIGOS;



TROISI, 2005), devido seu amplo espectro, efetividade e baixo custo. Ela possui ação bacteriostática e inibe a síntese proteica em bactérias gram-negativas e gram-positivas (RIGOS *et al.*, 2006).

O aumento do uso de antibióticos na produção animal é uma preocupação mundial para a saúde pública pela possibilidade do aumento da resistência de algumas bactérias comensais do intestino humano e animal, além da possível disseminação de genes de resistência entre diversas populações bacterianas, especialmente as patogênicas (GASTALHO *et al.*, 2014). Os antibióticos causam impacto ambiental em corpos hídricos (COYNE *et al.*, 2001), com o desenvolvimento de resistência a antibióticos para algumas bactérias aquáticas, toxicidade direta a microflora e microfauna e também tem risco à saúde humana pela ingestão de fauna bentônica não-alvo contaminada (RIGOS *et al.*, 2004). Os efeitos diretos pela utilização excessiva ou inadequada desses medicamentos (MARSHALL; LEVY, 2011) em peixes ocasionam imunossupressão, nefrotoxicidade (ISLAM *et al.*, 2015), diminuição do índice de atividade fagocitária (REDA *et al.*, 2013), estresse oxidativo e dano hepático (GUARDIOLA *et al.*, 2012).

Os impactos do uso de antibióticos sobre os organismos aquáticos podem ser avaliados por meio de estudos ecotoxicológicos em diversas espécies, determinando os efeitos ou letalidade de várias substâncias (FUJIMOTO *et al.*, 2012). Os ensaios ecotoxicológicos determinam o potencial de risco ambiental de vários compostos químicos, com o uso de diferentes doses em resposta à mortalidade dos organismos aquáticos (CRUZ *et al.*, 2004), e são medidos pela concentração letal média (CL₅₀) que representa a dose tóxica que ocasiona a mortalidade de 50% dos organismos expostos a alguma substância em um determinado período (ECETOC, 1985). Essas informações são importantes não somente do ponto de vista ambiental, como para procedimentos de biossegurança nas próprias pisciculturas, já que pode existir contaminação cruzada pela água e riscos de toxicidade durante o tratamento de animais em diferentes estágios de desenvolvimento dentro da mesma propriedade ou de vizinhos.

Nas fases iniciais de desenvolvimento, os animais são mais sensíveis às condições estressantes, principalmente na fase de pós-eclosão. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi estimar a concentração letal média (CL_{50-96h}) de oxitetraciclina para pós-larvas de tilápia-do-nilo *Oreochromis niloticus*, assim como avaliar o efeito deste fármaco no peso e comprimento final e nos parâmetros de qualidade da água.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Ecotoxicologia e Biossegurança da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP. Para os testes de toxicidade aguda foi utilizado o produto



comercial Terramicina® como fonte de oxitetraciclina e seguiram os procedimentos estabelecidos nas diretrizes da OECD (1992). Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Meio Ambiente (Protocolo nº 011/2018).

As pós-larvas foram adquiridas em piscicultura comercial, localizada no município de Monte Mor - SP. Os animais foram previamente aclimatados por 48 horas, a fim de preservar a fase de desenvolvimento determinada para o estudo. A água utilizada apresentou como variáveis de qualidade da água: Temperatura 28°C (controle por termostato); pH 6,8; aeração artificial constante, oxigênio dissolvido $>5 \text{ mg L}^{-1}$; condutividade $14,00 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$ e $\text{NH}_4 < 0,1 \text{ mg L}^{-1}$. As renovações de água foram efetuadas diariamente e a alimentação foi realizada com ração comercial específica para a fase. Os eventuais resíduos de fezes e sobra de rações do tanque eram retirados diariamente por sifonamento.

Foram utilizadas 126 pós-larvas de tilápia-do-nylo *Oreochromis niloticus* com peso médio inicial de $32,25 \pm 3,74 \text{ mg}$ e comprimento médio inicial de $13,10 \pm 0,64 \text{ mm}$. Os ensaios foram realizados em sistema estático com fotoperíodo de 12 horas com luz e 12 horas sem luz e os animais permaneceram em jejum durante a realização dos testes. Os parâmetros de qualidade da água foram medidos diariamente (pH, oxigênio dissolvido, temperatura, dureza, condutividade e amônia total).

Foram realizadas coletas de água (15 mL) para análise de oxitetraciclina no tempo 0, 12, 24, 48, 72 e 96 horas. As amostras foram mantidas a -20°C para, posteriormente, serem analisadas no Laboratório de Resíduos e Contaminantes (LRC) da Embrapa Meio Ambiente. As amostras foram descongeladas a temperatura ambiente e filtradas em filtro Millex HV – PVDF com $0,45 \text{ } \mu\text{m}$ de poro e 13 mm de diâmetro. A oxitetraciclina foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD) com o cromatógrafo Shimadzu, modelo Prominence 20A. Coluna cromatográfica C18 Zorbax Eclipse XDB (Agilent) com 150 mm de comprimento, 2,1 mm de diâmetro interno e $5 \text{ } \mu\text{m}$ de tamanho de partícula (SHIMADZU, 2018).

A fase móvel foi composta de acetonitrila e ácido fórmico 0,1% (v/v) nas proporções de 60:40 v/v, em modo isocrático. As análises foram efetuadas em coluna a 40°C com vazão da fase móvel de $0,5 \text{ mL min}^{-1}$. O tempo de corrida foi de seis minutos e o tempo de retenção para a oxitetraciclina foi de 0,87 minutos, empregando detecção em comprimento de onda de 270 nm e volume de injeção de $20 \text{ } \mu\text{L}$ (SHIMADZU, 2018).

Foram avaliadas cinco concentrações de oxitetraciclina calculadas a partir do produto comercial (1,65; 2,15; 2,81; 3,63 e $4,73 \text{ mg L}^{-1}$) e um controle (sem antibiótico). Foram utilizadas sete pós-larvas por aquário, totalizando 18 aquários (volume útil de 1 L), sendo três repetições por

concentração. As concentrações de oxitetraciclina foram analisadas por cromatografia líquida, conforme relatado anteriormente e os resultados obtidos foram as seguintes concentrações (2,01; 2,44; 3,31; 3,65 e 4,59 mg L⁻¹) utilizadas para o ensaio e cálculo da CL₅₀.

A mortalidade foi contabilizada às 24, 48, 72 e 96 horas de exposição à oxitetraciclina, com remoção dos animais mortos. A eutanásia dos animais sobreviventes após o ensaio experimental (96 h) foi realizada com super dosagem de hidrocloreto de benzocaína (250 mg L⁻¹), seguindo a Resolução nº 1000/2012 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV, 2012).

Utilizou-se o software Statgraphic Centurion (STATGRAPHICS TECHNOLOGIES, 2014) com o método Probit Analysis (THRONE *et al.*, 1995) para o cálculo da CL_{50-96h}, com intervalo de 95% de confiança. Para a análise estatística do peso e comprimento final e dos parâmetros de qualidade de água, os resultados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade da variância, seguido por análise de variância (ANOVA). Quando significativo, aplicou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados foram analisados no programa estatístico R versão 3.5.1. (R CORE TEAM, 2016).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração letal média (CL_{50-96h}) de oxitetraciclina encontrada para as pós-larvas de tilápia-do-nylo foi equivalente a 3,45 mg L⁻¹ com limite inferior de 3,14 mg L⁻¹ e limite superior de 3,80 mg L⁻¹. A Figura 1 demonstra o gráfico de avaliação da CL_{50-96h}. Não houve mortalidade no tratamento controle, contudo, nas maiores concentrações a mortalidade atingiu 90,5%.

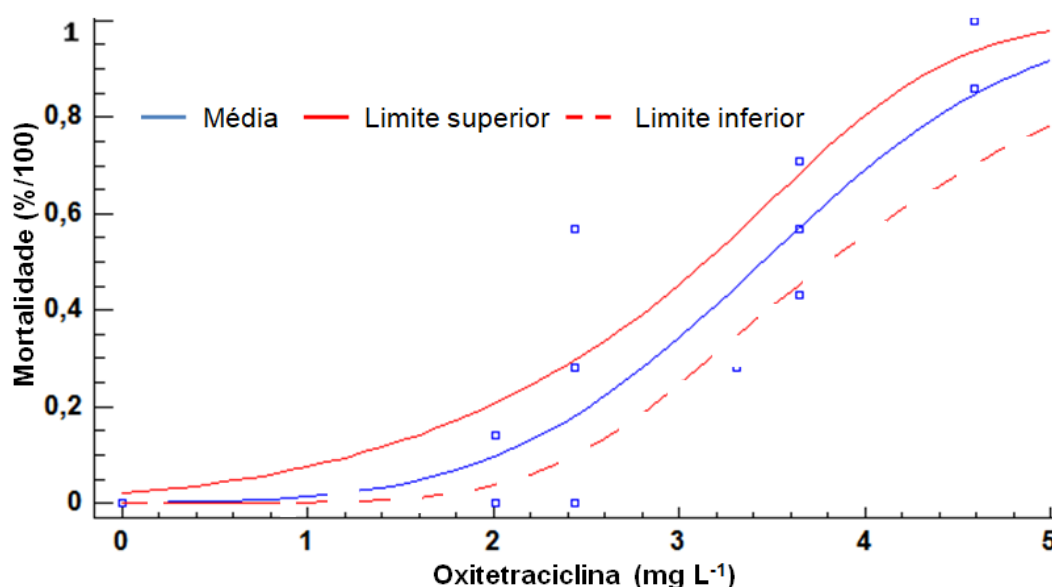


Figura 1. Concentração letal média (CL_{50-96h}) de oxitetraciclina em pós-larvas de tilápia-do-nylo.



A determinação da CL_{50} pode ser avaliada em distintos períodos. A CL_{50} (96h) da oxitetraciclina foi determinada para larvas de zebrafish *Danio rerio* $>1000 \text{ mg L}^{-1}$ (BARROS-BECKER *et al.*, 2012); juvenis (2,2 g) de robalo riscado *Morone saxatilis* de 597 mg L^{-1} (BUMGUARDNER; KING, 1996); alevinos ($0,22 \pm 0,2 \text{ g}$) de mato grosso *Hyphessobrycon eques* de $5,49 \text{ mg L}^{-1}$ (FUJIMOTO *et al.*, 2012); larvas de truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* de $62,5 \text{ mg L}^{-1}$; e juvenis (10-14 dias após eclosão) de peixe-arroz *Oryzias latipes* de $110,1 \text{ mg L}^{-1}$ (PARK; CHOI, 2008). Comparado aos trabalhos citados acima, os resultados de CL_{50-96h} para pós-larvas de tilápias do presente estudo indicam que esta fase é mais sensível ao efeito tóxico da oxitetraciclina. Porém, a diferença dos resultados também pode estar relacionada com a peculiaridade e resistência de cada espécie, assim como a fase de desenvolvimento durante os experimentos.

Em estudos similares com a tilápia-do-nilo, porém com período inferior ao do presente estudo (48 horas), a CL_{50-48h} de oxitetraciclina foi determinada para alevinos (0,5 - 1,0 g) em $6,92 \text{ mg L}^{-1}$ (MACHADO *et al.*, 2016); e alevinos (0,5 - 1,0 g) de pacu *Piaractus mesopotamicus* de $7,6 \text{ mg L}^{-1}$ (CARRASCHI *et al.*, 2011). Quando comparado com o presente estudo houve diferença de quase o dobro da concentração. Essa diferença pode ser explicada, provavelmente, pela metade do tempo de duração daquele experimento, quando a dose letal tem que ser maior para alcançar a CL_{50} .

Os resíduos de antibióticos contaminam o ambiente aquático e, conseqüentemente podem desenvolver resistência de algumas bactérias indesejáveis. A contaminação pode ocorrer através da lixiviação, rações não consumidas, má absorção por alterações de temperatura da água (RIGOS *et al.*, 1999) e pela excreção (muco/pele, fezes, urina, bile) (ROGSTAD *et al.*, 1991; NAMDARI, 1994). Considerando a má absorção da oxitetraciclina pelos peixes, com excreção de mais de 90% pelas fezes (CRAVEDI *et al.*, 1987), é possível observar que há uma elevada taxa residual desse antibiótico em ambientes aquáticos, com possível contaminação da água e, conseqüentemente resistência bacteriana.

A oxitetraciclina no Brasil é muito utilizada para tratamento de infecções bacterianas em peixes e, segundo recomendações terapêuticas, pode ser usado na dose de 8,3 g ou 11,85 g/kg de peso vivo. Este antibiótico usualmente é incorporado nas rações dos animais a serem tratados. Se considerarmos as perdas pelas formas citadas anteriormente (via ração e excreção) na água, a concentração utilizada poderia proporcionar alguma interferência negativa para pós-larvas de tilápia, dependendo da biomassa de animais a serem tratados e conseqüente quantidade de antibiótico utilizado.



Os dados de biometria inicial encontrados para pós-larvas de tilápia-do-nilo referente ao peso médio foi de $32,25 \pm 3,74$ mg, e para o comprimento médio foi de $13,10 \pm 0,64$ mm. A Tabela 1 apresenta os resultados dos valores de biometria final das pós-larvas de tilápia. O peso médio final e o comprimento médio final não apresentaram diferença estatística significativa, porém houve tendência de menores valores com o aumento da concentração do antibiótico teste.

Tabela 1: Valores médios (\pm desvio padrão) dos parâmetros biométricos das pós-larvas de tilápia-do-nilo.

Concentrações (mg L ⁻¹)	Peso final (mg)	Comprimento final (mm)
0	29,97 \pm 1,58	12,67 \pm 0,58
2,01	28,27 \pm 3,08	12,33 \pm 0,58
2,44	26,30 \pm 2,46	12,67 \pm 0,58
3,31	26,30 \pm 2,46	12,33 \pm 0,58
3,65	26,77 \pm 0,85	12,00 \pm 1,00
4,59	24,37 \pm 0,93	11,67 \pm 0,58

Na maior concentração de oxitetraciclina (4,59 mg L⁻¹), houve decréscimo de 25% do peso final em comparação com o peso inicial e 18,7%, quando comparado ao tratamento controle, indicando que essa variação é uma consequência dos efeitos tóxicos da oxitetraciclina para as pós-larvas de tilápia.

A oxitetraciclina causa efeitos tóxicos em peixes como imunossupressão, deprimindo a produção de anticorpos e os níveis de leucócitos circulantes como os neutrófilos, levando a diminuição no índice fagocitário (REDA *et al.*, 2013). O estresse oxidativo pode ser causado por produção de intermediários tóxicos (espécies reativas de oxigênio e nitrogênio) como os radicais hidroxila e peroxinitrito, esses podem causar efeitos deletérios na membrana das células, prejudicando sua permeabilidade e desencadeando lesões do sistema nervoso (alterações da atividade da AChE – acetilcolinesterase), degradação, hemólise, deterioração do metabolismo celular e possivelmente morte celular (RODRIGUES *et al.*, 2018). Há relatos de nefrotoxicidade (ISLAM *et al.*, 2015), dano hepático (GUARDIOLA *et al.*, 2012) e deformações na coluna vertebral (TOFTEN; JOBLING, 1996), sendo essas possíveis causas da mortalidade das pós-larvas neste estudo, indicando que o fármaco se mostra tóxico perante à espécie considerada.

Os parâmetros de qualidade da água que não apresentaram diferença estatística significativa foram pH ($6,94 \pm 0,03$), amônia total ($0,29 \pm 0,04$ ppm), condutividade ($0,113 \pm 0,02$ mS cm⁻¹), dureza da água ($0,5$ CaCO₃) e temperatura ($26,47 \pm 0,06$ °C). Contudo, os dados de oxigênio



dissolvido foram diferentes ($p < 0,05$) ao longo do período experimental. A Tabela 2 apresenta a análise estatística dos valores de oxigênio dissolvido.

Tabela 2. Valores médios (\pm desvio padrão) obtidos de oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) dos parâmetros físico-químicos da água do experimento de $\text{CL}_{50} - 96\text{h}$ com oxitetraciclina.

Concentrações (mg L^{-1})	0h	24h	48h	72h	96h
0	$8,20 \pm 0,10^a$	$8,03 \pm 0,06^a$	$8,10 \pm 0,10^a$	$7,23 \pm 0,32^b$	$7,03 \pm 0,06^b$
2,01	$8,03 \pm 0,06^a$	$7,97 \pm 0,06^a$	$7,93 \pm 0,11^{ab}$	$7,57 \pm 0,25^b$	$7,03 \pm 0,15^c$
2,44	$8,10 \pm 0,10^a$	$7,93 \pm 0,11^a$	$8,00 \pm 0,26^a$	$7,57 \pm 0,30^{ab}$	$7,07 \pm 0,11^b$
3,31	$8,20 \pm 0,18^a$	$7,97 \pm 0,06^{ab}$	$8,00 \pm 0,05^{ab}$	$7,77 \pm 0,15^b$	$7,00 \pm 0,10^c$
3,65	$7,99 \pm 0,02^a$	$7,93 \pm 0,06^a$	$7,92 \pm 0,10^a$	$7,83 \pm 0,06^a$	$7,10 \pm 0,10^b$
4,59	$8,19 \pm 0,21^a$	$8,10 \pm 0,26^a$	$7,99 \pm 0,02^a$	$7,90 \pm 0,10^a$	$7,10 \pm 0,26^b$

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

O oxigênio dissolvido (OD) apresentou variação, que pode estar relacionado com a degradação da molécula de oxitetraciclina e a respiração dos animais (KRAMER, 1987). Além disso, a matéria orgânica gerada pelos peixes é consumida parcial ou totalmente por bactérias que necessitam de oxigênio para realizar a degradação, e também pode ter interferido na diminuição do oxigênio dissolvido (ESTEVES, 1998).

Fatores que influenciam a toxicidade da amônia incluem a concentração de oxigênio dissolvido, temperatura e pH da água e quanto menor a concentração de oxigênio, maior a toxicidade da amônia. Os valores de amônia total encontrados neste estudo não ultrapassaram 0,5 ppm em todos os tratamentos no decorrer do período experimental, demonstrando que a diferença nas concentrações de OD observadas não ocasionou efeitos tóxicos para o peixe (SVOBODOVÁ *et al.*, 1993).

4 CONCLUSÃO

A concentração letal média (CL_{50}) de 96 horas encontrada do antibiótico oxitetraciclina para pós-larvas de tilápia-do-nilo foi de $3,45 \text{ mg L}^{-1}$. Os efeitos tóxicos da oxitetraciclina influenciam no desenvolvimento de pós-larvas de tilápia-do-nilo.



5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa de iniciação científica (PIBIC), a Dr. Vera Lúcia Ferracini pelo suporte durante o experimento, ao Dr. Ricardo Antônio Almeida Pazianotto pelas análises estatísticas e ao Marley Mendonça Tavares pela realização das análises cromatográficas.

6 REFERÊNCIAS

BARROS-BECKER, F. *et al.* Persistent oxytetracycline exposure induces an inflammatory process that improves regenerative capacity in zebrafish larvae. **Plos One**, San Francisco, v. 7, n. 5, p. 1-10, 2012.

BUMGUARDNER, B. W.; KING, T. L. Toxicity of Oxytetracycline and Calcein to Juvenile Striped Bass. **Transactions of the American Fisheries Society**, Manchester, v. 125, p. 143-145, 1996.

CABELLO, F. C. *et al.* Antimicrobial use in aquaculture re-examined: Its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. John Wiley & Sons Ltd and Society for Applied Microbiology, **Environmental Microbiology**, London, v.15, n.7, p.1917-1942, 2013.

CÃNADA-CÃNADA, F.; MUÑOZ DE LA PEÑA, A.; ESPINOSA-MANSILLA, A. Analysis of antibiotics in fish samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, New York, v. 395, n.4, p. 987-1008, 2009.

CARRASCHI, S. P. *et al.* Acute toxicity and environmental risk of oxytetracycline and florfenicol antibiotics to pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 115-122, 2011.

CFMV. Resolução nº 1000, de 11 de maio de 2012. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. In: CFMV. **Manual de Legislação do Sistema CFMV/CRMVs**. Brasília, DF, 17 maio 2012. Seção 1, p. 124-125.

COYNE, R.; SMITH, P.; MORIARTY, C. The fate of oxytetracycline in the marine environment of a salmon cage farm. **Marine Environment and Health Series**, Galway, n. 3, p. 1-24, 2001.

CRAVEDI, J. P.; CHOUBERT, G.; DELOUS, G. Digestibility of chloramphenicol, oxolinic acid and oxytetracycline in rainbow trout and influence of these antibiotics on lipid digestibility. **Aquaculture**. Amsterdam, v. 60, p. 133-141, 1987.

CRUZ, C.; MACHADO-NETO, J. G.; MENEZES, M. L. Toxicidade aguda do inseticida paration metílico e do biopesticida azadiractina de folhas de nem (*Azadirachta indica*) para alevino e juvenil de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 14, p. 93-102, 2004.

ECETOC. **Acute toxicity tests LD50 (LC50) determinations and alternatives**. Brussels: [s.n.], 1985. 42 p. (Monograph, 6).

ESTEVES, A. F. **Fundamentos de Limnologia**. 2º ed. Rio de Janeiro: Ed. Interciência, 1998. p.36.

FUJIMOTO, R. Y. *et al.* Toxicidade e risco ambiental da oxitetraciclina e efeito em leucócitos de mato grosso (*Hyphessobrycon eques*). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, Itajaí, v. 7, n. 2, p. 11-15, 2012.

GARCIA, F. *et al.* Stocking density of Nile tilapia in cages placed in a hydroelectric reservoir. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 410-411, p. 51-56, 2013.



GASTALHO, S.; SILVA, G. J.; RAMOS, F. Uso de antibióticos em aquacultura e resistência bacteriana: Impacto em saúde pública. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, Coimbra, v. 3, n. 1, p. 29-45, 2014.

GUARDIOLA, F. A. *et al.* A. Modulation of the immune parameters and expression of genes of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) by dietary administration of oxytetracycline. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 334-337, p. 51-57, 2012.

IBGE. **Informativo da produção da pecuária municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, 2017. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2017>>. Acesso em: 22 maio 2019.

ISLAM M. J. *et al.* M. Effect of Oxytetracycline on Thai Silver Barb (*Barbonymus gonionotus*) and on its culture environment. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, Dubai, v. 10, n. 5, p. 323-336, 2015.

KRAMER, D. L. Dissolved oxygen and fish behavior. **Environmental Biology of Fishes**, New York, v. 18, n. 2, p. 81-92, 1987.

MACHADO, A. A. *et al.* Acute toxicity and environmental risk of oxytetracycline antibiotic for tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Daphnia magna* and *Lemna minor*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 68, n. 5, p. 1244-1250, 2016.

MARSHALL, B. M.; LEVY, S. B. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 24, n. 4, p. 718-733, 2011.

MONTEIRO, S. H. *et al.* Multiresidue antimicrobial determination in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cage farming by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 447, p. 37-43, 2015.

NAMDARI, R. **Pharmacokinetics of Pyrene and Oxytetracycline in Salmonids**. 1994. 136 f. Thesis (Master of Science) – Department of Biological Sciences, Simon Fraser University, Canada.

OECD. **Fish acute toxicity test**. Adopted by the Council on 17th July 1992. 9 p. (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 203).

PARK, S.; CHOI, K. Hazard assessment of commonly used agricultural antibiotics on aquatic ecosystems. **Ecotoxicology**, New York, v. 17, p. 526-538, 2008.

R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2018. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 21 março 2019.

REDA, R. M. *et al.* Effect of oxytetracycline and florfenicol as growth promoters on the health status of cultured *Oreochromis niloticus*. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, Nansoura, v. 39, p. 241-248, 2013.

RIGOS, G.; ALEXIS, M.; NENGAS, I. Leaching, palatability and digestibility of oxytetracycline and oxolinic acid included in diets fed to seabass *Dicentrarchus labrax* L. **Aquaculture Research**, New York, v. 30, p. 841-847, 1999.

RIGOS, G.; NENGAS, I.; ALEXIS, M. Oxytetracycline (OTC) uptake following bath treatment in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, n.4, p. 1151-1155, 2006.

RIGOS, G. *et al.* Potential drug (oxytetracycline and oxolinic acid) pollution from mediterranean sparid fish farms. **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v. 69, p. 281-288, 2004.

RIGOS, G.; TROISI, G. M. Antibacterial agents in Mediterranean finfish farming: A synopsis of drug pharmacokinetics in important euryhaline fish species and possible environmental implications. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, New York, v. 15, p. 53-73, 2005.



RODRIGUES, S. *et al.* Oxytetracycline effects in specific biochemical pathways of detoxification, neurotransmission and energy production in *Oncorhynchus mykiss*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v. 164, p. 100-108, 2018.

ROGSTAD, A. *et al.* Pharmacokinetic study of oxytetracycline in fish. I. Absorption, distribution and accumulation in rainbow trout in freshwater. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 96, p. 219-226, 1991.

SHIMADZU. Determination of five tetracycline antibiotics residues in fish by ultra-high-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry. **SHIMADZU Application News**, Columbia, n. LCMSMS-72E, 2018. 8 p.

STATGRAPHICS TECHNOLOGIES. **Statgraphics Centurion XVII (Version 17.1.04)**. Herndon, VI: StatPoint Technologies, 2014.

SVOBODOVÁ, Z. *et al.* **Water quality and fish health**. Rome: FAO, 1993. 59 p. (EIFAC Technical Paper, n. 54).

THRONE, J. E. *et al.* Probit Analysis of Correlated Data: Multiple Observations Over Time at One Concentration. **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v. 88, n. 5, p. 1510-1512, 1995.

TOFTEN, H.; JOBLING, M. Development of spinal deformities in Atlantic salmon and Arctic charr fed diets supplemented with oxytetracycline. **Journal of Fish Biology**, Liverpool, v. 49, p. 668-677, 1996.