

## Ensayos ecotoxicológicos para evaluar antibióticos y ansiolíticos en el ambiente acuático<sup>1</sup>

Malory García-Alcalde<sup>2</sup>, David Minaya<sup>3</sup>, Lorena Alvarino<sup>4</sup>, José Iannacone<sup>5</sup>, Amparo Rodríguez<sup>6</sup>

### Resumen

**Introducción.** Los fármacos de uso humano ocasionan daños ambientales y en organismos no destinatarios en el ambiente acuático. **Objetivo.** Evaluar los efectos toxicológicos de un antibiótico basado en Oxitetraciclina (OX) sobre el camarón salino (*Artemia franciscana*) y el isópodo marino (*Excirrolana braziliensis*)

y los efectos de un ansiolítico, el alprazolam (AL), sobre el anfípodo marino (*Apothelyca grandicornis*). **Materiales y métodos.** Los individuos de *A. franciscana* y *E. braziliensis* fueron expuestos a OX, y *A. grandicornis* fue expuesto a AL. Se contabilizó el número de organismos vivos y muertos en cada una de las diluciones a las 24 y 48 h de exposición.

- 1 Artículo original derivado del proyecto de investigación titulado *Ensayos ecotoxicológicos en el ambiente acuático para evaluar antibióticos y ansiolíticos de uso intensivo durante el periodo del Covid-19*, de la Universidad Nacional Federico Villarreal, Perú, ejecutado entre enero de 2021 y a diciembre de 2021 en Lima, Perú. Grupo de Investigación en Sostenibilidad Ambiental (GISA), EUPG; proyecto financiado por la Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV).
- 2 Bióloga, Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA), Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Grupo de Investigación en Sostenibilidad Ambiental (EUPG), Universidad Nacional Federico Villarreal, El Agustino, Lima, Perú. Correo: 2016012189@unfv.edu.pe / Orcid: 0000-0002-3780-9423.
- 3 Biólogo, magíster Scientiae, investigador, Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA), Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Grupo de Investigación en Sostenibilidad Ambiental (EUPG), Universidad Nacional Federico Villarreal, El Agustino, Lima, Perú. Correo: 20200592@lamolina.edu.pe / Orcid: 0000-0002-9085-5357.
- 4 Bióloga, magíster Scientiae, docente investigador, Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA), Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Grupo de Investigación en Sostenibilidad Ambiental (EUPG), Universidad Nacional Federico Villarreal, El Agustino, Lima, Perú. Correo: halvarino@unfv.edu.pe / Orcid: 0000-0003-1544-511X.
- 5 Biólogo, doctor en Ciencias Biológicas, docente investigador, Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA), Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Grupo de Investigación en Sostenibilidad Ambiental (EUPG), Universidad Nacional Federico Villarreal, El Agustino, Lima, Perú. Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Facultad de Ciencias Ambientales, COEPERU, Coastal Ecosystems of Peru Research Group, Universidad Científica del Sur, Villa El Salvador, Lima, Perú. Laboratorio de Zoología, Facultad de Ciencias Biológicas, Grupo de Investigación One Health, Universidad Ricardo Palma. Lima, Perú. Correo: jiannacone@unfv.edu.pe / Orcid: 0000-0003-3699-4732.
- 6 Biólogo, doctor en Ciencias Marinas, docente investigador, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), Ciudad de México, México. Laboratorio de Parasitología, Centro de Investigaciones en Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma del Carmen, Campeche, México. Correo: arodriguez@pampano.unacar.mx / Orcid: 0000-0003-0616-237X.

**Autor para Correspondencia:** José Iannacone. Correo: jiannacone@unfv.edu.pe  
Recibido: 06/06/2022      Aceptado: 13/06/2023

\*Los autores declaran que no tienen conflicto de interés

**Resultados.** En *A. franciscana* se observó que, a 48 h de exposición, la  $CL_{50}$  (concentración letal media) de OX fue 31 % más sensible en comparación a las 24 h de exposición. En *E. braziliensis* se encontró que, a 48 h de exposición, la  $CL_{50}$  de OX fue 93 % más sensible en comparación a las 24 h de exposición. Se observó en *A. grandicornis* que, a 48 h de exposición, la  $CL_{50}$  de AL fue 69 % más sensible en comparación a las 24 h de exposición. La catalogación toxicológica para la OX en *A. franciscana* consideró

a este fármaco como no tóxico y en *E. braziliensis* moderadamente tóxico. El AL en *A. grandicornis* fue moderadamente tóxico.

**Conclusiones.** Estos tres bioindicadores permitieron evaluar la toxicidad en el ambiente acuático de productos farmacéuticos de uso intensivo durante el periodo del Covid-19.

**Palabras clave:** contaminantes emergentes, crustáceos, ecotoxicología, invertebrados marinos, prueba de toxicidad.

## Ecotoxicological tests to evaluate antibiotics and ansiolytics in the aquatic environment

### Abstract

**Introduction.** The drugs for human use cause environmental and non-target organism damage in the aquatic environment.

**Objective.** Evaluate through ecotoxicological tests, an antibiotic and an ansiolytic of intensive use on *Artemia franciscana* “brine shrimp” and *Excirolana braziliensis* “marine isopod” were exposed to Oxytetracycline (OX), and *Apohyale grandicornis* “marine amphipod” was exposed to Alprazolam (AL).

**Materials and methods.** *A. franciscana* and *E. braziliensis* individuals were exposed to OX, and *A. grandicornis* was exposed to AL. The number of living and dead organisms was counted in each of the dilutions at 24 and 48 h of exposure. **Results.** It was noted

in *A. franciscana* that, at 48 h of exposure, the  $LC_{50}$  (Mean Lethal Concentration) of OX was 31 % more sensitive compared to 24 h of exposure. It was seen in *E. braziliensis* that, at 48 h of exposure, the  $LC_{50}$  of OX was 93 % more sensitive compared to 24 h of exposure. It was observed in *A. grandicornis* that, at 48 h of exposure, the  $LC_{50}$  of LA was 69 % higher in sensitive compared to 24 h exposure. The toxicological cataloging for OX in *A. franciscana* considered this drug as non-toxic and in *E. braziliensis* moderately toxic. LA in *A. grandicornis* was moderately toxic. **Conclusions.** These three bioindicators made it possible to evaluate the toxicity in the aquatic environment of pharmaceutical products of intensive use during the Covid-19 period.

**Keywords:** Crustaceans, Ecotoxicology, Emerging Pollutants, Marine Invertebrates, Toxicity Test.

## Testes ecotoxicológicos para avaliación de antibióticos e ansiolíticos no ambiente acuático

### Resumo

**Introdução.** Farmacêuticos para uso humano causam danos ambientais e a organismos não-alvo no ambiente aquático. **Objetivo.** Avaliar através de testes ecotoxicológicos em *Artemia franciscana* “camarão salino” e *Excirolana braziliensis* “isópode marinho” um antibiótico, Oxitetraciclina (OX), e em *Apothyale grandicornis* “anfípode marinho” um ansiolítico, Alprazolam (AL). **Materiais e métodos.** Indivíduos de *Artemia franciscana* e *E. braziliensis* foram expostos a OX, e *A. grandicornis* foi exposto ao AL. O número de organismos vivos e mortos foi contado em cada uma das diluições às 24 e 48 h de exposição. **Resultados.** Observou-se em *A.*

*franciscana* que, às 48 h de exposição, a  $CL_{50}$  (Concentração Letal Mediana) de OX foi de 31 % mais sensível em comparação com a exposição de 24 h. Por fim, foi observado em *E. braziliensis* que, em 48 h de exposição, a  $CL_{50}$  de OX foi 93 % mais sensível em relação a 24 h de exposição. Observou-se em *A. grandicornis* que, em 48 h de exposição, a  $CL_{50}$  do AL foi 69 % mais sensível em relação a 24 h de exposição. A classificação toxicológica para OX em *A. franciscana* considerou esta droga como atóxica e em *E. braziliensis* moderadamente tóxica. LA em *A. grandicornis* foi moderadamente tóxico. **Conclusões.** Esses três bioindicadores possibilitaram avaliar a toxicidade no ambiente aquático de produtos farmacêuticos de uso intensivo durante o período Covid-19.

**Palavras-chave:** crustáceos, ecotoxicologia, invertebrados marinhos, poluentes emergentes, teste de toxicidade.

---

## Introducción

Los fármacos por sus características de bioacumulación, alta persistencia y solubilidad en el agua ocasionan daños en los organismos no objetivos del ecosistema acuático (Meléndez-Marmolejo *et al.*, 2020), alcanzando a estos ambientes por medio de los residuos de su fabricación, las excretas del ser humano, la remoción doméstica inadecuada, la lixiviación de la tierra, la evacuación del agua y finalmente las fábricas o recintos hospitalarios (Archer *et al.*, 2017; Näslund *et al.*, 2017; Peltzer *et al.*, 2017).

Los productos farmacéuticos se encuentran típicamente en concentraciones en picogramos (pg), nanogramos (ng), microgramos (ug) e incluso miligramos (mg) por litro en el ambiente acuático como aguas superficiales, agua de mar, agua subterránea, sedimentos, etc. (Aus der Beek *et al.*, 2016; Ebele *et al.*, 2016; Mezzelani *et al.*, 2018; Nunes *et al.*, 2019; Peña-Guzmán *et al.*, 2019).

Estos desechos ocasionan resistencia bacteriana generada por antibióticos, daño en el ecosistema, cambio en relaciones tróficas, disminución de la fertilidad, atrofia del crecimiento en ciertos órganos, entre otros efectos (Gunnarsson *et al.*, 2019;

Yang *et al.*, 2020). Por ello, es necesaria la eliminación de los fármacos por medio de tratamientos convencionales: sistemas adecuados de gestión de aguas cloacales antes de llegar a los ecosistemas acuáticos (Luján-Facundo *et al.*, 2019).

El antibiótico oxitetraciclina (OX), de la familia de las tetraciclinas, cumple importantes funciones en beneficio de los seres vivos por ser un agente contra patógenos bacterianos en humanos y animales, y como protección frente a plagas de insectos en plantas (Akbarzadeh *et al.*, 2020). Entre sus efectos secundarios resalta el aumento de genes de resistencia antimicrobiana, daño en los ecosistemas, trastornos sistémicos, etc. (Ferreira *et al.*, 2007; Yuan *et al.*, 2019; Morales-Serrato *et al.*, 2020).

Por otro lado, el ansiolítico alprazolam (AL), del grupo de las benzodiazepinas (BZD), es el más prescrito para tratar afecciones del sistema nervioso y es considerado causal de abuso de drogas y altas tasas de suicidio. Entre sus efectos secundarios están: amnesia, falta de concentración, hipersensibilidad, irritabilidad, entre otros (Ait-Daoud *et al.*, 2017). Los efectos ecotóxicos de este ansiolítico no han sido evaluados en peces, microcrustáceos y microalgas (Cunha *et al.*, 2017, 2019).

El consumo indebido de fármacos ha avanzado durante los últimos decenios y ha sido particularmente notable durante la pandemia del Covid-19, debido al aislamiento social obligatorio, el cierre de fronteras y por disminución o nula atención en hospitales, se ha incrementado la automedicación por parte de la población con una serie de fármacos psicotrópicos para tratar

ansiedad e insomnio (Luykx *et al.*, 2020), así como el uso excesivo de antibióticos sin el diagnóstico de una coinfección bacteriana y el daño posterior asociado con la resistencia a los mismos (Pérez-Lazo *et al.*, 2021).

Para determinar los efectos de los productos farmacéuticos en los ámbitos marinos y de agua dulce es vital realizar ensayos ecotoxicológicos con bioindicadores, es más recomendado utilizar especies autóctonas debido a que pueden presentar características y necesidades distintas a especies estandarizadas, así como expresar resultados más acordes al cuerpo de agua analizado (Giusto, 2015; Caja-Molina e Iannacone, 2021; Dellafreda e Iannacone, 2021).

En los ambientes acuáticos del Perú encontramos diversas especies utilizadas como bioindicadores de contaminación ambiental, considerados así por su alta sensibilidad a sustancias químicas (Solís-González *et al.*, 2019; Yadav y Mohite, 2020; Cáceres-Del Carpio e Iannacone, 2021).

Una especie utilizada son los nauplios de *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906) o camarón salino, gracias a su fácil manejo, fase de vida reducida, estrecha variación genética y respuesta a un amplio rango de compuestos químicos y farmacológicos (Iannacone *et al.*, 2016; Ntungwe *et al.*, 2020). El crustáceo isópodo *Excirrolana braziliensis* (Richardson, 1912) o isópodo marino presenta una amplia distribución geográfica en las zonas supralitorales e intermareales marinas cumpliendo un rol de bioindicador por el efecto de actividades antropológicas, y muchos consideran que es un complejo de especies crípticas (Velo *et al.*, 2011; Rocha-

Ramírez *et al.*, 2016; Losada-Tourinho *et al.*, 2016; Martínez *et al.*, 2017). Finalmente, el crustáceo anfípodo *Apohyale grandicornis* (Krøyer, 1845) o anfípodo marino, tiene un rol importante en comunidades en la cadena trófica marina (Jiménez *et al.*, 2015; Kovacevic *et al.*, 2019; Rumbold, 2019; Rahim *et al.*, 2022) y en los últimos años es de gran interés al ser utilizados como bioindicadores ecotoxicológicos (Kohler *et al.*, 2018; Sotelo-Vásquez e Iannacone, 2019).

Es vital el análisis de la salud humana, la salud animal y la salud ambiental (*One Health*) para combatir el Covid-19, por lo tanto, el manejo del mismo requiere de una visión integral e interdisciplinaria de estos tres componentes (Canals y Cáceres, 2020). El objetivo fue evaluar mediante ensayos ecotoxicológicos con base a la  $CL_{50}$  (concentración letal media) un antibiótico, la oxitetraciclina (OX), sobre los bioindicadores *A. franciscana* y *E. braziliensis*, y sobre *A. grandicornis* un ansiolítico, el alprazolam (AL), con el fin de determinar la clase ecotoxicológica y el riesgo ecológico acuático por estos dos productos farmacéuticos.

## Materiales y métodos

### Bioindicadores

En el caso del camarón salino *A. franciscana*, los huevos fueron adquiridos en Zoofarma®, Lima, Perú. Luego se planificaron las circunstancias óptimas para que eclosionen los quistes y así obtener individuos de estadio nauplio II (Iannacone *et al.*, 2016).

Los crustáceos isópodos *E. braziliensis* se obtuvieron de la playa Venecia (12°13'52" LS; 76°58'30" LW), Villa El Salvador, Lima, Perú, entre los 10 y 15 m de la línea de acarreo durante la bajamar. Se usó un nucleador siguiendo un protocolo de muestreo ya establecido (Penchaszadeh, 1971). Con una bolsa-tamiz de 500  $\mu\text{m}$  se eliminó el exceso de sedimento, y los individuos adultos (> 5 mm) fueron separados con sumo cuidado. Luego fueron llevados al laboratorio para su aclimatación en un acuario rectangular con 10 L de agua marina purificada (tamiz y UV), con aireación constante y mantenida a una temperatura de  $17 \pm 1$  °C. Cada dos días los individuos fueron alimentados con levadura a  $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  y el recambio de agua se realizó con la misma frecuencia.

La recolecta del crustáceo anfípodo *A. grandicornis* fue realizada en la playa San Bartolo (12°23'40,34" LS, 76°46'27,17" LW), Lima, Perú. La extracción de los individuos se realizó manualmente con la separación de *Ulva* sp. del intermareal rocoso marino. Posteriormente, se colocaron en recipientes plásticos de 2,5 L de aforo y fueron llevados al laboratorio para su debido acomodo.

### Fármacos

Se utilizó el antibiótico a base de oxitetraciclina (OX) (Tetrasona® 500 mg, Medifarma SA.) con una masa molecular de  $460,434 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , un  $\log K_{ow} = -0,90$  y CAS = 79-57-2, y el ansiolítico a base de alprazolam (AL) (Xanax® XR 0,5 mg, Pfizer) con una masa molecular de  $315,713 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , un  $\log K_{ow} = 2,12$  y CAS = 28981-97-7, ambos adquiridos en una farmacia certificada en el distrito de Santiago de Surco, Lima, Perú.



## Bioensayos ecotoxicológicos

Se realizaron bioensayos utilizando a los microcrustáceos *A. franciscana*, *E. braziliensis* y *A. grandicornis*. Para *A. franciscana* fueron distribuidos aleatoriamente diez nauplios de estadio II en cada recipiente de 25 mL de aforo con 20 mL de disolución y en cada una de las cuatro repeticiones. Los nauplios II no se alimentaron en el transcurso del ensayo biológico. Los individuos de *Artemia franciscana* fueron expuesto a OX, cuyas concentraciones fueron 312, 625, 1250, 2500 y 5000 mg de ia (ingrediente activo) L<sup>-1</sup>; *E. braziliensis* expuesta a OX de concentraciones 0,312, 0,625, 1,25, 2,50 y 5,00 mg de ia L<sup>-1</sup> y *Apohyale grandicornis* fue expuesto a AL a concentraciones de 0,625, 1,25, 2,5, 5 y 10 mg de ia L<sup>-1</sup>.

Se contabilizó el número de organismos vivos y muertos en cada una de las disoluciones a las 24 y 48 h de exposición. Los bioensayos fueron valederos al seguir el criterio de Caja-Molina e Iannacone (2021). Por otro lado, se usó para estimar de mortalidad la ausencia de movimiento a los 15 s de inspección a microscopía binocular. Antes de efectuar las lecturas se agitaron los envases en forma circular para reactivar el movimiento de los organismos que se quedaron inmóviles en el fondo (Sotelo-Vásquez e Iannacone, 2019).

## Análisis de datos

Para los ensayos agudos de toxicidad se implementó un protocolo de tipo experimental, utilizando un diseño en bloque completamente aleatorio (DBCA):

seis x cuatro, es decir, cinco concentraciones tanto para OX como AL y adicionalmente un control con cuatro repeticiones. Para evaluar las disimilitudes entre los tratamientos y entre las repeticiones se utilizó el análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías y, de presentar efectos significativos, se usó la prueba a posteriori de Tukey. También, se determinaron los valores de concentración más baja con efecto observado (LOEC) y concentración sin efecto observado (NOEC) para cada producto en base a la prueba de comparación múltiple de Tukey (Sotelo-Vásquez e Iannacone, 2019). Por otro lado, para ajustar los cálculos de la mortalidad (% M) en el caso del control fue usada la fórmula de Schneider-Orelli (Alegre *et al.*, 2017). La CL<sub>50</sub> (concentración letal media) fue calculada mediante el programa informático USEPA-Probit versión 1,5.

Los valores de toxicidad aguda en base a la CL<sub>50</sub> (mg·L<sup>-1</sup>) en organismos no destinatarios fueron clasificados en cinco clases ecotoxicológicas según Zucker (1985) en: CL<sub>50</sub> < 0,1 (altamente tóxico); 0,1 < CL<sub>50</sub> < 1 (muy tóxico); 1 < CL<sub>50</sub> < 10 (moderadamente tóxico); 10 < CL<sub>50</sub> < 100 (ligeramente tóxico) y CL<sub>50</sub> > 100 (prácticamente no tóxico). Se determinaron los PNEC (concentración esperada sin efecto) en base a lo señalado por Caja-Molina e Iannacone (2021) que emplean para bioensayos agudos un factor conservador de 1.000. En el caso de los PEC (concentración ambiental esperada) de usaron los valores propuestos por Batt *et al.* (2016) para AL y por Helwig *et al.* (2016) para OX. Los CR (cocientes de riesgos) se determinaron de la relación entre el PEC/PNEC, si este es mayor a 1 entonces

existe riesgo ecológico acuático por el producto farmacéutico sobre la especie de invertebrado acuático.

## Resultados

### Oxitetraciclina (OX)

Los %M de *A. franciscana* aumentaron con cada una de las concentraciones crecientes de OX a 24 y 48 h de exposición. Se observó en *A. franciscana* que, a 48 h de exposición, la  $CL_{50}$  de OX fue 31 % más sensible al equiparar con las 24 h de exposición (**tabla 1**). Se notó un incremento en la sensibilidad de los estimadores de NOEC y LOEC entre 24 h y 48

h exposición. A 24 h y 48 h de exposición la OX fue considerada prácticamente no tóxica y no se observó riesgo ecológico sobre *A. franciscana*. En cuanto al bioensayo de *E. braziliensis* expuesto a OX, los valores de las lecturas a 24 h y 48 h presentaron un %M que aumentó a medida que las concentraciones incrementaron. Se observó en *E. braziliensis* que, a 48 h de exposición, la  $CL_{50}$  de OX fue 93 % más sensible al equiparar con las 24 h de exposición (**tabla 2**). Se notó un aumento en la toxicidad de los valores de NOEC y LOEC con el tiempo de exposición (**tabla 2**). A 24 h y 48 h de exposición la OX fue considerada moderadamente tóxica y no se observó riesgo ecológico sobre *E. braziliensis*.

**Tabla 1.** Bioensayos con oxitetraciclina (OX) sobre *Artemia franciscana* a 24 y 48 h de exposición

Concentración (mg ia·L <sup>-1</sup> )	24 h		48 h	
	%M	Sig.	%M	Sig.
Control	0	a	0	a
312	0	a	10,26	Ab
625	2,56	a	25,54	B
1250	94,87	b	97,44	C
2500	97,44	b	100	C
5000	100	B	100	C
CL <sub>50</sub> (Inferior-superior)	1023,84 (807,04-1298,87)		778,93 (549,74-1103,67)	
H`/ p	19,20/ 0,002		20,34/ 0,001	
R <sup>2</sup>	0,81		0,84	
NOEC	625		312	
LOEC	1250		625	
Clase ecotoxicológica*	Prácticamente no tóxica		Prácticamente no tóxica	
PNEC	1,023		0,77	
PEC	0,00022		0,00022	
CR (PEC/PNEC)	0,00021		0,00028	
Riesgo ecológico	No		No	

CL<sub>50</sub> = concentración letal media. %M= porcentaje de mortalidad. LOEC: concentración más baja de efectos observables. NOEC: concentración de efectos no observables. H` = valor de Kruskall-Wallis. p = significancia. R<sup>2</sup> = coeficiente de determinación para regresión lineal para la estimación de la CL<sub>50</sub>. \*Clases ecotoxicológicas según Zucker (1985). PNEC = concentración esperada sin efecto. PEC = concentración ambiental esperada tomada de Helwig *et al.* (2016). CR = cociente de riesgo ecológico acuático. CR > 1 = Si hay riesgo ecológico. CR < 1 = no hay riesgo ecológico.

**Nota:** elaboración de los autores.



**Tabla 2.** Bioensayos con oxitetraciclina (OX) sobre *Excirolana braziliensis* a 24 y 48 h de exposición

Concentración (mg ia·L <sup>-1</sup> )	24 h		48 h	
	%M	Sig.	%M	Sig.
Control	0	a	0	a
0,312	15,38	ab	15,79	ab
0,625	28,21	b	28,95	b
1,25	23,08	b	42,11	bc
2,50	23,08	b	78,99	bc
5,00	89,47	c	100	c
CL <sub>50</sub> (Inferior-superior)	2,53 (1,36-4,72)		1,31 (0,8-2,14)	
H' / p	15,33/ 0,007		20,79/ 0,0008	
R <sup>2</sup>	0,57		0,97	
NOEC	0,312		0,312	
LOEC	0,625		0,625	
Clase ecotoxicológica*	Moderadamente tóxica		Moderadamente tóxica	
PNEC	0,00253		0,00131	
PEC	0,00022		0,00022	
CR (PEC/PNEC)	0,086		0,16	
Riesgo ecológico	No		No	

CL<sub>50</sub> = concentración letal media. %M= porcentaje de mortalidad. LOEC: concentración más baja de efectos observables. NOEC: concentración de efectos no observables. H' = valor de Kruskal-Wallis. p = significancia. R<sup>2</sup> = coeficiente de determinación para regresión lineal para la estimación de la CL<sub>50</sub>. \*Clases ecotoxicológicas según Zucker (1985). PNEC = Concentración Esperada Sin Efecto. PEC = concentración ambiental esperada tomada de Helwig *et al.* (2016). CR = Cociente de Riesgo ecológico acuático. CR = Cociente de Riesgo ecológico acuático. CR > 1 = Si hay riesgo ecológico. CR < 1 = no hay riesgo ecológico.

**Nota:** elaboración de los autores.

Los resultados muestran que *Excirolana braziliensis* fue 405 veces más susceptible a la OX que *A. franciscana* a 24 h de exposición y 595 veces más susceptible a 48 h de exposición con base al valor de la CL<sub>50</sub>.

### Alprazolam (AL)

Se observó una tendencia al aumento del %M de *A. grandicornis* a medida que la concentración de AL incrementó a las 24 h y 48 h de exposición. En las primeras 24 h, el %M de *A. grandicornis* no cambió

drásticamente hasta 10 mg ia·L<sup>-1</sup>. A las 48 h de exposición, desde 2,5 mg ia·L<sup>-1</sup>, el % M de *A. grandicornis* fue estadísticamente diferente al control. Se observó en *A. grandicornis* que, a 48 h de exposición, la CL<sub>50</sub> de AL fue 69 % más sensible en comparación a las 24 h

de exposición (**tabla 3**). Se vio un aumento en la toxicidad de los valores de NOEC y LOEC con el tiempo de exposición. A 24 h y 48 h de exposición el AL fue considerado moderadamente tóxico y no se observó riesgo ecológico sobre *A. grandicornis*

**Tabla 3.** Bioensayos con alprazolam (AL) sobre *Apothyale grandicornis* a 24 y 48 h de exposición

Concentración (mg ia·L <sup>-1</sup> )	24 h		48 h	
	%M	Sig.	%M	Sig.
Control	0	a	0	A
0,625	5	a	16,67	A
1,25	2,5	a	5,56	A
2,5	5	a	50,00	B
5	10	a	91,67	B
10	95	b	100	C
CL <sub>50</sub> (Inferior-superior)	8,24 (5,37-12,63)		2,56 (1,72-3,80)	
H' / p	10,57/ 0,02		18,47/ 0,002	
R <sup>2</sup>	0,59		0,83	
NOEC	5		1,25	
LOEC	10		2,5	
Clase ecotoxicológica*	Moderadamente tóxica		Moderadamente tóxica	
PNEC	0,00824		0,00256	
PEC	0,000103		0,000103	
CR (PEC/PNEC)	0,0125		0,0402	
Riesgo ecológico	No		No	

CL<sub>50</sub> = Concentración letal media. %M= porcentaje de mortalidad. LOEC: concentración más baja de efectos observables. NOEC: concentración de efectos no observables. H' = valor de Kruskal-Wallis. p = significancia. R<sup>2</sup> = coeficiente de determinación para regresión lineal para estimación de la CL<sub>50</sub>. \*Clases ecotoxicológicas según Zucker (1985). PNEC = concentración esperada sin efecto. PEC = concentración ambiental esperada tomada de Batt *et al.* (2016). CR = cociente de riesgo ecológico acuático. CR > 1 = Si hay riesgo ecológico. CR < 1 = no hay riesgo ecológico.

**Nota:** elaboración de los autores.

**Tabla 4.** Bioensayos con diferentes modelos biológicos a diversos tiempos de exposición con Oxitetraciclina (OX)

Taxón	Organismo acuático	Tiempo de exposición (h)	CL <sub>50</sub> /CE <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	Referencia
Crustacea	<i>Daphnia magna</i>	48	669	Kolar <i>et al.</i> (2014)
Crustacea	<i>Daphnia magna</i>	48	>250	Ji <i>et al.</i> (2012)
Crustacea	<i>Moina macrochaeta</i>	48	>250	Ji <i>et al.</i> (2012)
Crustacea	<i>Daphnia magna</i>	48	0,17	Machado <i>et al.</i> (2016)
Crustacea	<i>Thamnocephalus platyurus</i>	24	25	Ji <i>et al.</i> (2012)
Crustacea	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	48	17,08	Freitas <i>et al.</i> (2018)
Crustacea	<i>Artemia parthenogenetica</i>	24	871	Ferreira <i>et al.</i> (2007)
Crustacea	<i>Artemia parthenogenetica</i>	48	806	Ferreira <i>et al.</i> (2007)
Crustacea	<i>Artemia franciscana</i>	24	923	Iannacone <i>et al.</i> (2016)
Crustacea	<i>Artemia franciscana</i>	48	763	Iannacone <i>et al.</i> (2016)
Crustacea	<i>Artemia franciscana</i>	24	1023,84	Presente estudio
Crustacea	<i>Artemia franciscana</i>	48	778,93	Presente estudio
Crustacea	<i>Excirologa braziliensis</i>	24	2,53	Presente estudio
Crustacea	<i>Excirologa braziliensis</i>	48	1,31	Presente estudio
Rotifera	<i>Brachionus calyciflorus</i>	24	34,21	Ji <i>et al.</i> (2012)
Invertebrado	<i>Hydra attenuata</i>	96	50	Ji <i>et al.</i> (2012)
Echinodermata	<i>Paracentrotus lividus</i>	15 min	12	Gharred <i>et al.</i> (2016)
Pisces	<i>Danio rerio</i>	72	127,6	Oliveira <i>et al.</i> (2013)
Pisces	<i>Danio rerio</i>	96	<1000	Isidosi <i>et al.</i> (2015)
Pisces	<i>Oryzias latipes</i>	48	215,4	Park & Choi (2008)
Pisces	<i>Oryzias latipes</i>	96	110,1	Park & Choi (2008)
Pisces	<i>Oreochromis niloticus</i>	48	6,92	Machado <i>et al.</i> (2016)
Algae	<i>Tetraselmis chuii</i>	96	11,18	Ferreira <i>et al.</i> (2007)
Algae	<i>Anabaena flos-aque</i>	72	2,7	Kolar <i>et al.</i> (2014)

Taxón	Organismo acuático	Tiempo de exposición (h)	CL <sub>50</sub> /CE <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	Referencia
Algae	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	72	1,04	Kolar <i>et al.</i> (2014)
Plantae	<i>Lemna minor</i>	7 d	0,001	Pedrosa <i>et al.</i> (2020)
Plantae	<i>Lemna minor</i>	7 d	0,68	Machado <i>et al.</i> (2016)
Plantae	<i>Lemna gibba</i>	7 d	1,01	Ji <i>et al.</i> (2012)
Bacteria	<i>Vibrio fischeri</i>	30 min	121,01	Ji <i>et al.</i> (2012)

CL<sub>50</sub> = Concentración letal media, CE<sub>50</sub> = Concentración efectiva media.

**Nota:** elaboración de los autores.

La **tabla 4** nos muestra bioensayos con dieciocho especies biológicas pertenecientes a ocho taxones diferentes a varios tiempos de exposición con OX.

## Discusión

### Oxitetraciclina (OX)

Se observó en *A. franciscana* que, a 48 h de exposición, la CL<sub>50</sub> (778,93 mg·L<sup>-1</sup>) de OX fue 31 % más susceptible al equiparar con las 24 h de exposición (1023,84 mg·L<sup>-1</sup>). Los bioensayos con dieciocho especies biológicas pertenecientes a ocho taxones diferentes a varios tiempos de exposición con OX, muestran que *Plantae* y *Algae* presentaron alta sensibilidad a la OX en comparación a los *Pisces*. *A. franciscana* estuvo entre las especies menos sensibles a la OX y *E. braziliensis* entre las más sensibles a este fármaco. Iannacone *et al.* (2016) encontraron que la CL<sub>50</sub> evaluada para OX en *A. franciscana* fue de 923 mg·L<sup>-1</sup> a las 24 h y 763 mg·L<sup>-1</sup> a las 48 h exposición, siendo estos valores cercanos a los hallados en el presente

trabajo. *Artemia parthenogenetica* a 24 h y 48 h de exposición presentó el mismo rango de sensibilidad a la OX que *A. franciscana*. Sin embargo, los crustáceos cladóceros como *Daphnia*, *Moina* y *Ceriodaphnia*; y el brachiopodo *Thamnocephalus* presentaron una mayor sensibilidad a la OX en un rango de 0,17 a 669 mg·L<sup>-1</sup>. Otras especies de macrófitas acuáticas como *Lemna minor* y *L. gibba*, microalgas como *Tetraselmis chui*, *Anabaena flos-aque* y *Pseudokirchneriella subcapitata* y los peces como *Danio rerio*, *Oryzias latipes* y *Oreochromis niloticus* fueron mucho más sensibles a la OX en comparación a *A. franciscana* (**tabla 4**).

A 24 h y 48 h de exposición la OX fue considerada prácticamente no tóxica y no se observó riesgo ecológico sobre la especie zooplanctónica *A. franciscana*. Los ensayos de toxicidad con *A. franciscana* con OX tienen la ventaja de ser repetibles, rápidos y fácilmente interpretados, y al formar parte del zooplancton están en el centro de la cadena trófica (Ntungwe *et al.*, 2020). Los organismos acuáticos como *A. franciscana* que forman parte de la

comunidad del zooplancton se han utilizado ampliamente para evaluar la contaminación ambiental debido a su importancia ecológica y económica, y por su diversidad morfológica, fisiológica y ecológica en los hábitats acuáticos, e inclusive una mayor sensibilidad a los tóxicos (Kolarova y Napiórkowski, 2021). La OX puede ocasionar efectos inmunológicos como la disminución de la activación de los fagocitos, en la activación de las células hematopoyéticas, lisozimas y ciclooxigenasas en los invertebrados acuáticos (Matozzo, 2014). Nuestros resultados evidencian una alta tolerancia de *A. franciscana* a la OX, y por ende es prácticamente no tóxica y no se evidencia un riesgo ecológico. Opuestamente, otras investigaciones muestran que la OX en bioensayos de toxicidad evidencian un riesgo ecológico, al emplear la cianobacteria *Anabaena cylindrica*, con un valor de NOEC a 144 horas de exposición como punto final más sensible y un factor de aplicación de 10 (Kolar *et al.*, 2014).

El uso del producto farmacéutico OX ha ido en aumento a nivel mundial y se utiliza ampliamente en salud humana, veterinaria y en acuicultura, por lo que puede provocar un riesgo potencial alto en las aguas residuales, y en menor nivel en los sedimentos (Kolar *et al.*, 2014; Lesser *et al.*, 2018; Parente *et al.*, 2018; Pedrosa *et al.*, 2020), y se atribuye esta contaminación a una alta solubilidad del OX en agua, lo que permite una mayor biodisponibilidad y por ende ocasiona una mayor toxicidad en la biota expuesta a este fármaco. No todos los antibióticos en los ámbitos acuáticos ocasionan el mismo daño latente a los seres vivos (Välitalo, 2017; Carusso *et al.*, 2018) y

por ello es vital seguir realizando ensayos ecotoxicológicos con diversas especies acuáticas (Haman *et al.*, 2015).

Se ha observado en *E. braziliensis* que a 24 h y 48 h de exposición la OX fue considerada moderadamente tóxica, aunque no se presenta riesgo ecológico sobre *E. braziliensis*. Este crustáceo fue 405 veces más sensible a la OX que *A. franciscana* a 24 h de exposición y 595 veces más susceptible a 48 h de exposición con base al valor de la  $CL_{50}$ , y al ser equiparado con otros modelos biológicos que incluyen crustáceos, peces, microalgas y bacterias evaluados con OX demostró una alta sensibilidad a este fármaco. Solo las macrófitas acuáticas como *L. minor* y *L. gibba* fueron ligeramente más sensibles a la OX en comparación a *E. braziliensis*. Sin embargo, comparar la sensibilidad de *E. braziliensis* con otras especies biológicas del ambiente acuático que presentan datos publicados en la literatura científica pudiera depender de otros factores como: i) las diferencias en la duración de cada prueba y el análisis estadístico, ii) los taxones biológicos empleados, iii) los protocolos de cada especie ensayada y iv) la falta de criterios claros de validez demostrables en las pruebas de toxicidad en base a las normativas internacionales. De igual forma, muy pocos estudios analizan y discuten la disminución de la concentración del agente antimicrobiano OX al culminar la prueba y tampoco documentan las concentraciones reales utilizadas para los cálculos de los puntos finales de toxicidad (Ji *et al.*, 2012; Kolar *et al.*, 2014).

## Alprazolam (AL)

A 24 h y 48 h de exposición el AL fue considerado moderadamente tóxico, aunque no se presenta riesgo ecológico sobre el crustáceo bentónico *A. grandicornis*. No existe a la fecha información ecotoxicológica publicada con AL en diferentes especies acuáticas como invertebrados, microalgas o peces (Cunha *et al.*, 2017; 2019). Sin embargo, se ha evaluado el índice mitótico en la cebolla *Allium cepa* L., el cual disminuyó a una concentración de 500  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de AL (Nefic *et al.*, 2013).

Según el Ministerio de Salud del Perú (MINSA, 2021), se estima que, en los primeros cinco meses del 2021, se han atendido más de 156 mil casos de ansiedad y 77 mil casos de depresión, cifra que podría ir en aumento en los siguientes años, teniendo en cuenta que en muchas farmacias la venta de AL y otros BZD se hace sin prescripción médica lo que conlleva a la automedicación. El AL es la quinta BZD más frecuentemente encontrada en aguas residuales domésticas, industriales y de hospitales en varios países americanos (Jelic *et al.*, 2015; Cunha *et al.*, 2017). Pese a ser un grupo importante de fármacos, no existen suficientes estudios que enfrenten las BZD a los organismos acuáticos, especialmente el AL.

La virtual transferencia de estos dos productos farmacéuticos (OX y AL) persistentes a niveles tróficos superiores (peces, anfibios, aves y mamíferos) tienden a acumularse en la red trófica retornando a los seres humanos con efectos aún desconocidos a largo plazo, por lo que sus efectos tóxicos (incluido el posible

riesgo para los seres humanos) requiere de una investigación urgente. Pueden ser necesarias medidas de mitigación de riesgos para evitar la introducción de estos productos farmacéuticos en el contexto acuático (Mesa *et al.*, 2018). Este tópico del efecto tóxico de productos farmacéuticos en organismos acuáticos debe investigarse en condiciones más realistas utilizando sistemas de ensayos de nivel superior, como los microcosmos o preferiblemente los sistemas de mesocosmos al aire libre, en los que se monitorean los impactos a amplios plazos y la recuperación de la biota al enfrentarse al tóxico (Mesa *et al.*, 2018).

## Conclusiones

Se emplearon de tres microcrustáceos bioindicadores *A. franciscana*, *E. braziliensis* y *A. grandicornis* en ensayos ecotoxicológicos a 48 h de exposición con base a la  $CL_{50}$ , NOEC y LOEC con el fin de determinar la clase ecotoxicológica y el riesgo ecológico acuático por los productos farmacéuticos OX y AL. La OX fue valorada según la clase ecotoxicológica prácticamente no tóxica sobre *A. franciscana*, y moderadamente tóxica para *E. braziliensis*. El AL fue considerado moderadamente tóxico sobre *A. grandicornis*. Aunque según los valores de LOEC, a las concentraciones más altas evaluadas para OX y AL para los tres bioindicadores se observaron efectos significativos en la mortalidad, no se vio riesgo ecológico para estas tres especies acuáticas. Se requieren estrategias adecuadas de gestión ambiental para evitar la introducción de estas sustancias farmacéuticas en los ecosistemas acuáticos.



## Referencias

- Ait-Daoud, N., Hamby, A. S., Sharma, S. and Blevins, D. (2018). A review of Alprazolam use, misuse, and Withdrawal. *Journal of Addiction Medicine, 12*(1), 4-10. <https://doi.org/10.1097/ADM.0000000000000350>.
- Akbarzadeh, S., Khajesharifi, H. and Thompson, M. (2020). Simultaneous determination of Streptomycin and Oxytetracycline using a oracet-blue/silver nanoparticle/graphene-oxide/modified screen printed electrode. *Biosensors, 10*(3), 23. <https://doi.org/10.3390/bios10030023>.
- Alegre, A., Iannacone, J. y Carhuapoma, M. (2017). Toxicidad del extracto acuoso, etanólico y hexánico de *Annona muricata*, *Mintostachys mollis*, *Lupinus mutabilis*, y *Chenopodium quinoa* sobre *Tetranychus urticae* y *Chrysoperla externa*. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences, 33*(3), 273-284.
- Archer, E., Petrie, B., Kasprzyk-Hordern, B. and Wolfaardt, G. (2017). The fate of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), endocrine disrupting contaminants (EDCs), metabolites and illicit drugs in a WWTW and environmental waters. *Chemosphere, 174*, 437-446. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.101>.
- Aus der Beek, T., Weber, F. A., Bergmann, A., Hickmann, S., Ebert, I., Hein, A. and Küster, A. (2016). Pharmaceuticals in the environment-global occurrences and perspectives. *Environmental Toxicology and Chemistry, 35*, 823-835. <https://doi.org/10.1002/etc.3339>.
- Batt, A. L.; Kincaid, T. M.; Kostich, M. S.; Lazorchak, J. M. and Olsen, A. R. (2016). Evaluating the extent of pharmaceuticals in surface waters of the united states using a national-scale rivers and streams assessment survey. *Environmental Toxicology and Chemistry, 35*, 874-881. <https://doi.org/10.1002/etc.3161>.
- Cáceres-del Carpio, F.A. y Iannacone, J. (2021). Evaluación del riesgo ambiental de los insecticidas fipronil e imidacloprid en el camarón de río (*Cryphiops caementarius*). La Granja: *Revista de Ciencias de la Vida, 33*, 103-113. <http://doi.org/10.17163/lgr.n33.2021.09>.
- Caja-Molina, A. V. y Iannacone, J. (2021). Evaluación del riesgo ambiental por petróleo crudo en las especies acuáticas *Lemna minor*, *Daphnia magna* y *Danio rerio*. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 45* (176), 777-794. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1398>.
- Canals, M. y Cáceres, D. (2020). *Una salud: conectando la salud humana, animal y ambiental*. *Cuadernos Médicos Sociales, 60*, 9-18. <http://cms.colegiomedico.cl/wp-content/uploads/2020/05/CMS12020EspecialPandemia.pdf#page=11>.

- Carusso, S., Juárez, A. B., Moretton, J. and Magdaleno, A. (2018). Effects of three veterinary antibiotics and their binary mixtures on two green alga species. *Chemosphere* 194, 821–827. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.047>.
- Cunha, D. L., Goytacazes, F. and Marques, M. (2017). Psychoactive drugs: occurrence in aquatic environment, analytical methods, and ecotoxicity: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 24076–24091. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0170-4>.
- Cunha, D. L., Mendes, M. P. and Marques, M. (2019). Environmental risk assessment of psychoactive drugs in the aquatic environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 78–90. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3556-z>.
- Dellafredad, C. e Iannacone, J. (2021). Efecto ecotoxicológico de la mezcla de Aroclor 1254 y plomo en el bioindicador *Daphnia magna*. *Revista Lasallista de Investigación*, 18, 144–161. <https://doi.org/10.22507/rli.v18n2a11>.
- Ebele, A. J., Abdallah, M. A. E. and Harrad, S. (2017). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging Contaminants*, 3, 1–16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.emcon.2016.12.004>.
- Ferreira, C. S. G., Nunes, B. A., Henriques-Almeida, J. M. M. and Guilhermino, L. (2007). Acute toxicity of oxytetracycline and florfenicol to the microalgae *Tetraselmis chuii* and to the crustacean *Artemia parthenogenetica*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67(3), 452–458. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.10.006>.
- Freitas, E. C., Rocha, O. and Espíndola, E. L. G. (2018). Effects of florfenicol and oxytetracycline on the tropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*: A mixture toxicity approach to predict the potential risks of antimicrobials for zooplankton. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 162, 663–672. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.073>.
- Charred, T., Jebali, J., Belgacem, M., Mannai, R. and Achour, S. (2016). Assessment of the individual and mixture toxicity of cadmium, copper and oxytetracycline, on the embryo-larval development of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 18064–18072. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6988-3>.
- Giusto, A. (2015). *Efectos de la contaminación por metales pesados sobre anfípodos de agua dulce y su aplicación en estudios de toxicidad de sedimentos* [Tesis de doctorado]. Universidad de Buenos Aires. Repositorio Institucional UBA. [https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis\\_n5691\\_Giusto.pdf](https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n5691_Giusto.pdf).
- Gunnarsson, L., Snape, J. R., Verbruggen, B., Owen, S. F., Kristiansson, E., Margiotta-Casaluci, L., Österlund,

- T., Hutchinshon, K., Leverett, D., Marks, B. and Tyler, C. R. (2019). Pharmacology beyond the patient—The environmental risks of human drugs. *Environment international*, 129, 320–332. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.04.075>.
- Haman, C., Dauchy, X., Rosin, C. and Muñoz, J. F. (2015). Occurrence, fate and behavior of parabens in aquatic environments: a review. *Water Research*, 68, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.09.030>.
- Helwig, K., Hunter, C., McNaughtan, M., Roberts, J., & Pahl, O. (2016). Ranking prescribed pharmaceuticals in terms of environmental risk: inclusion of hospital data and the importance of regular review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35, 1043–1050. <https://doi.org/10.1002/etc.3302>
- Iannacone, J. J., Alvariño, L., Valle Riestra, V., Ymaña, B., Argota, G., Fimia, F., Carhuapoma, M. y Castañeda, L. (2016). Toxicidad de agentes antiparasitarios, antimicrobianos e insecticidas sobre larvas del camarón salino *Artemia franciscana* (Crustacea: Artemiidae). *Revista de Toxicología*, 33, 31–38. <http://rev.aetox.es/wp/wp-content/uploads/2016/06/Artemia-franciscana-.pdf>.
- Isidosi, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Pascarella, L. and Parella, A. (2005). Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Science of the Total Environment*, 346, 87–98. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.11.017>.
- Jelic, A., Rodriguez-Moza, S., Barceló, D. and Gutierrez, O. (2015). Impact of in-sewer transformation on 43 pharmaceuticals in a pressurized sewer under anaerobic conditions. *Water Research*, 68, 98–108. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.09.033>.
- Ji, K., Kim, S., Han, S., Seo, J., Lee, S., Park, Y., Choi, K., Kho, Y.L., Kim, P.G., Park, J. and Choi, K. (2012). Risk assessment of chlortetracycline, oxytetracycline, sulfamethazine, sulfathiazole, and erythromycin in aquatic environment: are the current environmental concentrations safe? *Ecotoxicology*, 21, 2031–2050. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0956-6>.
- Jiménez, P., Hachero, I. y Guerra, J. (2015). Importancia de los anfípodos en la dieta de especies de interés acuícola del litoral Andaluz. *Zoologica Baetica*, 26, 3–29. <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/45394/v26a1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Kohler, S. A., Parker, M. O. and Ford, A. T. (2018). Species-specific behaviours in amphipods highlight the need for understanding baseline behaviours in ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*, 202, 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.07.013>.
- Kolar, B., Arnus, L., Jeretin, B., Gutmaher, A., Drobne, D. and Durjava, M. K. (2014). The toxic effect of oxytetracycline and trimethoprim in the aquatic

- environment. *Chemosphere*, 115, 75-80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.02.049>.
- Kolarova, N. and Napiórkowski, P. (2021). Trace elements in aquatic environment. Origin, distribution, assessment and toxicity effect for the aquatic biota. *Ecohydrology & Hydrobiology*, 21, 655-668. <https://doi.org/10.1016/j.ecohyd.2021.02.002>.
- Kovacevic, A., Latombe, G. and Chown, S.L. (2019). Rate dynamics of ectotherm responses to thermal stress. *Proceedings of the Royal Society, B*, 286, 20190174. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2019.0174>.
- Lesser, L. E., Mora, A., Moreau, C., Mahlknecht, J., Hernández-Antonio, A., Ramírez, A. I., and Barrios-Piña, H. (2018). Survey of 218 organic contaminants in groundwater derived from the world's largest untreated wastewater irrigation system: Mezquital Valley, Mexico. *Chemosphere*, 198, 510-521. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.154>.
- Losada-Tourinho, J., Márquez, A., Celentano, E. and Defeo, O. (2016). A new evolutionary unit in the *Excirrolana braziliensis* species complex. *Brazilian Journal of Oceanography*, 64, 197-201. <https://doi.org/10.1590/S1679-87592016116906402>.
- Luján-Facundo, M. J., Iborra-Clar, M. I., Mendoza-Roca, J. A. and Alcaina-Miranda, M. I. (2019). Pharmaceutical compounds removal by adsorption with commercial and reused carbon coming from a drinking water treatment plant. *Journal of Cleaner Production*, 238, 117866. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.117866>.
- Luykx, J. J., van Veen, S. M. P., Risselada, A., Naarding, P., Tjeldink, J. K. and Vinkers, C. H. (2020). Safe and informed prescribing of psychotropic medication during the COVID-19 pandemic. *The British Journal of Psychiatry*, 217, 471-474. <https://doi.org/10.1192/bjp.2020.92>.
- Machado, A. A., Américo-Pinheiro, J. H. P., Carraschi, S. P., Cruz, C., & Machado-Neto, J. G. (2016). Toxicidade aguda e risco ambiental do antibiótico oxitetraciclina para tilápia (*Oreochromis niloticus*), *Daphnia magna* e *Lemna minor*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 68, 1244-1250. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8732>
- Martínez, G., Arim, M. and Defeo, O. (2017). Distribution of the isopod *Excirrolana braziliensis* on sandy beaches of the Atlantic and Pacific Oceans. *Marine Ecology Progress Series*, 583, 137-148. <https://doi.org/10.3354/meps12333>.
- Matozzo, V. (2014). Effects of pharmaceuticals on immune parameters of aquatic invertebrates. *Invertebrate Survival Journal*, 11, 163-173. <https://www.isj.unimore.it/index.php/ISJ/article/view/317>.
- Meléndez-Marmolejo, J., García-Saavedra, Y., Galván-Romero, V., Díaz de León-

- Martínez, L., Vargas-Berrones, K., Mejía-Saavedra, J. y Flores-Ramírez, R. (2020). Contaminantes emergentes. Problemática ambiental asociada al uso de antibióticos. Nuevas técnicas de detección, remediación y perspectivas de legislación en América Latina. *Revista de Salud Ambiental*, 20, 53-61. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7535526>.
- Mesa, L.M., Hörler, J., Lindt, I., Gutiérrez, M.F., Negro, L., Mayora, G., L. Montalto, L., Ballent, M. Li andfschitz, A. (2018). Effects of the antiparasitic drug Moxidectin in cattle dung on zooplankton and benthic invertebrates and its accumulation in a water-sediment system. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 75, 316-326. <https://doi.org/10.1007/s00244-018-0539-5>.
- Mezzelani, M., Gorbi, S. and Regoli, F. (2018). Pharmaceuticals in the aquatic environments: Evidence of emerged threat and future challenges for marine organisms. *Marine Environmental Research*, 140, 41-60. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.05.001>.
- Ministerio de Salud del Perú (MINSA). (2021). *Salud mental*. <https://www.minsa.gob.pe/salud-mental/>.
- Morales-Serrato, D., Torres-Pérez, J. y Reyes-López, Y. (2020). Cuarzo natural y nanotubos de carbono como materiales adsorbentes de oxitetraciclina. *Academia Journals*, 12, 1681-1685.
- Näslund, J., Fick, J., Asker, N., Ekman, E., Larsson, D. G. J. and Norrgren, L. (2017). Diclofenac affects kidney histopathology in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) at low µg/L concentrations. *Aquatic Toxicology*, 189, 87-96. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.05.017>.
- Nefic, H., Musanovic, J., Metovic, A. and Kurteshi, K. (2013). Chromosomal and nuclear alterations in root tip cells of *Allium cepa* L. Induced by alprazolam. *Medical Archives*, 67(6), 388-392. <http://dx.doi.org/10.5455/medarh.2013.67.388-392>.
- Ntungwe, N., Domínguez-Martín, E. M.; Roberto, A., Tavares, J., Isca, V. M. S., Pereira, P., Cebola, M. J. and Rijo, P. 2020. *Artemia* species: an important tool to screen general toxicity samples. *Current Pharmaceutical Design*, 26, 2892-2908. <https://doi.org/10.2174/1381612826666200406083035>.
- Nunes, C., dos Anjos, V. and Quináia, S. (2019). Are there pharmaceutical compounds in sediments or in water? Determination of the distribution coefficient of benzodiazepine drugs in aquatic environment. *Environmental Pollution*, 251, 522-529. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.015>.
- Oliveira, R., McDonough, S., Ladewig, S. C. L., Soares, A. M. V. M., Nogueira, A. J. A. and Domingues, I. (2013). Effects of oxytetracycline and amoxicillin on development and biomarkers activities of zebrafish (*Danio rerio*).



- Environmental Toxicology and Pharmacology*, 36, 903-012. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.07.019>.
- Parente, C. E., Sierra, J. and Marít, E. (2018). Ecotoxicity and biodegradability of Oxytetracycline and Ciprofloxacin on terrestrial and aquatic Media. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry*, 10, 262-271. <http://dx.doi.org/10.17807/orbital.v10i4.1063>.
- Park, S. and Choi, K. (2008). Hazard assessment of commonly used agricultural antibiotics on aquatic ecosystems. *Ecotoxicology*, 17, 526-538. <http://dx.doi.org/10.1007/s10646-008-0209-x>.
- Pedrosa, M., Moreira, J. C., Rocha, D. C., Navarro-Silva, M. A. and Juneau, P. (2020). Individual and combined effects of amoxicillin, enrofloxacin, and oxytetracycline on *Lemna minor* physiology. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 203, 111025. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111025>.
- Peltzer, P. M., Lajmanovich, R. C., Attademo, A. M., Junges, C. M., Teglia, C. M., Martinuzzi, C., Curi, L., Culzoni, M. J. and Goicoechea, H. C. (2017). Ecotoxicity of veterinary enrofloxacin and ciprofloxacin antibiotics on anuran amphibian larvae. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 51, 114-123. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.etap.2017.01.021>.
- Penchaszadeh, P. (1971). *Observaciones cuantitativas preliminares en playas arenosas de la costa central del Perú, con especial referencia a las poblaciones de muy-muy (Emerita analoga) (Crustacea, Anomura, Hippidae)*. vol. 6. Oficina de Ciencias de la Unesco para América Latina.
- Peña-Guzmán, C., Ulloa-Sánchez, S., Mora, K., Helena-Bustos, R., López-Barrera, E., Álvarez, J. and Rodríguez-Pinzón, M. (2019). Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin America: A review of the current literature. *Journal of Environmental Management*, 237, 408-423. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.100>.
- Pérez-Lazo, G., Soto-Febres, F., Morales-Moreno, A., Cabrera-Enríquez, J. A., Díaz-Agudo, J., Rojas, R., Arenas-Ramírez, B. y Illescas, R. (2021). Uso racional de antimicrobianos en tiempos de COVID-19 en Perú: rol de los programas de optimización del uso de antimicrobianos e intervenciones desde el punto de vista de control de infecciones. *Horizonte Médico*, 21(2), e1254. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2021.v21n2.12>.
- Rahim, A. A., Sivajothy, K., Shafie, B. B., Ja'afar, N., Wongkamhaeng, K., Bussarawit, S., Alip, A. E., Yen-Ling, L., Metillo, E. B. and Won, M. E. Q. (2022). The amphipods (Crustacea: Peracarida) of southeast Asia and the neighbouring regions: an updated checklist with new records of endemic species. *Phuket Marine Biological Center Research Bulletin*, 79, 42-84. <https://doi.org/10.14456/pmbcrb.2022.2>.



- Rocha-Ramírez, A., Chávez-López, R., Antillón-Zaragoza, I. and Fuentes-Mendoza, F. A. (2016). Variación nictemeral de los ensamblajes de macrocrustáceos en una playa arenosa del centro-norte de Veracruz, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 92–100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmb.2016.01.025>.
- Rumbold, C. E. (2019). Life history of peracarid species in south-western Atlantic: Comparison of population traits between native and exotic species. *Austral Ecology*, 44, 949–961. <https://doi.org/10.1111/aec.12761>.
- Solís-González, G., Cortés-Téllez, A., Téllez-Pérez, Z. I. and Bartolomé-Camacho, M. C. (2019). Toxicidad aguda del herbicida N-(fosfometil) glicina sobre representantes planctónicos *Artemia franciscana* y *Microcystis aeruginosa*. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 22(1), 1–8. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2019.0.192>.
- Sotelo-Vásquez, D. L., and Iannacone, J. (2019). Acute toxicity of three pesticides (Butachlor, Copper oxychloride and Chlorpyrifos) on the marine benthic amphipod *Apoehyale grandicornis* (Kroyer, 1845) (Crustacea: Hyalidae). *Biotempo*, 16, 241–256. <https://doi.org/10.31381/biotempo.v16i2.2536>.
- Välitalo, P., Kruglova, A., Mikola, A. and Vahala, R. (2017). Toxicological impacts of antibiotics on aquatic micro-organisms: a mini-review. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 220(3), 558–569. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2017.02.003>.
- Veloso, V. G., Neves, G. and de Almeida, L. (2011). Sensitivity of a cirrolanid isopod to human pressure. *Ecological Indicators*, 11, 782–788. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2010.10.004>.
- Yadav, A.R., & Mohite, S.K. (2020). A review on novel Coronavirus (COVID-19). *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 11, 74–76. <http://www.ijpsr.info/docs/IJPSR20-11-05-010.pdf>.
- Yang, C, Song, G. and Lim, W. (2020). A review of the toxicity in fish exposed to antibiotics. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology*, 237, 108840. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108840>.
- Yuan, L., Yan, M., Huang, Z., He, K., Zeng, G., Chen, A. and Chen, G. (2019). Influences of pH and metal ions on the interactions of oxytetracycline onto nano-hydroxyapatite and their co-adsorption behavior in aqueous solution. *Journal of Colloid and Interface Science*, 541, 101–113. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.01.078>.
- Zucker, E. (1985). *Hazard evaluation division – Standard evaluation procedure – Acute toxicity test for freshwater fish*. USEPA publication 540/9-85-006. <https://www.epa.gov>.