

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE TECNOLOGÍAS EN SALUD
CARRERA DE SALUD AMBIENTAL**

**Determinación de la ecotoxicidad de contaminantes emergentes farmacológicos y
efluentes contaminados selectos de Costa Rica mediante la aplicación de
bioensayos durante el periodo 2019**

TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE LICENCIATURA EN SALUD AMBIENTAL

Proponente:

José Rolando Montiel Mora B34474

Comité asesor:

Director Dr. Carlos Rodríguez Rodríguez

Lector Lic. Juan Carlos Cambroneró Heinrichs

Lector M.Sc. Ricardo Alberto Morales Vargas

Tribunal examinador

Este Trabajo Final de Graduación fue aceptado en la Escuela de Tecnologías en Salud de la Universidad de Costa Rica, como requisito para optar al grado de Licenciatura en Salud Ambiental, el ... de del 2020.

Dr. Donato A. Salas Segura
Presidente

Dr. Carlos Rodríguez Rodríguez
Director

Lic. Juan Carlos Cambronero Heinrichs
Miembro de Tribunal

M.Sc. Ricardo Alberto Morales Vargas
Miembro de Tribunal

-
Miembro de Tribunal

Derechos de autor

El presente documento es una investigación científica con fines académicos para la Escuela de Tecnologías en Salud y el Centro de Investigación en Contaminación Ambiental (CICA), perteneciente a la Universidad de Costa Rica. El mismo pertenece única y exclusivamente a su autor, con las excepciones que dispone la Ley No. 6683 de Derechos de Autor y Derechos Conexos.

José Rolando Montiel Mora

Dedicatoria

“Dedico este trabajo a mi familia, a mi madre Lilliana Mora Solano que siempre ha estado conmigo, dándome su apoyo incondicional para poder terminar la carrera y que no me rindiera, que con sus palabras de apoyo me dio fuerzas para lograr terminar con éxito esta fase de mi vida. A mi padre Rolando Montiel Guevara que siempre ha estado conmigo y ha sido parte de todo este proceso y me ha dado sus consejos y apoyo a lo largo de todo este camino.

A Katherine Urbina Téllez, mi novia quien ha sido fundamental en todo este tiempo y la quien me ha visto sufrir, estresado y cansado a lo largo de la tesis, pero que con sus palabras y apoyo me animó a seguir adelante.”

Agradecimientos

A mis padres que son los pilares de mi vida y que han dado todo para que yo pueda salir adelante, estudie y sea la persona que hoy en día soy. A Kathy, por estar siempre a mi lado, por sus palabras, cariño y apoyo incondicional que me ha brindado durante todo este tiempo. A los tres por todo el apoyo que me dieron durante todo este proceso, que de no ser por ustedes no hubiera logrado avanzar y ser quien soy ahorita.

A Carlos por la confianza que medio de poder trabajar y formar parte del equipo del proyecto CEMERGE. También, por ser un ejemplo a seguir, por su paciencia y por todo el aprendizaje que obtuve durante mi trayectoria en el CICA y por el que logré cumplir un sueño en mi pasión por la investigación en un tema de importancia nacional. A Juanca, por todo lo que me enseñó, por su acompañamiento, por sus correcciones, palabras y paciencia en todo este proceso. A Ricardo, por darme el apoyo como profesor de la carrera y por toda la retroalimentación que me dio durante el desarrollo de la tesis.

Al CICA, que me abrió las puertas como asistente desde el 2015, que gracias a las oportunidades he aprendido muchísimo, me hizo disfrutar de la investigación, del trabajo en laboratorio y el trabajo de campo. Y que por ellos, logré cumplir un sueño de poder formar parte de un Centro de Investigación de la Universidad.

A Michael, Michelle y todo el laboratorio de Ecotoxicología del CICA por dejarme ser parte del equipo de LET, que sin su ayuda la tesis no se hubiera logrado. A Didier, por ser otro asesor y por toda su ayuda en el laboratorio con las muestras de fármacos, las mezclas, las muestras ambientales y residuales. Por llevarme a las giras de muestreo y por toda su colaboración en brindar y contestar todas mis preguntas para finalizar la tesis.

A Yordan, por ser compañero y mejor amigo de la U, en el que llevamos un proceso muy similar desde que entramos a la U hasta el final de nuestra defensa. Por último, a todas aquellas personas que a lo largo de todo este trabajo estuvieron en algún proceso de la tesis, que con su colaboración, conocimientos y prácticas me permitieron terminar la tesis con éxito.

Tabla de contenidos

Derechos de autor	III
Dedicatoria	IV
Agradecimientos	V
Resumen	XII
Introducción	1
Capítulo I	3
1. Planteamiento del objeto de estudio	3
1.1 Planteamiento del problema de investigación	3
1.2 Objetivos	10
1.2.1 Objetivo general	10
1.2.2 Objetivos específicos	10
1.3 Justificación	11
Capítulo II	13
2. Marco Teórico	13
2.1 Salud, ambiente y Salud Ambiental	13
2.2 Toxicología y ecotoxicología ambiental	14
2.3 Contaminantes emergentes	16
2.3.1 Tipos de contaminantes emergentes	16
2.3.1.1 Productos farmacéuticos	16
2.3.1.2 Productos de cuidado y aseo personal	18
2.3.1.3 Surfactantes	18
2.3.1.4 Drogas ilícitas	18
2.3.1.5 Retardantes de llama	19
2.4 Efectos de los contaminantes emergentes	19
2.5 Ensayos ecotoxicológicos	21
2.5.1 Ensayo de toxicidad agua en <i>Daphnia magna</i>	22
2.5.2 Ensayo de toxicidad aguda en la bacteria <i>Vibrio fischeri</i>	22
Capítulo III	24
3. Metodología	24
3.1 Diseño de la investigación	24
3.2 Población de estudio	25
3.3 Método de recolección de muestras ambientales	27
3.3.1 Descripción de efluentes y plan de muestreo	27
3.3.2 Ensayos de toxicidad aguda en <i>Daphnia magna</i>	27
3.3.3 Ensayo Microtox® para la determinación de toxicidad por medio de la bacteria <i>Vibrio fischeri</i>	28
3.3.4 Monitoreo ecotoxicológico de efluentes contaminados	28

3.3.5	Ensayo ecotoxicológico de mezclas binarias	28
3.4	Operacionalización de las variables de estudio.....	30
Capítulo IV	32
4.	Análisis y discusión de resultados	32
4.1	Ecotoxicidad de CEs farmacológicos	32
4.1.1	Ensayo de toxicidad aguda en <i>Daphnia magna</i>	32
4.1.2	Ensayo Microtox® para la determinación de toxicidad por medio de la bacteria <i>Vibrio fischeri</i>	34
4.2	Ecotoxicidad de muestras ambientales y efluentes contaminados	36
4.2.1	Muestras ambientales	36
4.2.2	Muestras contaminadas selectas	40
4.2.2.1	Muestras de afluentes y efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTARs)	40
4.2.2.2	Muestras de efluentes hospitalarios	50
4.2.2.3	Muestras de efluentes de fincas porcinas y bovinas.	58
4.3	Ecotoxicidad de mezclas binarias farmacológicas.....	70
Capítulo V	76
5.	Conclusiones.....	79
6.	Recomendaciones.....	82
7.	Referencias bibliográficas.....	84
8.	Anexos	104
	Anexo N° 1. Lugar y puntos de muestreo de muestras ambientales superficiales.	104
	Anexo N° 2. Concentraciones (µg/L) de fármacos detectados en muestras de aguas superficiales.....	106
	Anexo N° 3. Concentraciones (µg/L) de fármacos detectados en efluentes y afluentes de Plantas de Tratamientos de Aguas Residuales.....	110
	Anexo N° 4. Concentraciones (µg/L) de fármacos detectados en efluentes hospitalarios.....	117

Índice de Tablas

Tabla 1. CEs selectos para el análisis ecotoxicológico en <i>Daphnia magna</i> y Microtox®..	26
Tabla 2. Representación de mezcla binaria para <i>D. magna</i> y Microtox®	29
Tabla 3. Cuadro de operacionalización	30
Tabla 4. EC ₅₀ obtenido de estándares de CEs farmacológicos en bioensayo agudo en <i>D. magna</i> y Ensayo Microtox® para la determinación de toxicidad por medio de la bacteria <i>V. fischeri</i>	35
Tabla 5. Clasificación del nivel de toxicidad en Microtox® según el EC ₅₀ obtenido.	35
Tabla 6. Fármacos detectados con su concentración, lugar y muestreo de fuentes de aguas superficiales de la GAM.	38
Tabla 7. Sistema de clasificación de muestras ambientales	41
Tabla 8. Datos descriptivos de Plantas de tratamiento de aguas residuales muestreadas.	42
Tabla 9. Ecotoxicidad de afluentes y efluentes de PTAR reportado como EC ₅₀ y unidades tóxicas (TU) de acuerdo con los bioensayos agudos en <i>D. magna</i> y Microtox®.	43
Tabla 10. Número de detecciones de CEs en las muestras de plantas de tratamiento de aguas residuales.	47
Tabla 11. Concentración máxima (µg/L) de CEs con más de 8 detecciones en total para todos los afluentes y efluentes de Plantas de Tratamiento.....	49
Tabla 12. Datos descriptivos de hospitales muestreados.	50
Tabla 13. Ecotoxicidad de muestras hospitalarias reportado como EC ₅₀ y unidades tóxicas (TU) de acuerdo con bioensayos agudos en <i>D. magna</i> y Microtox®.....	51
Tabla 14. Cantidad de fármacos detectados en cada una de las muestras de efluentes de hospitales	53
Tabla 15. Concentración máxima y mínima (µg/L) de los fármacos con más detecciones en muestras de aguas hospitalarias.	55
Tabla 16. Concentración(µg/L) de fármacos detectados en afluente y efluente de Hosp_8	57
Tabla 17. Datos descriptivos de fincas porcinas y bovinas muestradas	58
Tabla 18. Ecotoxicidad de muestras de aguas residuales de fincas porcinas reportada como EC ₅₀ y unidades tóxicas (TU) de acuerdo con bioensayos agudos en <i>D. magna</i> y Microtox®.	60
Tabla 19. Concentración (µg/L) de fármacos detectados en Fincas porcinas.....	63

Tabla 20. Ecotoxicidad de muestras de aguas residuales de fincas bovinas reportada como EC ₅₀ y unidades tóxicas (TU) de acuerdo con bioensayos agudos en <i>D. magna</i> y Microtox®.	65
Tabla 21. Concentración (µg/L) de fármacos detectados en Fincas bovinas.....	68
Tabla 22. CEs seleccionados para el análisis ecotoxicológico en <i>D. magna</i> y Microtox® por medio de mezclas binarias.....	70
Tabla 23. Concentración inicial de compuestos individuales y mezclas para cada bioensayo en <i>D. magna</i> y Microtox®, según su mezcla.....	71
Tabla 24. EC ₅₀ (mg/L) obtenido para cada experimento según sus compuestos individuales y mezclas.	74
Tabla 25. Resultado obtenido de mezclas de binarias de CEs en ensayos <i>D. magna</i> y Microtox®.	75

Índice de Figuras

Figura 1. Número de fármacos detectados en las muestras ambientales según su lugar de muestreo.	40
Figura 2. Toxicidad (TU) de acuerdo con ensayo agudo en <i>Daphnia magna</i> en afluentes y efluentes de PTARs muestreadas durante tres épocas distintas.	45
Figura 3. Toxicidad (TU) de acuerdo con ensayo Microtox® en afluentes y efluentes de PTARs muestreadas durante tres épocas distintas.	45
Figura 4. Número de detecciones de CEs en afluentes y efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales según la época de muestreo.....	48
Figura 5. Toxicidad en TU de efluentes hospitalarios en <i>D. magna</i> (Izquierda) Microtox® (Derecha)	52
Figura 6. Número de fármacos detectados en efluentes hospitalarios según la época de muestreo.	54
Figura 7. Toxicidad en TU de efluentes de fincas porcinas en los bioensayos de <i>D. magna</i> y Microtox®.	61
Figura 8. Número de detecciones de CEs por muestreo en los efluentes de fincas porcinas.	63
Figura 9. Toxicidad en TU de efluentes de fincas bovinas en los bioensayos de <i>D. magna</i> y Microtox®.	66
Figura 10. Número de detecciones de CEs por muestreo en los efluentes de fincas bovinas.	67
Figura 11. Mezcla FLU-TRI, 1(CA) y 2(Hewlett) mezcla en <i>Daphnia magna</i> con resultado antagónico. 3(CA) y 4(Hewlett) mezcla en Microtox® con resultado sinérgico.	76
Figura 12. Mezcla TRI-KET, 1(CA) y 2(Hewlett) mezcla en <i>Daphnia magna</i> con resultado sin interacción. 3(CA) y 4(Hewlett) mezcla en Microtox® resultado antagónico.	77
Figura 13. Mezcla FLU-KET, 1(CA) y 2(Hewlett) mezcla en <i>Daphnia magna</i> resultado antagónico. 3(CA) y 4(Hewlett) mezcla en Microtox® resultado sinérgico.	78

Índice de acrónimos

AINEs:	Fármacos antiinflamatorios no esteroideos
ANOVA:	Análisis de varianza
ASADAS:	Asociaciones Administradoras de Sistemas de Acueductos y Alcantarillados Sanitarios
AyA:	Acueductos y Alcantarillados
CA:	Concentración Adición
CEs:	Contaminantes Emergentes
CE₅₀	Concentración Efectiva media
CICA:	Centro de Investigación en Contaminación Ambiental
CIMAR:	Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología
DRC:	Curva dosis respuesta
EPA:	Agencia de Protección Ambiental
FLU:	Fluoxetina
GAM:	Gran Área Metropolitana
GHS:	Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos
Hosp:	Hospitales
ITCR:	Instituto Tecnológico de Costa Rica
KET:	Ketroprofeno
LAPCO:	Laboratorio de Plaguicidas y Compuestos Orgánicos
MINAE:	Ministerio de Ambiente y Energía
OMS:	Organización Mundial de la Salud
PTARs:	Planta de Tratamiento de Aguas Residuales
TCS:	Sistema de Clasificación de Toxicidad
TRI:	Trimetropim
TU:	Unidades tóxicas
UCR:	Universidad de Costa Rica
UCREA:	Espacio Universitario de Estudios Avanzados

Resumen

El uso intensivo de los fármacos hoy en día radica a los beneficios que estos aportan a la salud pública dentro de la sociedad. No obstante, su alto consumo ha provocado la entrada de estos al ambiente y su nula regulación representan un riesgo a la salud humana y a los ecosistemas por lo que se clasifican como contaminantes emergentes (CEs). En este estudio, se determinó la ecotoxicidad de estándares de CEs farmacológicos, encontrados en muestras de aguas superficiales, aguas residuales procedentes de efluentes de PTARs, hospitales y de fincas porcinas y bovinas, a través de bioensayos agudos con *Daphnia magna* y *Vibrio fischeri* (Microtox®). Además, se evaluaron las interacciones de tres mezclas binarias de CEs farmacológicas.

En las pruebas de ecotoxicidad con compuestos individuales, se identificó el clenbuterol, 1,7-dimetilxantina y las polimixinas B y E como tóxicas para *D. magna*, a su vez las dos polimixinas y cefotaxima para *V. fischeri*, mostrando valores de EC₅₀ menores a las comúnmente encontradas en el ambiente. Nueve de los 23 compuestos analizados se observaron en las muestras superficiales y residuales, y el único compuesto con efecto tóxico en *D. magna* fue la 1,7-dimetilxantina.

Los análisis de las muestras ambientales no presentaron datos de toxicidad, a diferencia de las muestras residuales donde el 71,43% y el 66,16% del total de las muestras reportaron toxicidad para *D. magna* y Microtox®, respectivamente. Asimismo, se determinó que los efluentes de PTARs son más tóxicos que los hospitalarios en ambos indicadores. Con respecto a las PTARs se observó una disminución del EC₅₀ de los efluentes con respecto a los afluentes (95,2% de las muestras en *D. magna* y 100% para Microtox®). Además, se obtuvieron 331 detecciones de fármacos correspondientes a 28 CEs diferentes, donde el tratamiento eliminó el 43,08% de los compuestos y disminuyó la concentración del 34,87% de los fármacos. Los efluentes hospitalarios presentaron 32 fármacos con 214 detecciones y en las fincas porcinas y bovinas fueron detectados 10 CEs diferentes, con un total de 43 y 34 detecciones respectivamente. Los compuestos con más presencia en todas las muestras fueron 1,7- dimetilxantina, cafeína, acetaminofén, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno y ciprofloxacina.

Las mezclas binarias se trabajaron con tres compuestos detectados en las muestras analizadas: Trimetoprim (TRI), Ketoprofeno (KET) y Fluoxetina (FLU), a partir de los cuales

se estudiaron tres mezclas (KET- TRI), (KET, FLU) y (FLU-TRI). Las mezclas de (FLU-TRI) y (FLU-KET) mostraron antagonismo para *D. magna* y sinergismo para Microtox®. La mezcla de (KET- TRI) presentó antagonismo para Microtox® y ninguna interacción para *D. magna*.

Este trabajo es relevante ya que es uno de los pocos estudios en Costa Rica sobre el análisis ecotoxicológico de CEs farmacológicos presentes en aguas superficiales, residuales y mezclas binarias de CEs. El estudio, es un aporte a la evaluación de las condiciones ambientales y un preámbulo para realizar más investigaciones con otros CEs. Asimismo, se aportan insumos para la toma de decisiones por parte de las autoridades responsables del manejo y control de aguas residuales.

Introducción

Los contaminantes emergentes (CEs) son compuestos químicos de origen diverso, y su presencia en el ambiente ha pasado de manera inadvertida durante años (Patiño et al., 2014). Estas sustancias se encuentran distribuidas en pequeñas concentraciones en el ambiente y se han detectado en fuentes de agua potable, superficiales, subterráneas y residuales. Además, en muchos casos carecen de reglamentación en cuanto a sus parámetros permisibles en el medio natural (Gill et al., 2012).

Los CEs, grupo que incluye productos farmacéuticos, de cuidado personal, plastificantes, aditivos industriales, drogas ilícitas y compuestos químicos, entre otros, son sustancias de uso intensivo y generalizado por la población mundial. Muchos de los CEs se caracterizan por su importancia y los beneficios que cada uno de ellos ha proporcionado a la población del mundo, con la finalidad de mejorar la calidad de vida de las personas, ejemplo de ello son los antibióticos para distintas enfermedades (Carr y Neary, 2008).

A través de los años, por diversos estudios, su atención creció debido a su presencia en el ambiente, que representa un riesgo potencial sobre la salud humana y los ecosistemas (Petrovic et al., 2003). En este caso, los CEs presentes en cuerpos de agua en concentraciones bajas pueden presentar efectos en el sistema endocrino y afectar las funciones hormonales. Por ejemplo, el bisfenol A, que es usado para la producción de resinas y plásticos de empaques de alimentos y agua, el cual ha manifestado efectos hormonales en ratas (García et al., 2011).

Su uso intensivo, es uno de los principales factores que contribuyen para que los CEs entren al medio natural, por medio de fuentes como las aguas residuales urbanas no tratadas, las industriales, agrícolas y ganaderas, así como los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales y hospitalarias (Kaštelan-Macan et al., 2007). En este caso, la mayoría de las plantas de tratamiento no cuentan con mecanismos efectivos de degradación para este tipo de sustancias, por lo que el efluente final puede contener compuestos emergentes y sus metabolitos (Petrovic et al., 2003).

El aumento de CEs en cuerpos de agua y la aparición continua de nuevos contaminantes, intensifica la importancia de analizar la toxicidad de cada uno de ellos, debido a sus posibles

riesgos y la variación en las concentraciones que pueden tener principalmente en el recurso hídrico (Barceló y López de Alda, 2008).

A partir de la falta de investigaciones, surge la necesidad de realizar estudios de CE en Costa Rica, desde su detección y análisis de toxicidad. Es por ello, que la investigación se enfoca en emplear diferentes bioindicadores como ensayos ecotoxicológicos de *Daphnia magna* y *Vibrio fischeri* para evaluar la toxicidad de los contaminantes seleccionados en el estudio. Además, determinar la ecotoxicidad de los efluentes de aguas residuales de diferentes orígenes potencialmente contaminados de CE y así, establecer la relación entre la presencia de CE y las potenciales afectaciones de la mezcla de estos sobre el medio natural, que conlleva a un posible riesgo para la salud humana (Centro de Investigación en Contaminación Ambiental, 2017).

Finalmente, a partir de la relación entre Salud Ambiental y toxicología ambiental, la investigación establece la importancia de evaluar y regular diferentes peligros presentes en el ambiente que ponen en riesgo la salud pública. En este caso, el estudio ecotoxicológico de CE, de efluentes selectos del país y mezclas de fármacos, permite relacionar la presencia de CE con la toxicidad en el medio natural, y así en un mediano plazo fortalecer los sistemas de tratamiento de agua potable y residuales del país con la finalidad de disminuir un posible impacto ambiental y el riesgo para la salud humana.

Capítulo I

1. Planteamiento del objeto de estudio

En el siguiente apartado, se presenta el planteamiento del problema de la investigación, los objetivos a cumplir y la justificación del estudio a realizar para establecer de forma clara el objeto de estudio a desarrollarse.

1.1 Planteamiento del problema de investigación

El creciente aumento en el uso de CE's sean fármacos, antibióticos, productos de aseo personal, plastificantes, drogas ilícitas, medicamentos para animales entre otros tipos de sustancias, es una actividad que con el paso de los años va en crecimiento, esto por el ingreso de nuevas enfermedades, necesidades y el crecimiento de la población. Este aumento en el uso de CE's se puede observar con el ingreso de casi 50 nuevos medicamentos a la lista de medicamentos esenciales para la salud pública (Organización Mundial de la Salud, 2017).

El incremento no sólo se observa en los medicamentos para humanos. Por ejemplo, en el año 2008 en Estados Unidos ingresaron más de 700 nuevos productos químicos (Stephenson, 2009). Otro ejemplo, es en España que para el año 2014 vendió cerca de 3000 toneladas de ingrediente activo de antibióticos de uso animal (Dirección General de Salud y Seguridad Alimentaria, 2016). Para estos, junto con los fármacos humanos, la fuente de entrada al ecosistema es por medio de excretas, debido a que las sustancias no son totalmente absorbidas por el cuerpo, lo cual facilita su llegada a las aguas residuales y superficiales (Peña-Álvarez y Castillo-Alanís, 2015).

Sin embargo, durante los últimos años diferentes tipos de residuos de CE's se han encontrado en aguas y suelos en gran variedad de lugares y en concentraciones bastante bajas (Barceló y López de Alda, 2008). Es por ello que algunos de los aspectos más significativos de los CE's son la variación de composición de los vertidos, su falta de identificación como fuentes de contaminación y su afectación en el funcionamiento de los procesos en el ambiente (Ramos, 2006).

A partir de lo anterior, el interés en el estudio de los CE's va en aumento debido a su falta de regulación, el poco o nulo tratamiento para la eliminación de estos y su riesgo potencial que puede significar para el ambiente y la salud de las personas (Petrovic et al., 2003). No

obstante, la mayoría de las investigaciones sobre estas sustancias se han centrado en aguas superficiales, ya que pueden contener mayores concentraciones de contaminantes procedentes de plantas de tratamiento y son de mayor facilidad para detectar trazas de las sustancias (Stuart et al.,2012).

Las primeras evidencias y estudios de la presencia de CE's se dan durante los años 80 principalmente con antibióticos en el ambiente. El primer estudio, se basó en investigaciones anteriores para evidenciar la presencia de productos farmacéuticos en el ciclo del agua, a partir de dos rutas principales: la industrial y la doméstica incluyendo los hospitales para llegar así a las plantas de tratamiento sin un sistema de degradación adecuado. En este caso, se realizaron estudios de biodegradación a 25 fármacos, donde se observó que pueden sobrevivir a los procesos de las plantas de tratamiento. Esta investigación concluye en que se debe aumentar los estudios principalmente en biodegradación, ecotoxicidad y toxicología ambiental (Richardson y Bowron, 1985).

Desde ese entonces, los estudios sobre CE's aumentaron, por ejemplo, en Alemania en 1998 se realizó un estudio a partir de la aparición de residuos de medicamentos de diversas clases, así como de cinco metabolitos de estos. Estas sustancias se encontraron en las descargas de plantas de tratamiento de aguas residuales y en ríos debido a la eliminación incompleta de las mismas. El resultado mostró que en al menos en un efluente de la planta se detectaron más del 80% de los fármacos seleccionados a una concentración de hasta 6.3 µg/L en el caso de la carbamazepina (Ternes, 1998). En este estudio, se encontraron concentraciones bajas de los 20 medicamentos y cuatro metabolitos que se midieron en aguas de ríos y arroyos. Algunas de las sustancias halladas fueron ibuprofeno, indometacina, naproxeno, ácido clofíbrico, metoprolol y propanolol, entre otros. El estudio concluyó, que los fármacos detectados son de uso humano, y que a partir de su presencia en las aguas residuales y el tratamiento no óptimo de las plantas de tratamiento influyen en la contaminación de las aguas superficiales (Ternes, 1998).

En España, según Barceló y López de Alda (2008), se han realizado pocos estudios sobre CE's, sin embargo, se han encontrado sustancias como cloroalcanos, pesticidas, fármacos, drogas, entre otros incluyendo sus metabolitos de degradación. Un ejemplo, es el estudio que se llevó a cabo en el Río Ebro por el proyecto AQUATERRA. En este estudio se encontraron contaminantes como fármacos y plaguicidas. Además, se estima que al río llegan unos 3000 kg de fármacos y a la planta de tratamiento unas cinco veces más la

cantidad de medicamentos, por lo que la carga anual ronda entre las siete u ocho toneladas de contaminantes. Datos similares se hallaron en países como Alemania (Gros et al., 2007).

Al igual que el estudio anterior, concluye que se debe desarrollar y continuar con el desarrollo de métodos analíticos para la detección de CE. Además, realizar diversos estudios ambientales de biodisponibilidad, degradación y toxicidad con la finalidad de poder actuar y mejorar la calidad del agua, y disminuir el riesgo al ecosistema en general y a la población (Barceló y López de Alda, 2008).

Por otro lado, en el Reino Unido se realizó un estudio del riesgo potencial de los CE en el agua subterránea. Algunos de los CE encontrados son nanomateriales, plaguicidas, fármacos, productos de cuidado personal, fragancias, subproductos de tratamiento de aguas, entre otros. En este caso, los rastros encontrados son principalmente moléculas polares que durante el tratamiento de agua potable no pueden eliminarse eficazmente (Stuart et al., 2012).

Como menciona Stuart et al. (2012), las principales rutas como fuentes de contaminación son variables, van desde tierras agrícolas, parques, jardines, infraestructura urbana, descargas o fugas de desechos domésticos, aguas residuales hospitalarias e industriales y fincas pecuarias, entre otros. Todas estas se dividen en fuentes puntuales como lo son efluentes industriales, municipales, de plantas de tratamiento, excretas de animales, vertederos; y fuentes no puntuales como escorrentía agrícola y urbana, agua de lluvia, entre otros. Para el caso de esta investigación el camino que el contaminante tome se deberá principalmente a su solubilidad en agua y sus propiedades fisicoquímicas.

Asimismo, Delgado (2011) establece que ya existen algunos contaminantes presentes en el agua potable como el ibuprofeno, diclofenaco, carbamazepina o el ácido clofíbrico. Además, se ha detectado la presencia de antihipertensivos en efluentes de aguas municipales a una concentración superior a 0,017 µg/L. Algunos de ellos son atenolol, metoprolol y el propranolol (Jiménez, 2011).

Los plaguicidas o fármacos no son los únicos CE con estudios a nivel mundial, también se encuentra el grupo de drogas ilícitas y sus metabolitos. En este caso, dichas sustancias son muy recalcitrantes a la eliminación por tratamientos convencionales, por lo que se deben utilizar otros procesos de mayor costo como oxidación avanzada, ozonización, ósmosis entre otros. Procesos con los que muchas plantas de tratamiento no cuentan, por lo que las

drogas y sus metabolitos llegan a las aguas superficiales e incluso al agua potable (Pedrouzo., et al 2012). Entre los contaminantes de drogas más estudiadas están las anfetaminas, cocaína, norcocaína, metanfetamina, heroína y la morfina (Kasprzyk-Hordern et al., 2008; Van Nuijs et al., 2011).

En otros estudios se ha demostrado la presencia de aditivos industriales, de alimentos y subproductos en el ambiente. Algunos de ellos son disolventes clorados, hidrocarburos de petróleo, plastificantes entre otros (Zogorski y Squillace, 2007). Además, se han encontrado productos como el 1,4-dioxano y el tricloroetano; este último muy soluble en el agua subterránea y resistente a los procesos de biodegradación natural (Abe, 1999). En el caso de los aditivos alimentarios se han detectado edulcorantes, sacarina y sucralosa en aguas subterráneas, así como también antioxidantes alimentarios entre otros productos como los del envasado de alimentos (Buerge et al., 2009).

En cuanto a Costa Rica, se han realizado pocas investigaciones sobre el tema. El primer estudio fue elaborado por la Universidad de Toledo, junto con el Centro de Investigación en Contaminación Ambiental (CICA) y el Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología (CIMAR) de la Universidad de Costa Rica. Este reporte brinda información sobre las concentraciones de 34 fármacos y productos de cuidado personal en ríos y zonas costeras del país, incluye áreas que reciben aguas residuales tratadas y no tratadas, escorrentía urbana y rural (Spongberg et al., 2011).

Según Spongberg et al, (2011), los cinco compuestos de mayor presencia fueron doxicilina, sulfadimetoxina, ácido salicílico, triclosan y cafeína, este último con una concentración de 1.1 mg/L probablemente por la producción de café río arriba. Además, el estudio establece la similitud de resultados con otros países en cuanto a la presencia de CE's en aguas superficiales y residuales, demostrando que Costa Rica enfrenta la misma problemática.

Otro estudio realizado en el año 2014 se encargó de caracterizar el peligro de 38 antibióticos utilizados en el distrito de riego Arenal-Tempisque, en donde se desarrollan múltiples actividades agropecuarias con el uso de antibióticos como la oxitetraciclina. En este caso, al existir el riesgo de la presencia de antibióticos en las fuentes de agua los autores concuerdan que Costa Rica debe de establecer estándares explícitos de calidad de agua y un sistema de vigilancia para el uso de estas sustancias. Asimismo, de invertir en futuras

investigaciones y realizar estudios ecotoxicológicos de CE, toxicológicos y ambientales (De la Cruz et al., 2014).

Con respecto a los estudios tanto internacionales como nacionales en el campo de CE, se observan varias problemáticas como los pocos estudios, la poca o nula reglamentación, ningún país cuenta con programas de monitoreo para estas sustancias y lo que se conoce son por investigaciones específicas (Organización Mundial de la Salud, 2012). No obstante, la mayor problemática se encuentra en los sistemas de tratamiento de aguas residuales, en cuanto a la falta de procesos de eliminación de CE.

Aunado a lo anterior y en el tema de tratamiento de aguas residuales según Mora y Portuguez (2017), sólo un 22% de los efluentes tienen conexión al alcantarillado público, mientras que un 75% a tanques sépticos. Sin embargo, en el país solamente un 8% de las aguas residuales que son recolectadas por el alcantarillado o cloaca recibe tratamiento.

Para el año 2015, el Instituto de Acueductos y Alcantarillados (AyA) operaba 20 sistemas de tratamiento de aguas residuales, la empresa de Servicios Públicos de Heredia cinco, las municipalidades cinco y las Asociaciones administradoras de los Sistemas de Acueductos y Alcantarillados comunales en Costa Rica (ASADAS) diez. Además, existe un aproximado de 912 plantas de tratamiento de aguas en condominios y urbanizaciones privadas (Gobierno de la República de Costa Rica, 2017). Incluso, para el año 2015 entró en funcionamiento la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Los Tajos, que trata un 14.4% considerando el tamaño de la población a cubrir de la Gran Área Metropolitana (GAM), con la meta de alcanzar el 100% para el 2021 (Política Nacional de Saneamiento en Aguas Residuales, 2016).

Por otro lado, según Dirección de Aguas del Ministerio de Ambiente y Energía (MINAE) para el 2016 Costa Rica tenía aproximadamente 1749 puntos de vertido de aguas residuales, de los cuales 1079 se encuentran en el Río Grande de Tárcoles. Los cuatro sectores con mayores permisos de vertidos son comercio y servicios, sector agropecuario, industria y manufactura y administradores de alcantarillado.

Es por ello, que al existir pocos estudios de CE, carencia en la normativa nacional y un riesgo eminente al ecosistema y a la salud de las personas se deben de realizar estudios ecotoxicológicos sobre los CE. Razón por la cual, la presente investigación busca

determinar la ecotoxicidad de fármacos para los cuales no existen datos ecotoxicológicos disponibles, así como la toxicidad de diferentes efluentes y cuerpos de agua del país.

Por otro lado, hay diversos estudios ecotoxicológicos realizados sobre CEs, principalmente estudios sobre productos farmacéuticos, sus diversas familias y sus resultados ecotoxicológicos (Brausch et al., 2012; Santos et al., 2010). En este caso según Santos et al, (2010), en su estudio sobre aspectos ecotoxicológicos relacionados con la presencia de productos farmacéuticos en el medio acuático, los datos de ecotoxicidad crónica e información son bastantes escasos. Sin embargo, estos contaminantes pueden tener un impacto negativo en los organismos vivos, ecosistema y por último en la salud pública.

Como se ha mencionado reiteradamente, los CEs son una potencial amenaza para la salud pública. Sin embargo, es casi imposible evaluar los efectos de la exposición en la salud humana (Daughton y Ternes, 1999; Stackelberg et al., 2004). Por lo tanto, se utilizan organismos no-objetivo que poseen capacidades similares en absorber, transformar y excretar diferentes sustancias, además, de contar con receptores similares para exponer las biomoléculas a las sustancias liberadas en el ambiente y de esta forma evaluar los efectos tóxicos de los CEs (Fent. et al., 2006; Daughton y Ternes, 1999).

Lo anterior, responde a estudios realizados en animales donde se observa efectos como la feminización de peces y anfibios por la presencia de CEs en el ambiente. Otros ejemplos, son adelgazamiento de la cáscara de huevos, alteraciones de comportamiento y producción de células cancerígenas por contaminantes que dañan el sistema endocrino de las especies (Carr y Neary, 2008). Otras manifestaciones son la resistencia microbiana que puede existir en zonas donde se encuentra presencia de antibióticos (García et al., 2011).

En resumen, la presencia de CEs en cuerpos de agua, sean residuales o naturales puede aumentar por el uso creciente a estas sustancias y el aumento de la población, enfermedades y necesidades personales. Es por ello, que la investigación analizará CEs farmacológicos, mezclas binarias de fármacos y muestras ambientales contaminadas a partir de dos bioensayos agudos de toxicidad.

A partir de lo anterior se plantean las siguientes interrogantes:

¿Cuál es la toxicidad de los contaminantes emergentes presentes en las aguas de Costa Rica?

¿Cuál es la importancia para el país de analizar ecotoxicológicamente las mezclas de sustancias y muestras ambientales?

En relación a la presencia de contaminantes emergentes y su toxicidad en aguas superficiales, residuales, pecuarias, hospitalarias, entre otros efluentes ¿Cómo podrá ser la afectación o el riesgo en el ecosistema y salud de las personas?

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Determinar la ecotoxicidad de contaminantes emergentes farmacológicos selectos, de efluentes contaminados de diferentes orígenes de Costa Rica y de mezclas de fármacos presentes en los efluentes contaminados mediante bioensayos ecotoxicológicos durante el periodo 2019.

1.2.2 Objetivos específicos

Determinar la ecotoxicidad de fármacos seleccionados por medio de bioensayos de toxicidad aguda en *Daphnia magna* y Microtox®.

Identificar la ecotoxicidad de efluentes contaminados y su contenido de contaminantes emergentes que representan un riesgo para el ecosistema y la Salud Pública.

Describir la ecotoxicidad de mezclas binarias de CEs farmacológicos presentes en los efluentes contaminados a partir de bioensayos de toxicidad aguda.

1.3 Justificación

Los CE's actualmente tienen importancia a nivel mundial debido a sus efectos en el ambiente y el riesgo que pueden significar para la salud pública. Esto, por su gran aumento en el uso e introducción de CE's en el medio natural generado por diferentes actividades de la población.

A lo anterior, se le unen las faltantes que Costa Rica posee en materia de legislación, disposición y tratamiento de aguas residuales. Además, de la falta de procesos de las plantas depuradoras de agua residuales para la remoción de este tipo de contaminantes y al ingreso constante de estas sustancias al medio natural a partir de diversas fuentes.

La preocupación por el aumento de estas sustancias en el ambiente, ha provocado que los países investiguen más a fondo y promuevan propuestas de legislación, para su regulación y control. Asimismo, como se mencionó en el apartado anterior los estudios son pocos y a la fecha no existen registros o procesos para determinar la carga de CE's en fuentes de agua a nivel nacional.

La investigación pretende identificar y analizar, la ecotoxicidad de los contaminantes por sí solos, mezclas binarias y muestras de efluentes contaminados donde exista una presencia considerable de CE's.

Aunado a esto, la investigación permitirá en un futuro establecer diferentes investigaciones y estrategias para mitigar sus potenciales efectos en el ambiente. Algunas de ellas son de prevención, así como de remediación para el desarrollo de tratamientos para la eliminación de CE's. Además de una implementación de buenas prácticas pecuarias para la disminución en la aplicación y uso de estas sustancias en fincas ganaderas y agrícolas.

A partir de este estudio, se busca evidenciar la problemática del país en cuanto a la presencia de CE's en aguas residuales, por lo que su análisis ecotoxicológico es de gran importancia e interés a nivel nacional. Asimismo, estudiar la ecotoxicidad de los contaminantes, las mezclas y muestras ambientales desde una perspectiva de Salud Ambiental es de relevancia, debido a que conocer la toxicidad de estas permite tener en cuenta los riesgos a la salud que los CE's pueden significar a mediano o largo plazo.

Los resultados permitirán en un futuro, establecer la importancia de buscar medidas para remediar los cuerpos de agua con presencia de estas sustancias, mejorar los procesos de tratamiento de aguas residuales y determinar parámetros permisibles en cuanto a su presencia y toxicidad en las aguas del país.

La investigación se llevará a cabo en el CICA dentro del marco del proyecto 802-B7-A09 “Contaminantes emergentes: monitoreo y diseño de estrategias para la mitigación de su impacto ambiental” ganador del Fondo del Espacio Universitario de Estudios Avanzados (UCREA): específicamente enmarcada en el objetivo “Describir la ecotoxicidad en los efluentes contaminados durante el monitoreo a nivel nacional y las variaciones ecotoxicológicas durante los procesos de degradación de contaminantes emergentes por tratamientos biológicos y por oxidación avanzada”. Dicha temática es de importancia ya que brinda un aporte importante a la escuela en Tecnologías en Salud, a la carrera y estudiantes de Salud Ambiental en el ámbito investigativo y en el desarrollo de alianzas con centros de Investigación de la Universidad de Costa Rica.

Por último, el estudio es una generación de evidencia científica sobre la presencia de CEs en efluentes naturales y contaminados del país, en el que los resultados a mediano y largo plazo sean utilizados para investigaciones futuras. De igual forma, los datos son un preámbulo para la elaboración e implementación de estrategias nacionales, locales o regionales para la disminución del riesgo de la presencia de los CEs en el ambiente y sus posibles efectos en él y la Salud Pública.

Capítulo II

2. Marco Teórico

En este apartado, se exponen los aspectos teóricos conceptuales que, en conjunto, se relacionan y son el sustento de la presente investigación. La sección, se divide en cinco partes: la primera, describe los conceptos básicos de Salud Ambiental. La segunda se enfoca en toxicología y ecotoxicología ambiental. La tercera parte se basa en el concepto de CEs y la descripción de diferentes tipos de contaminantes. La cuarta detalla la problemática ambiental que genera por la presencia de CEs. Finalmente, la última parte presenta aspectos relacionados a los ensayos ecotoxicológicos a realizar en la investigación.

2.1 Salud, ambiente y Salud Ambiental

Para entender el concepto de Salud Ambiental se debe partir del concepto de salud y ambiente. En términos generales y según la Organización Mundial de la Salud (2006), “la salud es el estado de bienestar físico, mental y social y no solo la ausencia de afecciones y enfermedades”. Sin embargo, en la declaración de principios de la OMS se reconoce que la salud es un derecho fundamental de toda persona y que, para lograr un bienestar, es necesaria la cooperación de individuos, países e instituciones; así como contar con condiciones ambientales aptas y aplicaciones de medidas sociales y sanitarias.

No obstante, esta definición se puede complementar con la propuesta por Costa y López (2005), los cuales indican que la salud no se plantea únicamente a partir de la elección de conducta de las personas, sino también de la elección de entornos para vivir mejor o la escogencia de cambios para adaptar los entornos y facilitar las prácticas y estilos de vida saludables. A lo anterior, se unen las acciones humanas para responder a problemas en el ambiente. Por ejemplo, en el caso de la investigación, la búsqueda de acciones para disminuir la presencia y el impacto de los contaminantes emergentes en el ambiente.

Con respecto al término de ambiente, según la Ley Orgánica del Ambiente de Costa Rica, se define como, “el sistema constituido por los diferentes elementos naturales que lo integran y sus interacciones e interrelaciones con el ser humano”. Además, según Campos (2000), ambiente es todo aquello que constituye el medio natural donde se relaciona la atmósfera, hidrosfera, litosfera y biosfera, en donde también se toma en cuenta el medio

social conformado por todas las actividades realizadas por el ser humano, es decir, abarca componentes físicos, biofísicos, socioculturales, económicos, entre otros.

Al complementar los conceptos anteriores, se obtiene el término de Salud Ambiental que se introduce para satisfacer la unificación de ambas definiciones. En este caso, según la OMS el concepto más actual define Salud Ambiental como “todo aquello relacionado con los factores físicos, químicos y biológicos externos a una persona. Además, engloba todos aquellos factores que pueden incidir en la salud y se basa en la prevención de enfermedades y creación de ambientes propicios para la salud. En este concepto se excluye cualquier comportamiento no relacionado con el ambiente y con el entorno social, económico y genética”.

Dicha disciplina tiene como finalidad la prevención, control y mitigación de los factores que significan un daño importante en la salud o en el ambiente. La Salud Ambiental se puede considerar de la ciencia ecológica, en la cual se ven inmersas diferentes disciplinas como la psicología, cultura, epidemiología, ecotoxicología, sanidad ambiental, control ambiental, química e ingeniería ambiental (Campos, 2000).

Este concepto, permite establecer y aclarar que la Salud Ambiental estudia factores ambientales en los que la población se ve expuesta y pueda afectar la salud. En este caso, algunos factores ambientales relacionados a la investigación y de importancia para la salud ambiental son recurso hídrico, saneamiento, aguas residuales, contaminación ambiental, uso intensivo de productos químicos, entre otros.

2.2 Toxicología y ecotoxicología ambiental

Con base en la definición de Salud Ambiental, se puede establecer la relación entre la toxicología y ecotoxicología ambiental. Por lo que, la toxicología se define como la ciencia que identifica y cuantifica efectos negativos a organismos asociados a la exposición de agentes físicos, químicos, biológicos, entre otros (Silbergeld, 2006). Además, según Steven (2012) los efectos adversos son variables y pueden ir desde la muerte, cáncer o enfermedades en los diferentes sistemas del cuerpo.

Aunado a lo anterior, la toxicología ambiental implica el estudio “in vivo” de los parámetros, como por ejemplo. la dosis letal para sustancias en organismos o animales en el laboratorio.

En este caso, se estudia eventos y procesos clave a respuestas a las sustancias, para así identificar efectos al ambiente y los posibles a la salud humana (Meek et al., 2013).

Los estudios de toxicología son importantes porque permiten realizar investigaciones sobre el mecanismo de acción del agente o sustancia contaminante. Además, de ser útiles para la interpretación de las propiedades tóxicas de un contaminante por medio de pruebas normalizadas. Por lo que, es una ciencia interdisciplinaria que involucra a las ciencias biológicas, químicas, disciplinas de salud como la epidemiología, salud pública y ambiental, en temas de información, investigación o elaboración de métodos de análisis (Silbergeld, 2006).

En este caso, para entender la toxicología ambiental se debe tener en cuenta conceptos como la definición de toxicidad, siendo ésta la capacidad intrínseca de un agente químico en producir efectos adversos sobre un organismo. Además, de sustancias extrañas o xenobióticos definidas como aquellas sustancias extrañas para el organismo; algunos ejemplos son los fármacos, plaguicidas, sustancias químicas de origen industrial y contaminantes del ambiente en general (Holmberg et al., 2006).

Según Silbergeld (2006), la toxicología es un elemento importante de la salud ambiental y de la salud ocupacional, en este caso a partir de estudios toxicológicos se obtiene información para evaluar y regular peligros presentes en el lugar de trabajo o ambiente en general. Es por ello, que realizar estudios desde el campo de la salud ambiental en la rama de toxicología permite ser crucial en la elaboración de estrategias de prevención, así como la obtención de información sobre los peligros y el riesgo potencial que puede existir para la población humana.

Una rama de la toxicología es la ecotoxicología, definida como la ciencia que estudia la contaminación, su origen y los efectos que esta puede causar en el ecosistema y los seres vivos (Capó, 2007). Aunado a lo anterior, la ecotoxicología se caracteriza por tres parámetros fundamentales que permite llevar a cabo un diagnóstico evaluativo, estos son la determinación de la dosis del contaminante en el ambiente, la evaluación de la carga y la predicción del riesgo (Capó, 2003).

Como menciona Capó (2003) en los estudios de ecotoxicología se usan bioindicadores ambientales que permiten alertar e informar perturbaciones en el ecosistema a partir de un

contaminante; a estas especies se les denomina especies centinelas; un ejemplo de ellos son los utilizados en la presente investigación: *Daphnia magna* y *Vibrio fischeri*.

Finalmente, el objetivo principal de la ecotoxicología es aportar información sobre los peligros presentes a partir de la presencia de sustancias tóxicas naturales o antropogénicas en el ambiente. Sin embargo, lo anterior responde a que es imposible demostrar que haya ausencia de sustancias tóxicas en el medio y que la presencia de contaminantes a bajas concentraciones no produzca efecto en organismos vivos, es decir, estos dos aspectos se logran demostrar a partir de la ecotoxicología (Capó, 2003).

2.3 Contaminantes emergentes

Hoy en día, los CEs son un tema de investigación actual y constante y son sujeto de estudio de organismos dedicados a la protección de la salud pública y medio ambiente como lo son la OMS, la Agencia para la Protección del Medio Ambiente (EPA), la Comisión Europea, entre otros. Estos entes, definen los CEs como contaminantes no reconocidos o previamente desconocidos en cuanto a su presencia en el ambiente (Petrovic et al., 2003).

El impacto que pueden producir los CEs en el ambiente es un tema que se conoce poco o nada, razón por la cual, carecen de regulación en cuanto a su presencia en el medio. Otra característica, es que, al ser productos de alta demanda en producción y consumo, su entrada al medio natural es constante por lo que no necesitan ser persistentes para ocasionar daños o efectos (Petrovic et al., 2003).

2.3.1 Tipos de contaminantes emergentes

Como se ha mencionado reiteradamente existe gran variedad de tipos de CEs. Entre ellos se encuentra los productos farmacéuticos, drogas ilícitas, hormonas, productos de cuidado personal y diario vivir, aditivos industriales y de alimentos, surfactantes entre otros.

2.3.1.1 Productos farmacéuticos

Grupo de mayor preocupación entre todos los tipos de CEs, especialmente los antibióticos. Su consumo a nivel mundial es muy alto y sus cifras son toneladas al año. Por ejemplo, en la Unión Europea se dice que la cantidad de antibióticos que se consume es similar a la cantidad de plaguicidas que se utilizan (Jones et al., 2001).

Algunos ejemplos, son los estudios que han demostrado la presencia de fármacos como el diclofenaco en aguas residuales, según Richardson (2009) el naproxeno, ibuprofeno y acetaminofén en aguas residuales hospitalarias, así como también la presencia de metabolitos del ibuprofeno (Gómez et al., 2006; Buser et al., 1999). Además, en otro estudio según Ternes (1998), el atenolol, metoprolol y propranolol, todos de la familia de los beta bloqueadores, se han detectado a concentraciones de 0,017 µg/L en aguas municipales.

Los fármacos de mayor uso en medicina humana son los analgésicos, como el ibuprofeno o diclofenaco, antiepilépticos como la carbamazepina, antibióticos como la amoxicilina y sulfametoxazol y los beta-bloqueadores como el metoprolol. Asimismo, a esta lista se suman los fármacos utilizados en veterinaria y actividades como la acuicultura, ganadería, avicultura entre otras. Además, se ha encontrado otras sustancias en cuerpos de agua (tanto el fármaco como sus metabolitos) que incluyen analgésicos, antiepilépticos, reguladores de lípidos, contraste de rayos X, anticonceptivos, broncodilatadores, entre otros (Hernando et al., 2006).

La presencia de estas sustancias en cuerpos de agua se debe a diferentes puertas de ingreso; una de ellas y de gran preocupación son las plantas de tratamiento de aguas residuales. Esto se debe a que muchas de las plantas de tratamiento no cuentan con procesos adecuados para el tratamiento o eliminación de estas sustancias (Gil et al., 2012). Por otro lado, el hallazgo de fármacos como el ibuprofeno, diclofenaco, carbamazepina en agua potable ha despertado mayor interés y preocupación en investigaciones (Delgado, 2011).

Actualmente, existen ciertos fármacos que se consideran de mayor peligro y los que demandan más investigación. El primer grupo son los antibióticos que ocupan el tercer puesto en volumen de uso en la medicina humana y el 70% en veterinaria. Estos pueden permitir el desarrollo de cepas bacterianas resistentes haciendo su función ineficaz. Otro grupo son los medios de contraste en rayos X por su persistencia dentro de las plantas de tratamiento de aguas residuales; también los estrógenos principalmente los anticonceptivos y los de tratamientos de desorden hormonal, ya que son los responsables de fenómenos de feminización, hermafroditismo e infertilidad en organismos acuáticos (Díaz-Cruz et al., 2003).

2.3.1.2 Productos de cuidado y aseo personal

Estos productos son de uso directo en el cuerpo humano y están dirigidos para uso cotidiano por las personas. Muchos de estos se utilizan como ingredientes activos o preservantes en cosméticos, fragancias, productos de baño, entre otros. Algunos de los productos que entran en este grupo de CEs son los perfumes, fragancias, compuestos policíclicos, protectores solares, repelentes, benzofenamo, triclosan metilo, entre otros (Henríquez, 2012).

Este grupo se diferencia del anterior debido a que pueden ser introducidos directamente al ambiente, por ejemplo, en aguas de uso recreativo o volatilizados en el aire (Van Stempvoort et al., 2011). Estudios relacionados como el de Lindstrom et al., (2002) demuestran la presencia de triclosan y su metabolito triclosán en aguas superficiales de Suiza.

2.3.1.3 Surfactantes

Este grupo de contaminantes incluye dos tipos de tensoactivos aromáticos como el aniónico del tipo sulfonato alquilbenceno lineal y los no aniónicos del tipo alquilfenolpoletoxilado (Terzic et al., 2008). Este grupo, se usa como detergentes, agentes adherentes, dispersantes, emulsificantes, agentes espumantes, entre otros. Además, estos tienen importantes aplicaciones industriales como en la producción de papel y celulosa, textiles, recubrimientos, aceites combustibles, lubricantes, plásticos entre otros (Becerril, 2009).

2.3.1.4 Drogas ilícitas

Sustancias que entran al medio natural por la excreción humana, saliva, sudor y también por medio de una eliminación accidental dentro de los laboratorios donde fabrican estos productos (González-Mariño et al., 2012).

Existen pocos estudios sobre este grupo en cuanto a su presencia y efectos en el ambiente. Sin embargo, las drogas de mayor estudio son la anfetamina, cannabis, cocaína y sus metabolitos, norcocaína, metanfetamina, MDMA (éxtasis), morfina y heroína (Van Nuijs et al., 2011; Kasprzyk-Hordern et al., 2008). Un ejemplo, es el estudio de Valcárcel et al., (2012) realizado en Toledo (España) en donde se encontraron 12 tipos de drogas en el río Tajo, las concentraciones obtenidas fueron bajas en el rango de nanogramos por litro (ng/L).

2.3.1.5 Retardantes de llama

Compuestos utilizados para disminuir la velocidad del fuego en encender algún tipo de material. Estos no son eliminados totalmente en las plantas de tratamiento. Ejemplo de este grupo son los retardantes de llama bromados como el tetrabromo bisfenol A, hexabromociclododecano, polibromodifeniléteres, decabromodifeniletano, utilizados como compuestos o mezclas en la producción de plásticos, textiles, muebles, aparatos electrónicos, pinturas entre otros (Rahman et al., 2001).

Además de los bromados se encuentran los retardantes de llama a partir de organofosfatos como el cloro isopropilfosfato, dicloro etil fosfato (Birnbaum y Staskal, 2004). Todas las sustancias de este grupo son de preocupación por su persistencia, biodisponibilidad y sus posibles efectos adversos como disrupción endocrina, neurotoxicidad y cáncer (Barceló y López de Alda, 2008).

2.4 Efectos de los contaminantes emergentes

El creciente uso, la producción de CE y el crecimiento poblacional y urbano ha provocado que la contaminación del ciclo urbano del agua por estos compuestos sea una problemática actual. Razón por la cual, la investigación de Pal et al., (2014) se centró en analizar las rutas del ciclo del agua por donde estas están siendo mayormente contaminadas. En este caso, se concluyó en que el ciclo del agua urbano se ve amenazado por la presencia de CE, así como el riesgo a posibles efectos en la salud debido a los CE y los procesos poco efectivos de las plantas de tratamiento de aguas residuales para tratar estos compuestos.

El ciclo del agua se ve amenazado a partir de las diversas entradas en que los CE pueden llegar al agua potable. Algunas de las entradas son la escorrentía y los efluentes de las plantas de tratamiento de agua residual que pueden ingresar contaminadas al agua superficial. También, se encuentran las descargas directas por medio de usuarios que no cuentan con un alcantarillado público o tanque séptico y su conexión es directa a los cuerpos de aguas (Grünheid et al., 2005; Jekel et al., 2013).

El uso intensivo de medicamentos hoy en día ha provocado efectos no deseados en el ambiente, principalmente en el medio acuático. También, su persistencia y su difícil eliminación ha aumentado la presencia de genes resistentes a los antibióticos, cambios en algunos organismos, efectos en la cadena trófica, metabolismo, fertilidad y aumento de la

presencia de CEs en cuerpos de agua superficiales y subterráneas (Bila y Dezotti, 2003; Filho et al., 2007; Kratz, 2008).

Algunas afectaciones son las provocados por hormonas como el estriol, beta estradiol y el estradiol, los cuales se han detectado en aguas tratadas y superficiales. Estas, como disruptores endocrinos afectan a nivel celular, prenatal y posnatal. Asimismo, produce hermafroditismo en peces, afecta el desarrollo de órganos sexuales deformados en lagartos y tortugas, efectos en la anidación y en la cáscara de los huevos, así como problemas en los sistemas inmunes y reproductivos de animales como las focas grises (Dimogerontas y Liapi, 2014). Por lo que, las hormonas representan un riesgo al ambiente y a la salud pública, ya que no solamente puede tener daños adversos a este tipo de organismos sino a los humanos, donde ya se ha observado que el aumento de estrógenos en mujeres incrementa el riesgo al cáncer de mama (Programa Nacional de Toxicología de Estados Unidos, 2011).

Por otro lado, un estudio realizado con el diclofenaco, fármaco de la familia de los antiinflamatorios no esteroides (AINEs) mostró afectaciones de insuficiencia renal en ganado de Pakistán y la India. Esto provocó la muerte del mismo, el cual afectó a los buitres que se alimentaron del ganado. En el que durante el periodo 2000-2003 se dio una alta tasa de mortalidad, por la exposición al diclofenaco (Oaks et al., 2004).

Otros analgésicos como el naproxeno o el ibuprofeno han provocado un aumento en la prevalencia de micronúcleos (fragmentos de cromosomas) en una especie de tilapia (Ragugnetti et al., 2010). Además, se ha visto el aumento de oxidación de proteínas, lípidos y daño del ADN en el crustáceo *Hyaella azteca* (Lucero et al., 2015).

Por otro parte, se ha demostrado la contaminación de antibióticos combinados con metales pesados, en el caso de las tetraciclinas y quinolinas con metales como el cobre, zinc y cadmio. El resultado de esta combinación metal-antibiótico puede ser más tóxica para el medio. Zhang et al., (2012) demostró que la oxitetraciclina y la ciprofloxacina también interactúan con los metales pesados.

Otros estudios, han señalado que algunos fármacos del grupo de los antidepresivos han provocado el retraso en el desarrollo de patas de los renacuajos, así como efectos cardiovasculares en peces. Además, se ha visto que los productos de cuidado y uso

personal como perfumes o fragancias han provocado efectos tóxicos en especies marinas como el pez espada (Méndez-Arriaga et al., 2008).

Debido a estos motivos, existe la preocupación que los antibióticos presentes en pequeñas concentraciones en el ambiente generen cepas resistentes a antibióticos de bacterias ambientales y patógenas. Además, la presencia de estas bacterias puede afectar la efectividad de antibióticos de uso humano (Baquero et al., 2008; Martínez, 2009; Hong, et al., 2013).

Por otro lado, se han determinado concentraciones de sustancias en seres humanos, por ejemplo, metabolitos urinarios de ftalato en mujeres embarazadas (Factor-Litvak et al., 2014). Otro ejemplo, es la pérdida del cociente intelectual en poblaciones europeas por exposición al difenil eter polibromado y organofosforados (Bellanger et al., 2015). Asimismo, se ha observado una relación entre la incidencia de asma en niños de zonas urbanas con la exposición a los ftalatos (Whyatt et al., 2014); además se ha observado ácido perfluorado en adultos de los Estados Unidos, principalmente en muestras de cabello y orina (Pérez et al., 2012). También, se han encontrado en la leche materna trazas de perfluoralquilo y retardantes de llama como el tetrabromobifenol (Lankova et al., 2013).

Por último, CE's como los disruptores endocrinos, ya mencionados anteriormente como las hormonas sexuales, pueden ser peligrosos para la salud humana, en este caso afecta tejidos no reproductivos y el sistema inmune. Además, estos al propagarse de una manera fácil en el ambiente puede ser un factor clave para la biocumulación en la grasa corporal y así afectar el feto en el embarazo o al bebé durante la lactancia (Rahman et al., 2009).

A todo lo anterior, determinar los efectos en humanos a partir de la exposición a los CE's es difícil, sin embargo, como menciona Wilkinson et al, (2015), existe evidencia epidemiológica de la relación entre la exposición a sustancias químicas y enfermedades en poblaciones humanas. No obstante, aunque se pueda determinar un vínculo estadístico entre estos factores pocas veces se puede establecer como un vínculo causal.

2.5 Ensayos ecotoxicológicos

Son utilizados para determinar, detectar y evaluar efectos agudos o crónicos mediante la exposición de sustancias a organismos como la bacteria luminiscente *Vibrio fischeri*, el

crustáceo *Daphnia magna* o algas como *Pseudokirchneriella subcapitata* (Boluda et al., 2002).

El uso de estos organismos, se debe a que estos presentan rutas bioquímicas similares a organismos superiores, ciclos de vida cortos y respuesta rápida a la exposición a diferentes sustancias (García, 2004). Los ensayos ecotoxicológicos permiten obtener el resultado de la concentración efectiva media (CE₅₀), la cuál es la concentración en la que se espera un determinado efecto en el 50% de los organismos (Duffus, 1993). También, permite determinar la concentración inhibitoria media (CI₅₀), definida como la concentración de la sustancia a la cual hace perder un 50% de alguna función, por ejemplo, la inhibición de luminiscencia en la bacteria *Vibrio fischeri* (Repetto y Sanz, 1993).

2.5.1 Ensayo de toxicidad aguda en *Daphnia magna*

La *Daphnia magna*, es una especie de crustáceo planctónico de agua dulce conocido también como pulga de agua. Estos organismos miden entre 0,2 y 18 mm; el tamaño se relaciona principalmente con la disponibilidad de alimento en el medio acuático (McKee y Ebert, 1996). Asimismo, tiene ventajas favorables para ensayos ecotoxicológicos que le permiten ser utilizada como un organismo bioindicador. Algunas de sus ventajas son su sensibilidad a los tóxicos, su facilidad de reproducción por medio de partenogénesis, su rápido ciclo vital y reproductivo, su facilidad de cultivo en laboratorios (Buikema et al., 1980).

Los ensayos de toxicidad en *Daphnia magna* pueden ser agudos o crónicos, estos se diferencian ya que el primero evalúa la supervivencia o inmovilidad a partir del potencial tóxico de una sustancia. El segundo, se basa en analizar efectos en el comportamiento, reproducción, crecimiento, dinámica metabólica sobre poblaciones de organismos a la exposición de un compuesto por mayor cantidad de tiempo y a concentraciones subletales (Sánchez, 2006).

2.5.2 Ensayo de toxicidad aguda en la bacteria *Vibrio fischeri*

La especie *Vibrio fischeri* es una bacteria marina, gram negativa y de vida libre o simbiótica con ciertos peces luminiscentes o calamares. Pertenece a la familia Vibrionaceae con la característica de ser una bacteria bioluminiscente, además, de tener una sensibilidad al contacto con diferentes sustancias tóxicas. La bacteria, al ser expuesta a xenobióticos y ser afectada, muestra como resultado una disminución en la luz que emite. Lo anterior, permite

determinar el grado toxicidad del contaminante al que se encuentra expuesta la bacteria (ISO 11348-3, 2007).

Un método para determinar la toxicidad aguda en la bacteria es el uso del Microtox®, prueba comercial cuyo objetivo es evaluar la toxicidad aguda de muestras ambientales de agua superficial, subterráneas, efluentes, lixiviados, contaminantes puros entre otras muestras. La finalidad del proceso es demostrar la toxicidad mediante la reducción de la capacidad luminiscente durante la exposición a las muestras o xenobióticos (Johnson, 2005).

Además, de los ensayos con *D. magna* y *Vibrio fischeri* se encuentran otros ensayos como el de inhibición de crecimiento de algas, ensayos de toxicidad aguda con semillas de lechuga, raíces de cebolla. También, existen ensayos de toxicidad con la especie *Hydra attenuata*, con diversos tipos de peces como *Oncorhynchus mykiss*, *Brachydanio rerio*, *Cyprinus carpio* y *Pimephales promelas*, entre otros (Castillo, 2004).

Capítulo III

3. Metodología

En este capítulo se muestra el diseño metodológico a seguir durante la investigación, es decir: el tipo de estudio, los métodos de recolección de datos y análisis de información.

3.1 Diseño de la investigación

La investigación se clasifica como cuantitativa experimental. Este enfoque cuantitativo se debe a la manera secuencial y probatoria con que se lleva el proyecto. El problema de estudio se plantea en la determinación de toxicidad de CEs en aguas superficiales. Además, se evaluará la toxicidad en aguas residuales de origen hospitalario, urbano y pecuario, correlacionando con la presencia de contaminantes emergentes (Centro de Investigación en Contaminación Ambiental, 2017).

Una investigación cuantitativa se define como aquella que utiliza técnicas estadísticas para establecer, identificar y analizar conceptos de interés sobre el tema en estudio. Además, de que principalmente se refiere a todo aquello que se vea relacionado con resultados numéricos para la toma de datos, permitiendo estudiar variables de interés como el efecto toxicológico de sustancias (contaminantes emergentes) en los seres vivos y su efecto en el ambiente (Hueso y Cascant, 2012). Según Creswell (2005), las investigaciones de tipo cuantitativa se interpretan a partir de predicciones iniciales y de estudios previos, permitiendo una interpretación concisa a una explicación de los resultados obtenidos en relación con investigaciones anteriores.

Durante el diseño experimental se manipulan variables independientes para analizar las consecuencias sobre una o más variables dependientes dentro de una situación control para la investigación. En este caso, la variable independiente es la magnitud de un efecto de los CEs en los organismos, por ejemplo, la disminución de luminiscencia sobre *V. fischeri* en la prueba de Microtox® o la inmovilidad en el ensayo de *D. magna* y la variable dependiente son las diferentes concentraciones de cada CEs.

3.2 Población de estudio

La población de la investigación son los organismos bioindicadores ambientales, como la *Daphnia magna* y la bacteria *Vibrio fischeri* a los que se les realizó ensayos ecotoxicológicos con diferentes tipos de muestras.

Las muestras con las que se trabajó son estándares de CEs de tipo farmacológicos de uso humano y veterinario. En el que se encuentran 14 antibióticos, tres hormonas y uno de las siguientes familias: alcaloides, analgésico, simpaticomiméticos, antagonistas, glucocorticoide y anticonvulsivos (Tabla 1). En este caso, para la selección de los contaminantes se buscaron sustancias que no cuentan con datos ecotoxicológicos disponibles para los bioensayos más comúnmente evaluados (incluyendo al menos uno de los empleados en la investigación). Además, de que estas sean solubles en medio acuoso según las páginas webs The PubChem Project y DrugBank. Cada una de las sustancias se obtuvieron por medio del CICA.

Asimismo se trabajó con muestras ambientales y residuales proveniente de efluentes selectos contaminados con CEs. Por último, se analizó mezclas binarias con tres CEs reportados en las muestras superficiales y residuales.

Tabla 1. CEs selectos para el análisis ecotoxicológico en *Daphnia magna* y Microtox®

CEs	Familia	Origen	Lote	Solubilidad mg/L
Amikacina	Antibiótico	Vitalis	N/A*	185000,00
Ampicilina	Antibiótico	MP biomedicals	9965C	10000,00
Azitromicina	Antibiótico	Calox	39802	2,37
Beta-Estradiol	Hormona	Acros Organics	A0330362	3,60
Carbamazepina	Anticonvulsivo	Sigma Aldrich	061M1687V	17,70
Cefalexina	Antibiótico	MK	N/A*	1789,00
Cefalotina	Antibiótico	Vitalis	N/A*	160,00
Cefotaxime	Antibiótico	Sigma Aldrich	087M4863V	147,00
Cimetidna	Antagonista	Sigma Aldrich	BCBD4232V	9380,00
Clembuterol	Simpaticomimético	Calox	46665	105,60
Clindamicina	Antibiótico	Sigma Aldrich	BCBD1320V	3120
Codeina	Analgésico	Calox	47382	9000,00
Dexametasona	Glucocorticoide	Pisa	N/A*	1520,00
1,7-Dimetilxantina	Alcaloide	Agropecuaria Sigma Aldrich	071M4012V	1000,00
Estreptomina	Antibiótico	Sigma Aldrich	39F-0749	1000000,00
Estriol	Hormona	Sigma Aldrich	SLBV7430	27,34
Estrona	Hormona	Sigma Aldrich	BCBT1317	30,00
Metronidazole	Antibiótico	MK	N/A*	11000,00
Oxacilina	Antibiótico	Vitalis	N/A*	13,90
Penicilina	Antibiótico	Sigma Aldrich	093K0522	10000,00
Polimixina B	Antibiótico	Sigma Aldrich	BCBL9847V	74,40
Polimixina E	Antibiótico	Sigma Aldrich	LRAB3703	238,00
Vancomicina	Antibiótico	Sigma Aldrich	087K0694	225,00

Fuente. Elaboración propia, 2019

*N/A Información no disponible.

3.3 Método de recolección de muestras ambientales

La recolección de muestras se ejecutó por investigadores del proyecto con apoyo de la unidad de muestreo del CICA.

3.3.1 Descripción de efluentes y plan de muestreo

El muestreo se realizó para tres épocas climáticas distintas. El primer muestreo corresponde a la época lluviosa, el segundo a la seca y el tercero transición. Para el muestreo se identificó efluentes con alto potencial en contenido de CEs. Los efluentes muestreados son aguas superficiales, plantas de tratamiento de aguas residuales (PTARs), efluentes hospitalarios y fincas bovinas y porcinas. Para ello, en las PTAR se seleccionó su afluente y efluente respectivo. Con respecto a las demás muestras se les realizó el muestreo en uno o dos puntos (Centro de Investigación en Contaminación Ambiental, 2017).

3.3.2 Ensayos de toxicidad aguda en *Daphnia magna*

Las pruebas de toxicidad aguda en *D. magna* se realizaron según el protocolo US EPA (2002). En el ensayo, se utilizó viales de 25 ml y agua reconstituida moderadamente dura para las diluciones. A cada vial se le agregó diez neonatos de dáfnidos (menos de 24h) y 20 ml de las disoluciones preparadas o la muestra ambiental pura, esto a cinco diferentes concentraciones. Las muestras se colocan en la oscuridad a una temperatura de $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 48 horas (Lizano et al., 2017).

En el ensayo se hace una revisión parcial a las 24 h y una final a las 48 h para observar la inmovilidad o muerte de los organismos y determinar el EC_{50} . Para determinar el EC_{50} se utilizó el paquete análisis de dosis respuesta (drc) del programa estadístico R con el método de tipo binomial (Ritz et al., 2015; R Core Team, 2019).

El EC_{50} para los estándares se expresó en mg/L y para las muestras ambientales y residuales en porcentaje y en unidades tóxicas (TU). Esta calculada según la expresión $\text{TU}=100/\text{EC}_{50}$ (Lizano et al., 2017). En el que, según su valor las muestras se clasifican en cinco clases: No tóxica, ligeramente tóxica ($0 < \text{TU} < 1$), tóxica ($1 < \text{TU} < 10$), muy tóxica ($11 < \text{TU} < 100$) y extremadamente tóxica (≥ 100) (Mantis et al., 2005; Butarewicz et al., 2019; United States Environmental Protection Agency, 2002).

3.3.3 Ensayo Microtox® para la determinación de toxicidad por medio de la bacteria *Vibrio fischeri*.

La prueba se llevó a cabo con el protocolo ISO 11348 – 3 (ISO 11348-3:2007, 1998). En el que se usó el equipo Microtox® M500, un kit de diluentes y un set de bacteria liofilizada de *Vibrio fischeri*. Lo cual el equipo, permite determinar la toxicidad del compuesto mediante la inhibición de luminiscencia.

Para la muestra, se prepararon cinco concentraciones con un factor de dilución de 2 por el método de transferencia secuencial. Además, se da inicio a la reconstitución de la bacteria, para que en un lapso de 15 minutos medir y analizar la emisión de luz de la bacteria en contacto con la muestra (Hernández et al., 2015).

Por último, el equipo Microtox® hace la medición a la cual se da la pérdida del 50% de emisión de luz Cl_{50} de la bacteria *V. fischeri*. En este caso, al igual que en el ensayo anterior se trabaja el EC_{50} en mg/L para lo estándares y para las muestras ambientales y residuales en porcentaje y en TU.

3.3.4 Monitoreo ecotoxicológico de efluentes contaminados.

Las muestras obtenidas según el plan de muestreo se analizaron con dos bioensayos agudos de toxicidad: Microtox® y el ensayo agudo con *Daphnia magna* explicados en el apartado 3.3.2 y 3.3.3 y según los protocolos ISO 11348.3 (2007) y US EPA, (2002) respectivamente.

3.3.5 Ensayo ecotoxicológico de mezclas binarias

El análisis ecotoxicológico de las mezclas binarias se dio a partir de la elección de tres CE reportados en las muestras analizadas por el Laboratorio de Plaguicidas y Compuestos Orgánicos (LAPCO) del CICA. Asimismo, los fármacos deben presentar datos de EC_{50} reportados en bibliografía para *Daphnia magna* y Microtox®.

Las toxicidades de los tres fármacos se probaron con los ensayos agudos en *Daphnia magna* y Microtox® de manera individual y en tres combinaciones binarias (Tabla 2). Los ensayos se realizaron según lo establecido en los apartados 3.5.2 y 3.5.3.

Tabla 2. Representación de mezcla binaria para *D. magna* y Microtox®

Mezcla binaria	CE 1 100%	CE 2 100%	75% CE 1 – 25% CE 2	25% CE 1 – 75% CE 2	50% CE 1 – 50% CE 2
-----------------------	--------------	--------------	------------------------	------------------------	------------------------

Fuente. Elaboración propia, 2019

Para el análisis de las mezclas, se realizó en función a los modelos de concentración adición y Hewlett. Lo anterior, para determinar la presencia de sinergia o antagonismo en las mezclas (Sørensen et al., 2007; Di Poi et al., 2017; Ritz y Streibig, 2014). El análisis se llevó a cabo con el paquete de datos drc del programa estadístico R, en el que a partir de isobogramas se buscó determinar la interacción de los CEs en mezclas (R Core Team, 2019; Ritz et al., 2015; Legrand et al., 2016).

3.4 Operacionalización de las variables de estudio

Tabla 3. Cuadro de operacionalización

Objetivos específicos	Variables	Indicadores	Unidades de observación	Medios para recopilación información
<p>Primer objetivo:</p> <p>Determinar la ecotoxicidad de fármacos seleccionados por medio de bioensayos de toxicidad aguda en <i>Daphnia magna</i> y Microtox®.</p>	<p>Toxicidad de los estándares CEs de tipo farmacológico.</p>	<p>Concentraciones establecidas de EC₅₀ en los bioensayos agudos de <i>Daphnia magna</i> y el Cl₅₀ en ensayo con <i>Vibrio fischeri</i>.</p>	<p>Inmovilidad y mortalidad en <i>Daphnia magna</i>.</p> <p>Inhibición de luminiscencia en <i>Vibrio fischeri</i>.</p>	<p>Bioensayos de toxicidad aguda en <i>Daphnia magna</i>.</p> <p>Bioensayos de toxicidad aguda en <i>Vibrio fischeri</i>.</p>
<p>Segundo objetivo:</p> <p>Establecer la correlación entre la ecotoxicidad de efluentes contaminados y su contenido de contaminantes emergentes, que representan un riesgo para el ecosistema y la Salud Pública.</p>	<p>Resultado de toxicidad de las muestras ambientales contaminadas con CEs presentes en las zonas de muestreo.</p> <p>Concentración de los CEs en efluentes contaminados seleccionados.</p>	<p>Concentraciones establecidas de EC₅₀ en los bioensayos agudos de <i>Daphnia magna</i> y el Cl₅₀ en ensayo con <i>Vibrio fischeri</i></p> <p>. Detecciones de CEs en efluentes contaminados seleccionados</p>	<p>Inmovilidad y mortalidad en <i>Daphnia magna</i>.</p> <p>Inhibición de luminiscencia en <i>Vibrio fischeri</i>.</p> <p>Concentración reportada de CEs por LAPCO.</p>	<p>Bioensayos de toxicidad aguda en <i>Daphnia magna</i>.</p> <p>Bioensayos de toxicidad aguda en <i>Vibrio fischeri</i>.</p> <p>Laboratorio de Plaguicidas y Compuestos orgánicos</p>

<p>Tercer objetivo:</p> <p>Describir la ecotoxicidad de mezclas binarias de CEs farmacológicos presentes en los efluentes contaminados a partir de bioensayos de toxicidad aguda.</p>	<p>Cantidad y concentración de fármacos presentes en efluentes contaminados.</p> <p>Toxicidad en EC₅₀ de fármacos seleccionados.</p> <p>Toxicidad de las mezclas binarias con los CEs seleccionados</p>	<p>Concentraciones establecidas de EC₅₀ en los bioensayos agudos de <i>Daphnia magna</i> y el CI₅₀ en ensayo con <i>Vibrio fischeri</i>.</p>	<p>Inmovilidad y mortalidad en <i>Daphnia magna</i>.</p> <p>Inhibición de luminiscencia en <i>Vibrio fischeri</i>.</p> <p>Modelos de concentración adición y Hewlett a partir del programa estadístico R</p>	<p>Bioensayos de toxicidad aguda en <i>Daphnia magna</i>.</p> <p>Bioensayos de toxicidad aguda en <i>Vibrio fischeri</i>.</p>
--	--	--	--	---

Fuente: Elaboración propia, 2018

Capítulo IV

4. Análisis y discusión de resultados

En este apartado, se presentan los resultados obtenidos durante la investigación. Se realizaron bioensayos ecotoxicológicos a 23 CEs (fármacos), 98 muestras ambientales y 135 aguas residuales de diferentes orígenes. Además, el análisis ecotoxicológico de tres mezclas farmacológicas binarias.

4.1 Ecotoxicidad de CEs farmacológicos

4.1.1 Ensayo de toxicidad aguda en *Daphnia magna*

De los CEs analizados, la azitromicina, estrona, vancomicina, dexametasona, oxacilina, estriol, beta-estradiol y carbamazepina no reportan un efecto tóxico ya que su toxicidad es mayor a su solubilidad en agua (Tabla 4). Nueve analitos presentan un EC_{50} mayor a 400 mg/L (concentración máxima trabajada), por ejemplo: amikacina, cefalotina, metronidazole, estreptomicina, entre otros (Tabla 2). En este caso, encontrar concentraciones tan altas de CEs en aguas superficiales o residuales es difícil, ya que en estudios previos se han reportado a $\mu\text{g/L}$ o ng/L (Verlicchi et al., 2012; Spongberg et al., 2011; Mateus, 2012; Scheurer et al., 2009). Valores definidos de EC_{50} fueron encontrados para clindamicina y 1,7-dimetilxantina ($EC_{50} < 400 \text{ mg/L}$), y para clenbuterol, polimixina B y polimixina E ($EC_{50} < 5 \text{ mg/L}$, Tabla 4).

La EC_{50} de clindamicina al igual que las de los 9 analitos con toxicidad mayor a 400 mg/L son elevadas para ser encontradas en muestras ambientales o residuales. Por ejemplo, se reporta que la concentración de clindamicina en aguas superficiales es de 11 ng/L, es decir, el EC_{50} es aproximadamente 10^7 veces mayor a la concentración reportada en aguas (Wu et al., 2009).

El metabolito de la cafeína 1,7-dimetilxantina muestra una toxicidad $> 100 \text{ mg/L}$ pero $< 400 \text{ mg/L}$, rango en el que se ubica el EC_{50} de la cafeína (182 mg/L). La presencia de este compuesto en el ambiente puede darse por el uso intensivo de la cafeína que al consumirse se transforma en 1,7-dimetilxantina y se excreta por la orina, vía de ingreso a las aguas residuales (Dafouz y Valcárcel, 2017; Camacho-Muñoz et al., 2010; Gheorghe et al., 2016). Además, la cafeína presenta reportes de concentraciones elevadas en el ambiente, factor

que puede influir en la presencia de 1,7-dimetilxantina en el medio (Ramírez y Rivera, 2017; Spongberg et al., 2011).

Los 3 fármacos con un $EC_{50} < 5$ mg/L y ordenados de forma ascendente según su toxicidad son: el clenbuterol con 3,52 mg/L, la polimixina E y B con 2,53 mg/L y 1,58 mg/L respectivamente (Tabla 4). En este caso, su toxicidad es mayor en comparación a otros antibióticos y betabloqueadores como la enrofloxacin, sulfametazina, clortetraciclina, trimetoprim y teofilina (Santos et al., 2010; Park y Choi, 2008; Kim et al., 2007; Lilius et al., 1994). Además, el EC_{50} del clenbuterol es mucho mayor a las concentraciones encontradas en aguas residuales (Sakai et al., 2016; Shao et al., 2009). Por otro lado, no se encontró reportes de polimixinas en fuentes superficiales, residuales y hospitalarias (Mateus, 2012; Scheurer et al., 2009; Verlicchi et al., 2012).

Algunas de las razones del por qué las polimixinas no se han reportado en muestras ambientales o residuales se debe a que son antibióticos de poco uso, ya que son compuestos de última opción terapéutica para el tratamiento de diversas enfermedades como: infecciones por bacilos gran negativos multirresistentes en casos de neumonía y bacteriemia (Barletta et al., 2018; Medina et al., 2017; Molina et al., 2009).

4.1.2 Ensayo Microtox® para la determinación de toxicidad por medio de la bacteria *Vibrio fischeri*.

De acuerdo con el análisis de los CEs por el método de Microtox®, diez fármacos mostraron hormesis, algunos son: la amikacina, azitromicina, clembuterol, dexametasona, entre otros (Tabla 4). La hormesis es un efecto que a concentraciones bajas del compuestos es estimulante para el metabolismo del organismo. Esto permite que la bacteria al entrar en contacto con concentraciones bajas de una muestra aumente su intensidad de luminiscencia. Es un efecto comúnmente relacionado a este ensayo (Shen et al., 2009; Christofi et al., 2002; De García et al., 2015).

Asimismo, se obtuvo que el EC_{50} para la ampicilina, cefalexina, cefalotina, cimetidina, clindamicina, codeína, 1,7-dimetilxantina, metronidazole y vancomicina es >100 mg/L (Tabla 4). Según la clasificación utilizada en diversos estudios y establecida por el Sistema Globalmente armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos de las Naciones Unidas (GHS, según sus siglas en inglés) (Tabla 5), establece que los fármacos con toxicidad > 100 mg/L no son tóxicos (Cleuvers 2004; Han et al., 2006; Hernando et al., 2007).

Para finalizar, tres compuestos, todos antibióticos, mostraron un $EC_{50} < 5$ mg/L, los cuales ordenados ascendentemente según su toxicidad son: cefotaxima con 1,31 mg/L y las polimixinas E con 1,04 mg/L y la B con 0,63 mg/L (Tabla 4). En este caso, según la GHS los dos primeros se clasifican como tóxicos y el tercero como altamente tóxico (Tabla 5). Tal como ya se mencionó en el punto 4.1.1 las polimixinas son antibióticos de última opción terapéutica y de poco uso, por lo que su aparición en el ambiente es poco probable. Sin embargo, al obtenerse toxicidad para los dos organismos, se debe considerar y vigilar ante alguna aparición en cuerpos de agua. Con respecto, la cefotaxima es un fármaco que en estudios ha reportado concentraciones de $\mu\text{g/L}$ y ng/L en aguas residuales. (Wang et al., 2011; Li y Lin, 2015) Por ejemplo, en aguas hospitalarias la concentración de cefotaxima fue de 89 ng/L, es decir, el EC_{50} es 1500 veces mayor que dicha concentración (Gros et al., 2013).

Tabla 4. EC₅₀ obtenido de estándares de CEs farmacológicos en bioensayo agudo en *D. magna* y Ensayo Microtox® para la determinación de toxicidad por medio de la bacteria *V. fischeri*.

CEs	Bioensayo agudo <i>D. magna</i> EC₅₀ (mg/L)	Microtox® EC₅₀ (mg/L)
Amikacina	> 400,00	Hormesis
Ampicilina	> 400,00	> 1000,00
Azitromicina	> 2,37*	Hormesis
Beta-Estradiol	> 3,60*	Hormesis
Carbamazepina	> 17,70*	Hormesis
Cefalexina	> 400,00	> 1000,00
Cefalotina	> 400,00	> 1000,00
Cefotaxime	> 146,00*	1,31
Cimetidna	> 325,00	365,58
Clembuterol	3,52 (2,52 – 4,48)	Hormesis
Clindamicina	> 100 < 200	356, 46
Codeina	> 400,00	697,96
Dexametasona	> 89,00*	Hormesis
1,7-Dimetilxantina	> 100 < 400	> 1000,00
Estreptomicina	> 400,00	Hormesis
Estriol	> 27,34*	Hormesis
Estrona	> 30,00*	Hormesis
Metronidazole	> 400,00	484,70
Oxacilina	> 13,90*	Hormesis
Penicilina	> 400,00	ND
Polimixina B	1,58 (1,13 – 2,03)	0,63
Polimixina E	2,53 (2,03 – 3,02)	1,04
Vancomicina	> 225,00*	> 225,00*

Fuente. Elaboración propia, 2019

*EC₅₀ mayor al 100% de la solubilidad.

Tabla 5. Clasificación del nivel de toxicidad en Microtox® según el EC₅₀ obtenido.

Toxicidad	EC₅₀
Muy tóxico	≤ 1 mg/L
Tóxico	> 1 mg/L ≤ 10 mg/L
Nocivo para los organismos	> 10 mg/L ≤ 100 mg/L
No tóxico	> 100 mg/L

Fuente. GHS de las Naciones Unidas, 2011

4.2 Ecotoxicidad de muestras ambientales y efluentes contaminados

Las muestras fueron colectadas en tres épocas climáticas, durante un período de un año y medio. El primer muestreo corresponde a época lluviosa, el segundo a seca y tercero transición. Algunos puntos se muestrearon en dos épocas. Se trabajó con 231 muestras de las cuales 98 corresponden a aguas superficiales y 133 a efluentes contaminados selectos, los cuales son: afluentes y efluentes de PTAR, efluentes de aguas hospitalarias y aguas de fincas porcinas y bovinas. Cada muestra se analizó según los apartados 3.5.2 y 3.5.3 de la metodología.

4.2.1 Muestras ambientales

Las muestras ambientales corresponden a cuerpos de aguas superficiales del Gran Área Metropolitana (Ver anexo N° 1). Según el ensayo de inmovilización en *D. magna* las 98 muestras obtuvieron como resultado un $EC_{50} > 100\%$, es decir, corresponden a muestras no tóxicas.

Para Microtox®, 40 muestras no reportaron toxicidad, resultado también obtenido en otras investigaciones (Niemiryecz, et al., 2007; Smeti et al., 2013). Con respecto a las 58 muestras restantes en Microtox®, estas mostraron hormesis. Este efecto que puede deberse a la presencia de algún compuesto o nutriente que provoque la estimulación de la bacteria (Agathokleous, 2018). La hormesis, es un fenómeno del cual no hay mucha información sobre la razón de su generalización, ocurrencia y significado biológico. Además, de que es difícil identificar el factor de estimulación, ya que puede darse por la temperatura, pH o los iones de nutrientes. Asimismo, en ecotoxicología esta estimulación en muchos de los casos suele ser ignorada en los cálculos de toxicidad (Fernández-Piñas et al., 2014; Mushak, 2013; Christofi et al., 2002). Además, el efecto observado en las curvas de dosis-respuesta fue igual o menor a 0%, razón por la cual su EC_{50} no es determinado.

Con respecto a la cuantificación de CEs por parte de LAPCO (CICA-UCR), se obtuvo que 43 de las 98 muestras reportan la detección de fármacos. De las cuales se reportó 139 detecciones para un total de 18 fármacos diferentes (Ver anexo N° 2). Los compuestos de mayor presencia son la cafeína con un rango de concentración que va desde 0,02 $\mu\text{g/L}$ a 53,84 $\mu\text{g/L}$, 1,7- dimetilxantina (0,14 – 4,52 $\mu\text{g/L}$) y el gemfibrozil (0,19 – 2,83 $\mu\text{g/L}$) (Tabla 6). Además, la cafeína es el compuesto con más detecciones, resultado igual a otros estudios de CEs en aguas superficiales (González-Alonso et al., 2017; Spongberg et al.,

2011). Asimismo, su concentración es la más alta de todos los CEs reportados con 53,84 µg/L (Tabla 6).

Por otro lado, las muestras que presentan fármacos se pueden agrupar en 5 grupos según su lugar de ubicación, estos son Turrialba, Coronado, Río Virilla, Río Torres (Uruca) y Río Jorco (Desamparados). Los lugares que reportan más CEs (Figura 1) son el Río Torres, Río Virilla y Río Jorco, este último con un solo punto de muestreo. Lo anterior puede deberse por ubicarse en zonas altamente pobladas, ya que por ejemplo Río Jorco y Río Torres se ubican en cantones con alta densidad poblacional, esto según el Censo poblacional, 2011. Además, estos dos ríos reportan las concentraciones máximas de la mayoría de compuestos (Tabla 6). Esto puede deberse a que las muestras del Río Torres se ubican cerca de una planta de Tratamiento de aguas residuales y la del Río Jorco a un relleno sanitario.

Lo anterior, junto con el uso intensivo de CEs, la cercanía con hospitales, zonas agrícolas o ganaderas, población sin conexión a un alcantarillado público, la no eliminación completa de CEs por parte de plantas de tratamiento de aguas residuales, entre otros son posibles factores de la presencia de CEs en los cuerpos de aguas superficiales (Petrovic et al., 2003; Kaštelan-Macan et al., 2007; Gómez et al., 2006; Hernando et al., 2006; Hossain et al., 2018).

En cuanto al análisis ecotoxicológico de las muestras y la presencia de CEs, no se observa una relación entre la toxicidad de las muestras y las concentraciones de fármacos presentes. Asimismo, sus concentraciones reportadas son bajas con respecto a su EC_{50} reportado en otros estudios (Tabla 6). Sin embargo, se debe tener en cuenta que la presencia de CEs farmacológicos en el ambiente es un riesgo importante, tanto para el ecosistema como para la salud pública, ya que puede presentar efectos adversos a largo plazo. Esto por el riesgo ambiental que puede presentar las concentraciones de fármacos en el ambiente.

Tabla 6. Fármacos detectados con su concentración, lugar y muestreo de fuentes de aguas superficiales de la GAM.

Fármacos	# de detecciones	Concentración Max ($\mu\text{g/L}$)	Lugar de Muestra	Muestreo	EC_{50} <i>Daphnia magna</i> (mg/L)	EC_{50} <i>Microtox</i>® (mg/L)	Referencias toxicidad
1,7-Dimetilxantina	19	4,52	Río Torres, Aguas abajo, Uruca	1	>100,00 a <400,00	>1000,00	Tabla 4
Acetaminofén	11	2,03	Río Colorado, Turrialba	1	40,00	-	(Du et al., 2016)
Atenolol	1	0,17	Río Torres, Aguas abajo, Uruca	1	180	-	(Yamamoto et al., 2007)
Azitromicina	1	0,39	Río Torres, Aguas abajo, Uruca	1	> 2,37*	Hormesis	Tabla 4
Cafeína	35	53,84	Río Torres, Aguas abajo, Uruca	2	182,00	54,21	(Camacho-Muñoz et al., 2010; Gheorghe et al., 2016)
Carbamazepina	5	0,73	Río Jorco, Desamparados	2	> 17,70*	Hormesis	Tabla 4
Cefalexina	13	1,42	Río Torres, Aguas abajo, Uruca	1	> 400,00	> 1000,00	Tabla 4
Ciprofloxacina	3	1,33	Río Jorco, Desamparados	2	65,30	11,50	(Martins et al., 2012)
Claritromicina	1	0,06	Río Torres, Aguas abajo, Uruca	1	38,65	12,08	(Irusta, 2011)
Codeína	1	0,04	Río Torres, aguas abajo, Uruca	1	> 400,00	697,96	Tabla 4
Difenhidramina	3	0,30	Río Jorco, Desamparados	1	0,37	-	(Berninger et al., 2011)

Fluoxetina	3	0,23	Río Torres, Aguas abajo, Uruca	1	6.4, 0.820	59.25, 13,0	(Christensen et al., 2007; Brooks et al., 2003; Ponce, 2017; Nalecz et al., 2008)
Gemfibrozil	15	2,83	Río Torres, Aguas abajo, Uruca	3	10,40	35,30	(Rosal et al., 2009; Han et al., 2006)
Ibuprofeno	12	1,50	Río Torres, Aguas abajo, Uruca	3	9,06	37,50	(Ra et al., 2008; Halling-Sørensen et al., 1998)
Ketoprofeno	1	0,45	Río Jorco, Desamparados	1	43,65	16,21	(Gheorghe et al., 2016)
Naproxeno	12	1,06	Río Torres, Aguas abajo, Uruca	3	16,95	46,72	(Gheorghe et al., 2016)
Ofloxacina	1,25	2,02	Río Jorco, Desamparados	1	-	1,36	(Backhaus, et al., 2000)
Risperidona	0,30	2,95	Río Jorco, Desamparados	1	6,00	-	(Whitacre, 2012)

Fuente. Elaboración propia a partir de datos reportados por Laboratorio de Plaguicidas y Compuestos Orgánicos del CICA, 2020

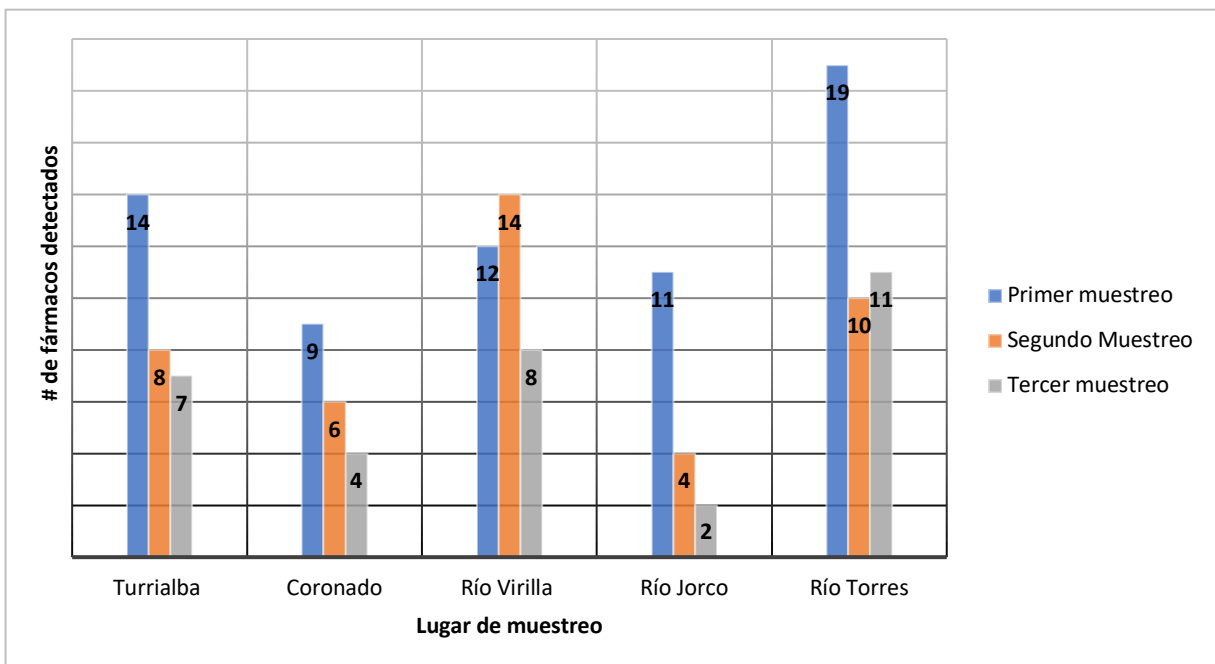


Figura 1. Número de fármacos detectados en las muestras ambientales según su lugar de muestreo.

4.2.2 Muestras contaminadas selectas

De las 133 muestras, 48 corresponden a PTARs, 27 a aguas hospitalarias y 58 a aguas residuales de fincas porcinas y bovinas.

4.2.2.1 Muestras de afluentes y efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTARs)

Se analizaron 10 PTAR, nueve afluentes y diez efluentes con dos o tres muestreos cada una para un total de 48 muestras (Tabla 8). Además, la toxicidad se determinó con el sistema de clasificación de toxicidad para la evaluación tóxica de muestras ambientales (TCS, según sus siglas en inglés), en el que se transforma el EC_{50} a unidades tóxicas (TU, según sus siglas en inglés) (Tabla 7), clasificación utilizada en otros estudios de toxicidad de muestras ambientales (Butarewicz et al., 2019; Mantis et al., 2005; Katsoyiannis y Samara, 2007).

Tabla 7. Sistema de clasificación de muestras ambientales

Tipo de toxicidad	TU	Evaluación tóxica
0	0 (< 0,4)	No tóxica
I	0 < TU < 1	Ligeramente tóxica
II	1 < TU < 10	Tóxico
III	11 < TU < 100	Muy tóxico
IV	≥ 100	Extremadamente tóxico

Fuente. Elaboración propia, a partir de Mantis et al., 2005

El análisis en *Daphnia magna* y según el sistema de clasificación de toxicidad para muestras ambientales (Tabla 7) reporta que de los afluentes, 14 son tóxicos o clase II, tres muy tóxicos y seis de clase cero o no tóxicas (Tabla 9). Las tres más tóxicas son la PTAR 10 con un EC₅₀ de 1,65% y 1,52% y la PTAR 8 con 5,56% (Tabla 9; Figura 2). Con respecto a los efluentes, 19 muestras no mostraron toxicidad, mientras que cinco muestras son tóxicas o de clase II y una muestra muy tóxica, esta última correspondiente a la PTAR 10 con un EC₅₀ de 3,29%. (Tabla 9; Figura 2).

Con respecto a Microtox®, se obtiene que un afluente reporta hormesis, cuatro muestras clase cero o no tóxicas, 14 muestras tóxicas y cuatro muy tóxicas o de tipo III (Tabla 9). Estas últimas, según su toxicidad de mayor a menor son las dos muestras de la PTAR 10 con 2,24% y 3,10% respectivamente, la PTAR 8 con 5,83% y la PTAR 5 con 6,61% (Tabla 9; Figura 3). La toxicidad de las salidas reporta 16 muestras con hormesis, seis no tóxicas y tres tóxicas tipo II. En este caso, la más tóxica es la PTAR 10 con un EC₅₀ de 13,44% (Tabla 9; Figura 3).

Por lo tanto, la PTAR 10 es la más tóxica en la entrada y salida para ambos organismos. La razón puede deberse al tipo de agua a tratar, la cual es agua residual de un vertedero (Tabla 9). Por último, el 95,2% de las muestras para *D. magna* y 100% para Microtox® disminuye la toxicidad de la entrada a su salida (Fig 2; fig 3). Es decir, para ambos organismos la mayoría de los efluentes no presentan un efecto tóxico. Resultado visto en otros estudios de toxicidad de plantas de tratamiento (Araújo et al., 2005; Mendonça et al., 2013; Mendonça et al., 2011). Lo anterior, demuestra la eficacia de las PTARs y además permite establecer a la ecotoxicología como un mecanismo de contribución de control y análisis en las plantas de tratamiento.

Tabla 8. Datos descriptivos de Plantas de tratamiento de aguas residuales muestreadas.

Código PTARs	Provincia	Población	Tipo de aguas residuales	Punto de descarga	Caudal (m³/d)	Tipo de tratamiento	Total de muestras
PTAR 1	Alajuela	1794	Domésticas e Industriales	Río	15	Terciario	3 en el afluente 3 en el efluente
PTAR 2	Alajuela	1794	Domésticas e Industriales	Río	15	Terciario	3 en el efluente
PTAR 3	Cartago	747	Domésticas e Industriales	Río	25	Secundario	3 en el afluente 3 en el efluente
PTAR 4	Heredia	22000	Domésticas e Industriales	Río	725	Secundario	3 en el afluente 2 en el efluente
PTAR 5	San José	8241	Domésticas e Industriales	Alcantarillado Municipal	5	Secundario	2 en el afluente 2 en el efluente
PTAR 6	San José	8241	Domésticas e Industriales	Alcantarillado Municipal	5	Secundario	2 en el afluente 3 en el efluente
PTAR 7	San José	850 000	Domésticas e Industriales	Río	37 500	Primario	3 en el afluente 3 en el efluente
PTAR 8	Cartago	8600	Domésticas e Industriales	Río	109	Secundario	2 en el afluente 2 en el efluente
PTAR 9	Limón	1013	Domésticas e Industriales	Río	16	Secundario	3 en el afluente 3 en el efluente
PTAR 10	Puntarenas		Vertedero	Río		Secundario	2 en el afluente 1 en el efluente

Fuente. Elaboración propia, a partir de información obtenida por el CICA, 2020

Tabla 9. Ecotoxicidad de afluentes y efluentes de PTAR reportado como EC₅₀ y unidades tóxicas (TU) de acuerdo con los bioensayos agudos en *D. magna* y Microtox®.

Plantas de tratamiento	Afluente						Efluente					
	<i>Daphnia magna</i>			Microtox®			<i>Daphnia magna</i>			Microtox®		
	EC ₅₀ (%)	TU	Clase toxicidad	EC ₅₀ (%) 15 min.	TU	Clase toxicidad	EC ₅₀ (%)	TU	Clase toxicidad	EC ₅₀ (%) 15 min.	TU	Clase toxicidad
PTAR 1	36,41	2,75	II	51,38	1,95	II	89,81	1,11	II	Hormesis	0	0
	74,67	1,34	II	>100	0	0	>100	0	0	Hormesis	0	0
	>100	0*	0	33,16	3,02	II	85,70	1,17*	II	Hormesis	0	0
PTAR 2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	52,59	1,90	II	Hormesis	0	0
	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	51,33	1,95	II	Hormesis	0	0
	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	76,40	1,31	II	Hormesis	0	0
PTAR 3	>100	0	0	>100	0	0	>100	0	0	Hormesis	0	0
	29,74	3,36	II	>100	0	0	>100	0	0	Hormesis	0	0
	>100	0	0	>100	0	0	>100	0	0	>100	0	0
PTAR 4	18,44	5,42	II	63,98	1,56	II	>100	0	0	Hormesis	0	0
	77,61	1,29	II	22,83	4,38	II	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	68,03	1,47	II	12,76	7,84	II	>100	0	0	>100	0	0
PTAR 5	13,26	7,54	II	45,35	2,20	II	>100	0	0	66,69	1,50	II
	>100	0	0	6,61	15,13	III	>100	0	0	Hormesis	0	0

PTAR 6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	>100	0	0	Hormesis	0	0
	10,33	9,68	II	Hormesis	0	0	>100	0	0	Hormesis	0	0
	78,30	1,28	II	25,26	3,96	II	>100	0	0	Hormesis	0	0
PTAR 7	12,14	8,24	II	22,44	4,46	II	>100	0	0	>100	0	0
	>100	0	0	71,80	1,39	II	>100	0	0	>100	0	0
	22,94	4,36	II	10,90	9,17	II	>100	0	0	42,61	2,35	II
PTAR 8	5,56	17,98	III	5,83	17,15	III	>100	0	0	>100	0	0
	75,57	1,32	II	16,49	6,06	II	>100	0	0	>100	0	0
PTAR 9	>100	0	0	43,04	2,32	II	>100	0	0	Hormesis	0	0
	99,46	1,00	I	27,49	3,64	II	>100	0	0	Hormesis	0	0
	47,82	2,09	II	55,04	1,82	II	>100	0	0	Hormesis	0	0
PTAR 10	1,69	59,17	III	2,24	44,64	III	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	1,52	65,79	III	3,10	32,26	III	3,29	30,40	III	13,44	7,44	II

Fuente. Elaboración propia, 2020

N/A. Sin dato de muestra (no colectada) o análisis.

*Aumento de toxicidad del afluente al efluente.

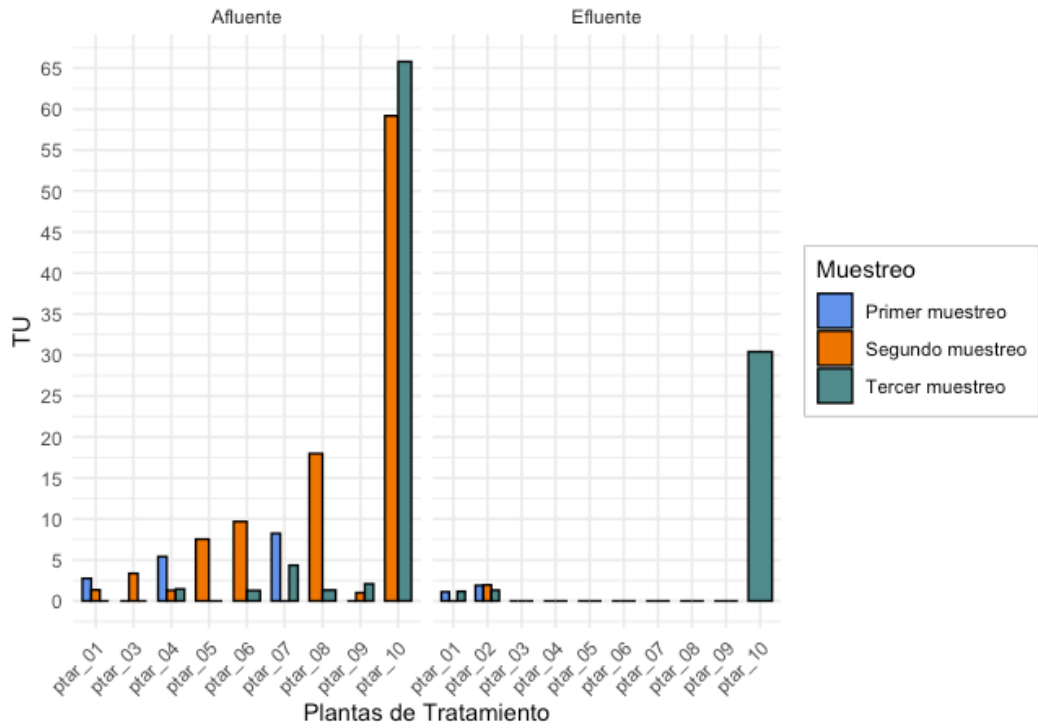


Figura 2. Toxicidad (TU) de acuerdo con ensayo agudo en *Daphnia magna* en afluentes y efluentes de PTARs muestreadas durante tres épocas distintas.

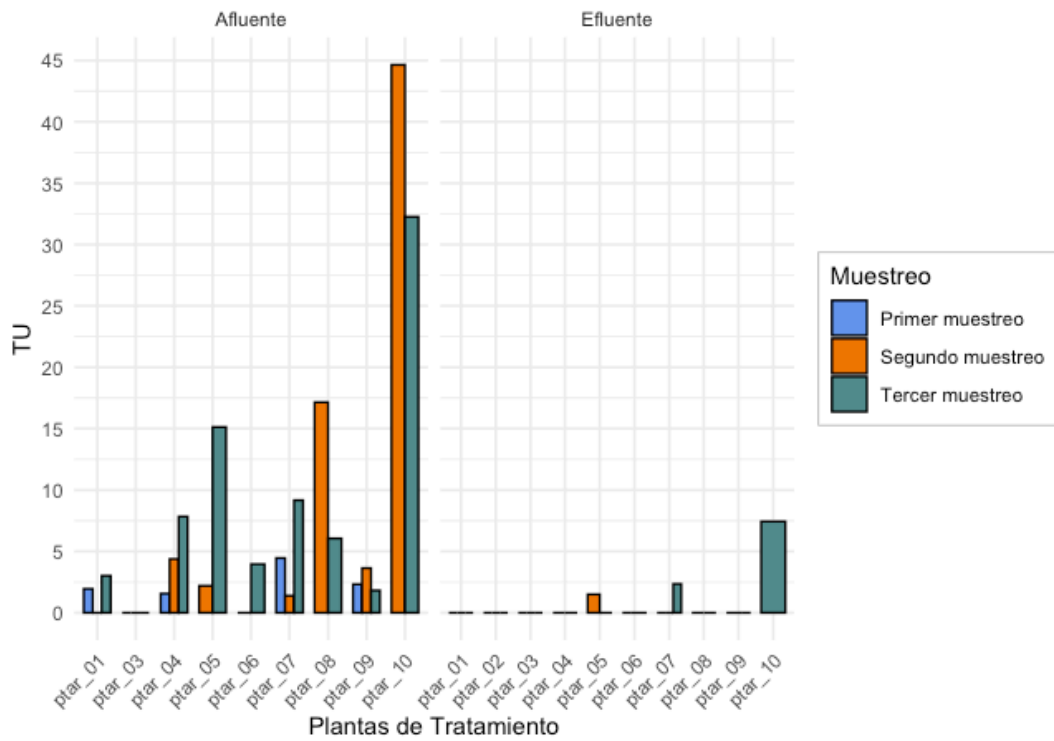


Figura 3. Toxicidad (TU) de acuerdo con ensayo Microtox® en afluentes y efluentes de PTARs muestreadas durante tres épocas distintas.

Aunado al análisis ecotoxicológico, también se cuantificó la presencia de CE's en las muestras. La cuantificación realizada por LAPCO reporta que hay presencia de fármacos en los afluentes y efluentes de las plantas (Tabla 10). No obstante, en algunos efluentes no se detectaron fármacos (Figura 4). En total se reportó 331 detecciones de CE's que se distribuyen en 28 fármacos diferentes. Los de mayor frecuencia son 1,7-dimetilxantina en concentraciones que van desde los 0,15 a 24,63 µg/L, cafeína entre 0,18 y 193,48 µg/L, acetaminofén 0,59 y 42,31 µg/L, ibuprofeno 0,44 y 88,65 µg/L y naproxeno entre 0,21 a 17,3 µg/L todos con más de 20 detecciones (Ver anexo N° 3). Estos CE's también han sido compuestos de mayor frecuencia en otros estudios (Peña-Álvarez y Castillo-Alanís, 2015; Sim et al., 2011). Lo anterior por ser fármacos de gran uso por la población, por ejemplo, la cafeína por bebidas como el café, té, u otras y los tres últimos por su alto consumo y la facilidad de obtenerlos sin receta médica.

La planta con mayor cantidad de fármacos durante los tres muestreos fue la PTAR_7 con un total de 46 compuestos en el afluente y 41 en el efluente (Tabla 10). El primer muestreo del afluente de la PTAR_7 es el que más fármacos diferentes reporta con 22 CE's en comparación al resto de las plantas (Figura 4). Los CE's detectados con mayores concentraciones son la cafeína con 114,85 µg/L, acetaminofén 33,97 µg/L y 1,7-dimetilxantina con 24,63 µg/L (Ver anexo N° 3). Estos compuestos como ya se han mencionado anteriormente son de alto consumo por la población, por lo que denota el porqué hay mayor presencia de estos en las PTARs. Además, por su ubicación y la cantidad de población que cubre la planta (Tabla 8).

A partir de los datos ecotoxicológicos y la cuantificación de los CE's, se observa que las concentraciones y cantidades de fármacos detectados pueden no tener una correlación en el efecto tóxico de las muestras a los organismos. Esto debido a que la muestra incluye gran cantidad de materia orgánica y otros xenobióticos (Araújo et al., 2005). Además, de que las concentraciones reportadas de cada fármaco en las muestras, son más bajas que su EC₅₀ reportado (Tabla 11). Asimismo, se observa que los CE's de la entrada a la salida el 43,08% se elimina y el 34,87% disminuye su concentración (Ver anexo N° 3). Por lo que se observa un grado de eficiencia en el proceso de cada planta. Este resultado también es reportado en otros estudios en el que se analizó entradas y salidas de plantas de tratamiento (De Jesus Gaffney et al., 2017; Lacey et al., 2008; Gracia-Lor et al., 2012).

La mayor presencia de fármacos se da en el primer muestreo que corresponde a la época lluviosa, con un total de 128 compuestos, le sigue transición con 111 fármacos y por última la seca con 92 detecciones que corresponde al segundo muestreo (Figura 4). Un posible factor del por qué hay mayor presencia de compuestos en el primer muestreo es debido al aumento de gripes o enfermedades que la época genera, variable también expuesta en otra investigación (Mohapatra et al., 2016).

Tabla 10. Número de detecciones de CEs en las muestras de plantas de tratamiento de aguas residuales.

Plantas de tratamientos	Total de fármacos detectados Afluentes	Total de fármacos detectados Efluentes	Plantas de tratamientos	Total de fármacos detectados Afluentes	Total de fármacos detectados Efluentes
PTAR 1	31	18	PTAR 6	17	14
PTAR 2	N/A*	24	PTAR 7	46	41
PTAR 3	15	11	PTAR 8	22	6
PTAR 4	36	13	PTAR 9	11	8
PTAR 5	10	2	PTAR 10	4	2

Fuente. Elaboración propia a partir de datos reportados por Laboratorio de Plaguicidas y Compuestos Orgánicos del CICA, 2020

*N/A. Afluente no muestreado

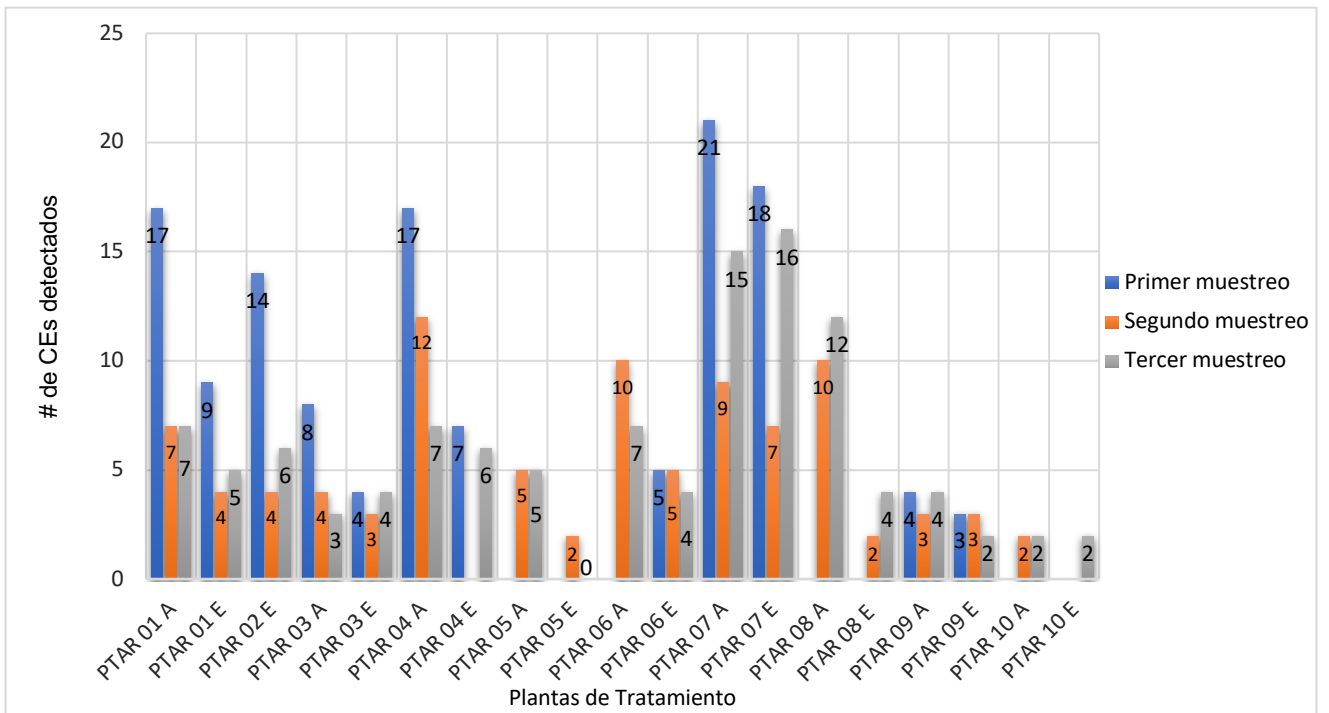


Figura 4. Número de detecciones de CE en afluentes y efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales según la época de muestreo.

*Afluentes no muestreados PTAR 2 (las 3 épocas), PTAR 5, 6, 8 y 10 sin primer muestreo.

Efluentes no muestreados PTAR 4 segundo muestreo, PTAR 8 primer muestre y PTAR 10 (1º y 2º muestreo)

Tabla 11. Concentración máxima ($\mu\text{g/L}$) de CEs con más de 8 detecciones en total para todos los afluentes y efluentes de Plantas de Tratamiento.

Fármacos	Concentración Max. en afluente ($\mu\text{g/L}$)	PTAR	Muestreo	EC_{50} <i>Daphnia magna</i> (mg/L)	EC_{50} <i>Microtox</i>® (mg/L)	Referencias toxicidad
1,7-Dimetilxantina	24,63	7	1	>100,00 a <400,00	>1000,00	Tabla 4
Acetaminofén	42,31	4	1	40,00	-	(Du et al., 2016)
Cafeína	193,48	5	2	182,00	54,21	(Camacho-Muñoz et al., 2010; Gheorghe et al., 2016)
Cefalexina	14,36	4	1	> 400,00	> 1000,00	Tabla 4
Ciprofloxacina	2,42	7	1	65,30	11,50	(Martins et al., 2012)
Difenhidramina	0,63	7	1	0,37	-	(Berninger et al., 2011)
Gemfibrozil	11,15	7	1	10,40	35,30	(Rosal et al., 2009; Han et al., 2006)
Ibuprofeno	6,06	1	1	9,06	37,50	(Ra et al., 2008; Halling-Sørensen et al., 1998)
Ketoprofeno	12,19	8	2	43,65	16,21	(Gheorghe et al., 2016)
Naproxeno	5,02	7	1	16,95	46,72	(Gheorghe et al., 2016)
Sulfametoxazol	2,02	8	3	123,10		(Park y Choi, 2008)
Trimetoprim	2,95	6	2	167,40	176,70	(Kim et al, 2007)

Fuente. Elaboración propia a partir de datos reportados por Laboratorio de Plaguicidas y Compuestos Orgánicos del CICA, 2020

4.2.2.2 Muestras de efluentes hospitalarios

Se trabajó con un total de ocho hospitales, tres muestras por hospital y época para un total de 27. No obstante, el hosp_8 es el único que tiene dos puntos de muestreo ya que cuenta con una planta de tratamiento propia (Tabla 12).

El análisis por el método de toxicidad aguda en *D. magna* 10 muestras presentaron un $EC_{50} > 100\%$, es decir, no tóxicas. Según el sistema de clasificación de muestras ambientales (Tabla 7) se obtiene que 17 muestras reportan toxicidad, de las cuales 16 son tóxicas tipo II y una tipo IV o extremadamente tóxica. Esta última con un EC_{50} de 0,81% (Tabla 13; Figura 5). En cuanto a Microtox®, 5 muestras presentan hormesis, seis muestras son no tóxicas, 13 son tóxicas clase II, y tres como muy tóxicas, es decir, tipo III (Tabla 13; Figura 5). Al igual que en el ensayo anterior la muestra más tóxica es la tercera muestra del afluente del hosp_8 con un EC_{50} de 2,89%.

Aunado a los resultados de toxicidad, se observa que el EC_{50} reportado no establece una época de muestreo como dominante según la toxicidad. Sin embargo, la variación puede deberse al lugar de muestreo, actividades médicas, tamaño de hospital y cantidad de pacientes del día, entre otros (Cidlinová et al., 2018).

Tabla 12. Datos descriptivos de hospitales muestreados.

Código hospitales	Provincia	Población adscrita	# Camas	Punto de muestreo	Total de muestras
Hosp_1	San José	-	-	Alcantarillado Municipal	3
Hosp_2	Cartago	-	-	Alcantarillado Municipal	3
Hosp_3	San José	912 076	240	Alcantarillado Municipal	3
Hosp_4	San José	802 841	600	Alcantarillado Municipal	3
Hosp_5	San José	1 531 395	400	Alcantarillado Municipal	3
Hosp_6	San José	1 055 400	500	Alcantarillado Municipal	3
Hosp_7	San José	4 301 712	70	Alcantarillado Municipal	3
Hosp_8	San José	4 301 712	100	Afluente y efluente PTAR	3 en afluente 3 en efluente

Fuente. Elaboración propia, a partir de información obtenida por el CICA, 2020

Tabla 13. Ecotoxicidad de muestras hospitalarias reportado como EC₅₀ y unidades tóxicas (TU) de acuerdo con bioensayos agudos en *D. magna* y Microtox®.

Hospitales	<i>Daphnia magna</i>			MICROTOX®		
	EC ₅₀ (%)	TU	Clase toxicidad	EC ₅₀ (%) 15 min.	TU	Clase toxicidad
Hosp_1	54,29	1,84	II	31,96	3,12	II
	20,34	4,92	II	6,47	15,46	II
	71,70	1,39	II	Hormesis	0	0
Hosp_2	> 100	0	0	60,21	1,66	II
	> 100	0	0	> 100	0	0
	52,75	1,90	II	> 100	0	0
Hosp_3	6,24	16,02	II	4,28	23,36	III
	> 100	0	0	Hormesis	0	0
	85,07	1,18	II	> 100	0	0
Hosp_4	31,12	3,21	II	6,30	15,87	III
	23,22	4,31	II	> 100	0	0
	19,03	5,25	II	25,10	3,98	II
Hosp_5	> 100	0	0	79,03	1,26	II
	> 100	0	0	42,31	2,36	II
	44,47	2,24	II	65,67	1,52	II
Hosp_6	73,96	1,35	II	68,22	1,46	II
	53,07	1,88	II	14,75	6,78	II
	39,95	2,50	II	45,44	2,20	II
Hosp_7	76,33	1,31	II	> 100	0	0
	> 100	0	0	Hormesis	0	0
	76,16	1,31	II	> 100	0	0
Hosp_8 Afluente	> 100	0	0	90,20	1,10	II
	30,43	3,29	II	30,65	3,26	II
	0,81	123,46	IV	2,89	34,60	III
Hosp_8 efluente	> 100	0	0	44,28	2,26	II
	> 100	0	0	Hormesis	0	0
	> 100	0	0	Hormesis	0	0

Fuente. Elaboración propia, 2020

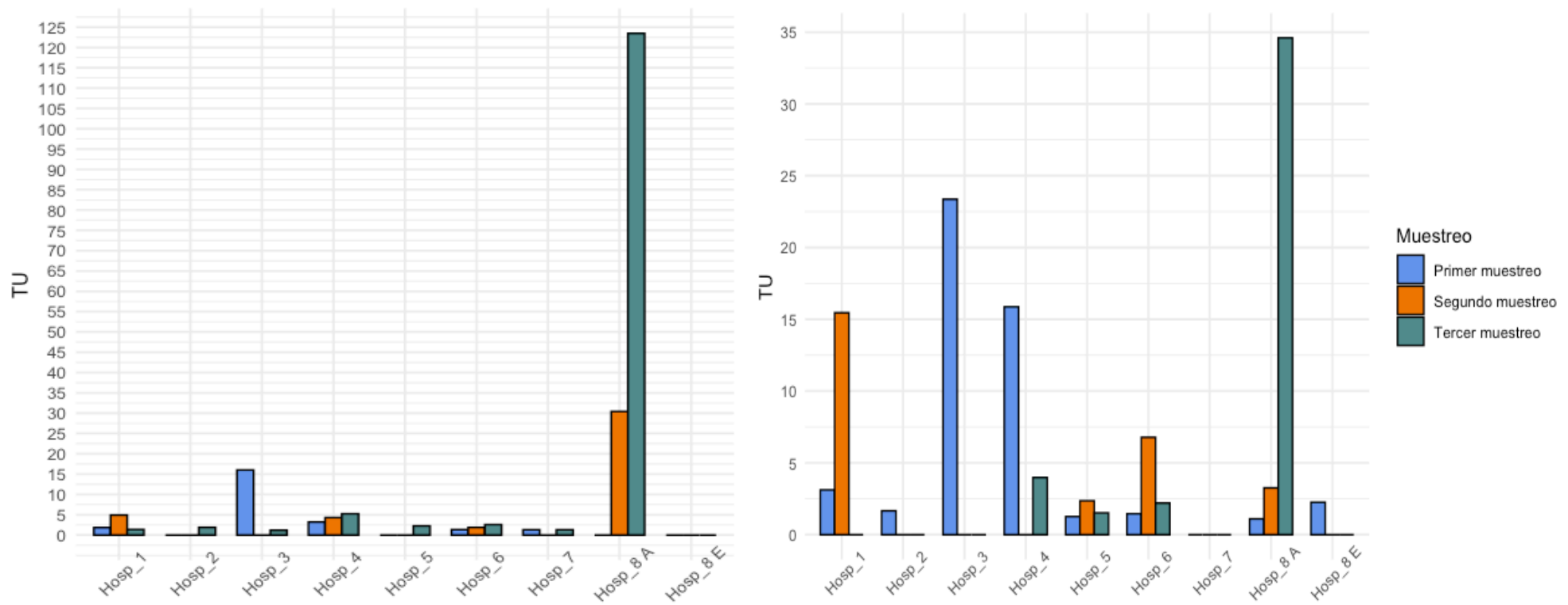


Figura 5. Toxicidad en TU de efluentes hospitalarios en *D. magna* (Izquierda) Microtox® (Derecha)

En comparación con los afluentes de las PTARs, estas presentan menos muestras tóxicas para ambos organismos. Para *D. magna* se obtuvo un 70,93% y 73,91% del total de las muestras de las PTARs y hospitalarias respectivamente. Para Microtox® un 62,50% (PTARs) y 78,26% (hospitalarias) respectivamente. La diferencia observada puede deberse a que las plantas de tratamiento cubren una mayor parte de la población y no un sector en específico, es decir, las aguas residuales de las PTAR pueden presentar mayor cantidad de xenobióticos y materia orgánica que afecte de mayor manera a los organismos en estudio.

En cuanto a la detección de CEs por parte de LAPCO, se reporta que hay presencia de 32 medicamentos con 214 detecciones en total (Ver anexo N° 4). Los fármacos de mayor presencia son la cafeína en concentraciones que van desde 1,34 a 208,76 µg/L, 1,7-dimetilxantina entre 0,32 y 38,6 µg/L, acetaminofén (3,33 a 155,62) µg/L, ibuprofeno (0,16 y 4,73 µg/L), ketoprofeno (0,26 a 4,75 µg/L) y naproxeno (0,23 a 19,78 µg/L) todos con más de 14 detecciones (Tabla 15). Caso similar al de las plantas de tratamiento y a otros estudios realizados en aguas hospitalarias en cuanto a la alta presencia de estos cinco CEs en las muestras (Sim et al., 2011; Lin y Tsai, 2009). En este caso, los hospitales con mayor cantidad de fármacos son el #1, #3 y la entrada de la PTAR del hosp_8 y los de menor cantidad son el #2 y el efluente del hosp_8 (Tabla 14).

Tabla 14. Cantidad de fármacos detectados en cada una de las muestras de efluentes de hospitales

Hospitales	# de fármacos detectados	Hospital	# de fármacos detectados
Hosp_1	29	Hosp_2	6
Hosp_3	30	Hosp_4	27
Hosp_5	27	Hosp_6	27
Hosp_7	25		
Hosp_8	32	Hosp_8	11
Afluente		efluente	

Fuente. Elaboración propia, 2020

En relación al dato anterior, una de las 27 muestras no contiene fármacos (Figura 6). Sin embargo, todas las demás presentan concentraciones de al menos cinco compuestos (Ver anexo N° 4). La muestra con más cantidad de analitos distintos es la del primer muestreo del Hosp_1 con 19 emergentes (Figura 6). En esta, los tres fármacos con mayor concentración son 1,7-dimetilxantina con 38,6 µg/L, acetaminofén con 65,2 µg/L y cafeína

con 57,66 µg/L (Ver anexo N° 4). Sin embargo, se detectaron concentraciones de CEs más elevadas en otras muestras como la cafeína con 208,1 µg/L, acetaminofén con 155,62 µg/L y la ciprofloxacina con 149,78 µg/L (Tabla 15).

En comparación con las plantas de tratamiento las concentraciones reportadas para estos últimos fármacos son más elevadas. No obstante, para efectos de toxicidad las concentraciones detectadas son bajas según su EC₅₀ reportado. Por lo que la correlación entre concentración y efecto tóxico de la muestra puede no corresponder a la presencia de estos CEs. Ya que por ejemplo, en la muestra del tercer muestreo del hosp_3 se reporta la concentración máxima de ciprofloxacina 149,78 µg/L, sin embargo, la muestra no reporta toxicidad para *D. magna* y *V. fischeri* (Tabla 13). Por ende, la respuesta tóxica obtenida puede deberse a otra clase de sustancias, como: desinfectantes, compuestos químicos, productos de cuidado personal, marcadores radioactivos, esterilizantes, metales pesados, otros fármacos, materia orgánica, entre otros. Ya que la toxicidad en aguas residuales, en general se rige a partir de una mezcla compleja y no por la acción tóxica de un compuesto individual. (Verlicchi et al., 2014; Escher et al., 2011).

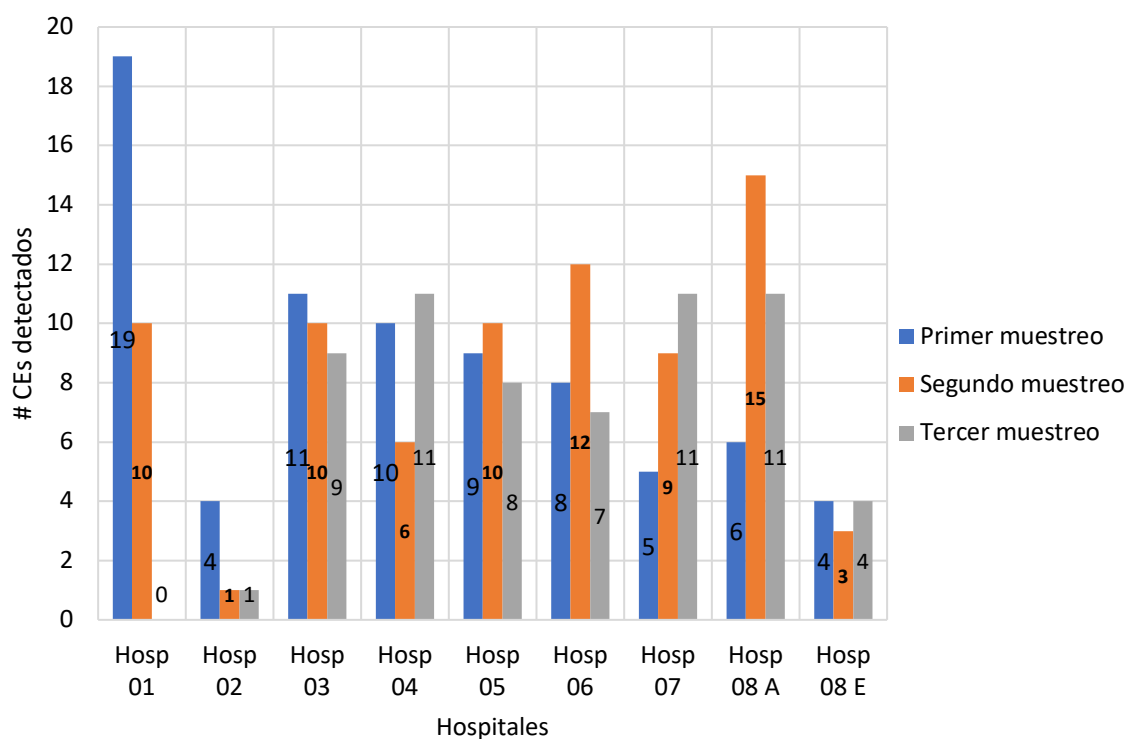


Figura 6. Número de fármacos detectados en efluentes hospitalarios según la época de muestreo.

Tabla 15. Concentración máxima y mínima ($\mu\text{g/L}$) de los fármacos con más detecciones en muestras de aguas hospitalarias.

Fármacos	Concentración Max. ($\mu\text{g/L}$)	Hospital	Concentración Min. ($\mu\text{g/L}$)	Hospital	EC_{50} D. magna (mg/L)	EC_{50} Microtox® (mg/L)	Referencias toxicidad
1,7-Dimetilxantina	14,86	7 (1er muestreo)	0,32	8 efluente (1er muestreo)	>100,00 a <400,00	>1000,00	Tabla 4
Acetaminofén	155,62	5 (2do muestreo)	1,29	6 (3er muestreo)	40,00	-	(Du et al., 2016)
Cafeína	208,76	1 (2do muestreo)	1,34	2 (1er muestreo)	182,00	54,21	(Camacho-Muñoz et al., 2010; Gheorghe et al., 2016)
Ketoprofeno	8,30	8 afluente (2do muestreo)	0,26	3 (3er muestreo)	43,65	16,21	(Gheorghe et al., 2016)
Naproxeno	19,78	2 (3er muestreo)	0,18	5 (2do muestreo)	16,95	46,72	(Gheorghe et al., 2016)
Ibuprofeno	4,73	3 (2do muestreo)	0,16	8 efluente (2do muestreo)	9,06	37,50	(Ra et al., 2008; Halling-Sørensen et al., 1998)
Ciprofloxacina	149,78	3 (3er muestreo)	0,28	7 (2do muestreo)	65,30	11,50	(Martins et al., 2012)
Difenhidramina	2,52	1 (1er muestreo)	0,16	7 (2do muestreo)	0,37	-	(Berninger et al., 2011)
Lovastatin	8,66	2 (1er muestreo)	0,11	1 (2do muestreo)	-	-	-

Fuente. Elaboración propia a partir de datos reportados por Laboratorio de Plaguicidas y Compuestos Orgánicos del CICA, 2020

Cabe destacar que el hosp_8 es el único que cuenta con planta de tratamiento. Su comportamiento es igual a las PTARs trabajadas anteriormente, ya que durante su proceso disminuye su toxicidad y elimina el 68,57% de los compuestos presentes en su efluente y disminuye 21,20% de la concentración de otros CEs (Tabla 16). Por su parte, los siete hospitales restantes se encuentran conectados al alcantarillado municipal, aspecto también observado en otros países (Verlicchi et al., 2010; Pauwels y Verstraete, 2006, Magdaleno et al., 2014).

La falta de PTARs para cada hospital, es una problemática nacional y mundial debido a que promueve la aparición o propagación de patógenos resistentes a los antibióticos en los efluentes municipales (De Souza et al., 2009). En este caso, se reportó 13 antibióticos distribuidos en las muestras de hospitales, por ejemplo, el Trimetoprim, Ofloxacina y sulfametoxazol se detectaron en cinco muestras con concentraciones que van de 0,42 a 2,40 µg/L, 0,15 a 1,39 µg/L y 0,09 – 0,82 µg/L respectivamente, metronidazol en seis efluentes (0,19 a 6,72 µg/L), clindamicina en 4 muestras (0,12 - 0,85 µg/L) (Ver anexo N° 4). El antibiótico con más detecciones y con la mayor concentración reportada fue la ciprofloxacina en 12 muestras en concentraciones desde los 0,28 a los 149,78 µg/L (Tabla 15). Por lo tanto, lo anterior puede contribuir a la aparición y propagación de bacterias resistentes, esta problemática según la OMS es una de las principales amenazas de la Salud Pública, seguridad alimentaria, ambiente y el desarrollo mundial (Organización Mundial de la Salud, 2015).

Sin embargo, hay autores que consideran poco efectivo establecer una PTAR hospitalaria, ya que en los hogares también se desecha fármacos al alcantarillado público, por lo que su eliminación sería para una sola parte de los compuestos (De Souza et al., 2009; Baquero et al., 2008; Schuster et al., 2008). No obstante, el hosp_8 y su respectiva PTAR establece lo contrario ya que evidencia un alto porcentaje de eliminación y disminución en la concentración de CEs farmacológicos (Fig 7; Tabla 16). Además, de una disminución en la toxicidad de las aguas residuales (Tabla 13), resultado también obtenido en otro estudio de toxicidad de efluentes y afluentes de PTARs hospitalarios (Berto et al., 2009).

Tabla 16. Concentración($\mu\text{g/L}$) de fármacos detectados en afluente y efluente de Hosp_8

Fármacos	Primer muestreo		Segundo muestreo		Tercer muestreo	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
1,7-Dimetilxantina	8,41	0,32	4,19	-	5,99	-
Acetaminofén	10,93	-	20,34	-	54,66	-
Albeazole	-	-	0,13	-	-	-
Azitromicina	-	-	0,4	-	-	-
Bacitracina	-	-	4,58	-	-	-
Cafeína	73,81	2,78	18,48	-	39,14	-
Ciprofloxacina	-	-	0,67	-	-	-
Claritromicina	-	-	-	-	0,78	-
Clindamicina	0,13	-	-	-	0,13	-
Diclofenaco	0,28	-	-	-	0,28	-
Difenhidramina	-	-	0,35	-	-	0,27
Doxiciclinahiclato	-	-	4,31	-	-	-
Gemfibrozil	-	-	3,11	-	1,31	-
Ibuprofeno	-	-	-	0,16	0,18	0,21
Ketoprofeno	1,82	1,67	8,3	2,05	4,75	1,01
Metronidazole	-	0,4	1,73	1,18	-	-
Naproxeno	-	-	3,86	-	1,70	-
Ofloxacina	-	-	1,39	-	0,85	0,71
Sulfametoxazol	-	-	0,15	-	-	-

Fuente. Elaboración propia a partir de datos reportados por Laboratorio de Plaguicidas y Compuestos Orgánicos del CICA, 2020

4.2.2.3 Muestras de efluentes de fincas porcinas y bovinas.

Se trabajó con 14 fincas, ocho de ganado bovino y seis de ganado porcino, ubicadas en Ochomogo, Coronado, Moravia y Turrialba, como se muestra en la Tabla 17.

Tabla 17. Datos descriptivos de fincas porcinas y bovinas muestradas

Fincas	Puntos de muestreo	Ubicación	Tipo
Finca 1	-Lavado -Posterior a biodigestor.	Moravia	Porcina
Finca 2	-Lavado -Posterior a biodigestor.	Vasquez de Coronado	Porcina
Finca 3	-Lavado -Posterior a biodigestor.	Moravia	Porcina
Finca 4	-Lavado -Posterior a laguna de oxidación.	Vasquez de Coronado	Porcina
Finca 5	-Lavado -Posterior a laguna de oxidación.	Vasquez de Coronado	Porcina
Finca 6	-Lavado -Posterior a laguna de oxidación.	Moravia	Porcina
Finca 7	-Entrada a pilas de tratamiento -Salida de pilas de tratamiento -Aguas de lavado posterior al ordeño	Ochomogo	Bovina
Finca 8	-Lavado	Turrialba	Bovina
Finca 9	-Lavado	Turrialba	Bovina
Finca 10	-Lavado	Turrialba	Bovina
Finca 11	-Lavado	Turrialba	Bovina
Finca 12	-Lavado	Turrialba	Bovina
Finca 13	-Lavado	Turrialba	Bovina
Finca 14	-Lavado	Turrialba	Bovina

Fuente. Elaboración propia, 2020

- Efluentes de fincas porcinas

Se trabajó con seis fincas en el que se recolectaron y evaluaron 30 muestras. Cada finca cuenta con dos puntos de muestreo, el primero corresponde a la zona de lavado y el segundo para las fincas 1, 2 y 3 al efluente del biodigestor y para la 4, 5 y 6 la salida de la laguna de oxidación (Tabla 17).

El análisis con *D. magna* y según la clasificación de evaluación tóxica (Tabla 7), revela que de las muestras de lavado, ocho son tóxicas de tipo II, siete muy tóxicas o de clase III y una como extremadamente tóxica o de clase IV. Esta última mostró un $EC_{50} < 1\%$ (Tabla 18). Sin embargo, a esta no se le reportó un dato específico debido a que se trabajó a concentraciones inferiores a 1% en el que mató o inmovilizó el 100% de los dafnidos. Los efluentes de biodigestores reportan seis muestras tóxicas y dos muy tóxicas. Con respecto a las salidas de las lagunas de oxidación tres muestras son tóxicas clase II y dos muy tóxicas o clase III (Tabla 18)

En cuanto a Microtox®, según la evaluación tóxica se reporta una no tóxica, cuatro tóxicas, ocho muy tóxicas y tres clase IV. Estas últimas como extremadamente tóxicas en el que su EC_{50} ronda entre 0,30% y 0,70%. Para los efluentes del biodigestor se reportan cuatro muestras con hormesis, dos tóxicas y dos muy tóxicas. Para la salida de las lagunas de oxidación se obtuvo que cinco muestras son muy tóxicas o de clase tres y una extremadamente tóxica. Esta última con un EC_{50} de 0,32% (Tabla 18).

Los resultados presentan una leve disminución de toxicidad después del tratamiento. Para *D. magna* el 84,62% de las muestras disminuye la toxicidad y para Microtox® un 69,23% (Tabla 18, Figura 7). Por lo que el tratamiento de los biodigestores y las lagunas de oxidación presentan una cierta eficiencia, sin embargo, la toxicidad de los efluentes sigue siendo elevada, resultado también observado en otro estudio (Tigini et al., 2016). No obstante, la toxicidad obtenida puede deberse a factores como la alta carga de materia orgánica, turbidez y color de la muestra (Ashworth et al., 2010).

A lo anterior, es importante incluir procesos de mejora en los tratamientos, esto para lograr una mayor disminución en la toxicidad, ya que en muchos casos el efluente es usado para riego, lo que significa un riesgo potencial para el ambiente y la salud de las personas cercanas a la finca.

Tabla 18. Ecotoxicidad de muestras de aguas residuales de fincas porcinas reportada como EC₅₀ y unidades tóxicas (TU) de acuerdo con bioensayos agudos en *D. magna* y Microtox®.

Fincas	Puntos	<i>Daphnia magna</i>			Microtox®		
		EC ₅₀ (%)	TU	Clase toxicidad	EC ₅₀ (%) 15 min.	TU	Clase toxicidad
Finca 1	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		5,84	17,12	III	0,66	151,52	IV
		28,67	3,49	II	93,36	1,07*	II
	2	26,11	3,83	II	37,88	2,64	II
		6,63	15,08	III	4,92	20,33	III
		>100	0	0	26,57	3,76	II
Finca 2	1	57,14	1,75*	II	1,41	70,92	III
		2,60	38,46	III	0,30	333,33	IV
		6,00	16,67	III	4,27	23,42	III
	2	5,11	19,57*	III	Hormesis	0	0
		22,66	4,41	II	Hormesis	0	0
		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
Finca 3	1	20,92	4,78	II	4,36	22,94	II
		11,75	8,51	II	3,57	28,01	II
		13,82	7,24	II	4,61	21,69	II
	2	21,80	4,59	II	16,79	5,96	III
		15,53	6,44	II	>100	0	0
		17,56	5,69	II	>100	0	
Finca 4	1	53,13	1,88	II	3,48	28,74	III
		2,50	40,00	III	1,08	92,59	III
		8,33	12,00	II	3,48	28,74	III
	2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		92,19	1,08	II	43,25	2,31	III
Finca 5	1	6,23	16,05	III	1,85	54,05	III
		3,88	25,77	III	0,68	147,06*	IV
		4,43	22,57	III	>100	0*	0
	2	13,34	7,5	II	4,56	21,93	III
		5,4	18,52	III	0,32	312,5*	IV
		21,25	4,71	II	2,09	47,85*	III
Finca 6	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		<1	100	IV	1,98	50,51*	III
		12,89	7,76*	II	2,25	44,44	III
	2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		13,59	7,36	II	1,68	59,52*	III
		7,84	12,76*	III	7,42	13,48	III

Fuente. Elaboración propia, 2020.

N/A. Muestreo no realizado para pruebas de ecotoxicidad.

*Aumento de toxicidad del efluente después del tratamiento.

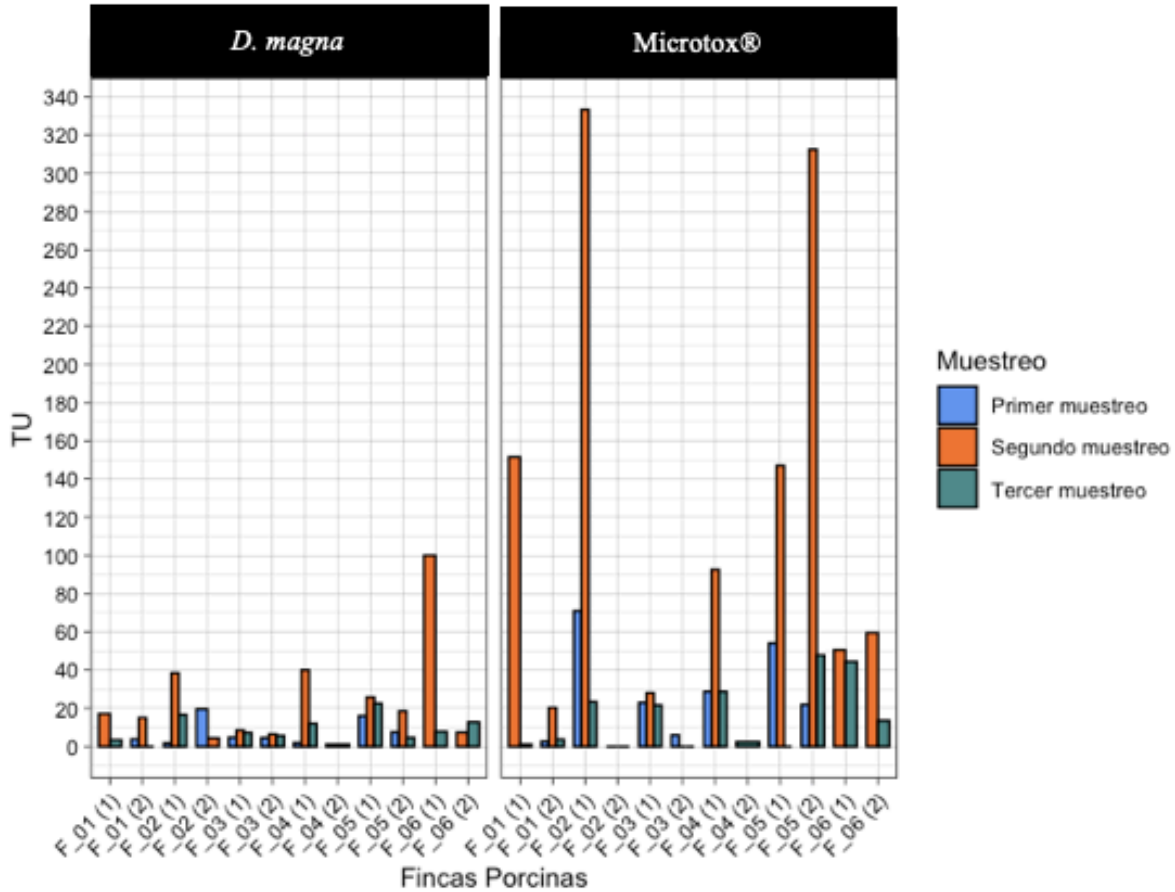


Figura 7. Toxicidad en TU de efluentes de fincas porcinas en los bioensayos de *D. magna* y Microtox®.

El código queda sujeto según el punto de muestreo y número de Finca (F). Por ejemplo F_01 (1) corresponde a finca 1, punto 1.

En cuanto a la presencia de CEs, 21 muestras presentan fármacos y 8 no reportan ningún dato. De las 21, dos puntos de muestreo reportan cuatro detecciones de CEs como el máximo número de compuestos diferentes detectados en un solo punto (Figura 8). En total, se detectó diez compuestos con un total de 43 detecciones. Los compuestos de mayor frecuencia son los antiinflamatorios Ibuprofeno con concentraciones entre los 0,33 y 65,53 µg/L, Naproxeno (0,38 y 24,98 µg/L) y Ketoprofeno (6,03 a 45,76 µg/L). Además, la acetaminofén con nueve detecciones y con concentraciones entre 0,16 y 65,79 µg/L y la cafeína con seis detecciones (0,94 y 59,94 µg/L). El resto de CEs se reportan en una o dos ocasiones, estos son risperidona, ciprofloxacina, bacitracina, 1,7-dimetilxantina y gemfibrozil (Tabla 19).

En este caso, los compuestos con las concentraciones más altas son la acetaminofén con 65,79 µg/L, ciprofloxacina con 65,53 µg/L y la cafeína con 59,94 µg/L (Tabla 17), contrario

a otros estudios en el que según una revisión bibliográfica los CEs de mayor presencia y alta concentración son las sulfonamidas, tetraciclinas y fluoroquinolonas (Wohde et al., 2016).

No obstante, del punto uno al punto dos se observa que algunos compuestos si se eliminan o disminuyen su concentración, sin embargo, otros aumentan o aparecen compuestos nuevos no detectados en el punto 1 (Tabla 19). Lo anterior, puede deberse a que el proceso de tratamiento no es el adecuado, ya que al igual que con los datos ecotoxicológicos no se observa una disminución tan efectiva entre los puntos.

Por otro parte, no se visualiza una relación entre los datos de toxicidad con los CEs detectados en cada muestra. Lo anterior, debido a que se detectaron pocos CEs en cada punto y las concentraciones de los compuestos son muy bajas en comparación a los datos de toxicidad reportado para cada uno de ellos (Figura 8; Tabla 19). Los datos de EC_{50} para algunos compuestos como acetaminofén, cafeína y ciprofloxacina y otros detectados en las fincas porcinas se observan en la Tabla 11 y en otros estudios (Du et al., 2016; Gheorghe et al., 2016; Martins et al., 2012; Ra et al., 2008; Whitacre, 2012).

Por último, de los 10 CEs, cuatro son de uso veterinario y humano como la acetaminofén, ketoprofeno, ciprofloxacina y bacitracina (Singh et al., 2009). En cuanto a la cafeína, 1,7-Dimetilxantina, risperidona, gemfibrozil, ibuprofeno y naproxeno son de uso humano, por lo que su presencia puede deberse a que las casas o los baños y pilas de la granja están conectados entre sí. No obstante, todos exceptuando la cafeína se reportan una sola vez con concentraciones menores a $1 \mu g/L$. Con respecto a la cafeína y su metabolito 1,7-dimetilxantina, estas pueden provenir de la ingestión de café o té por parte del dueño o los empleados.

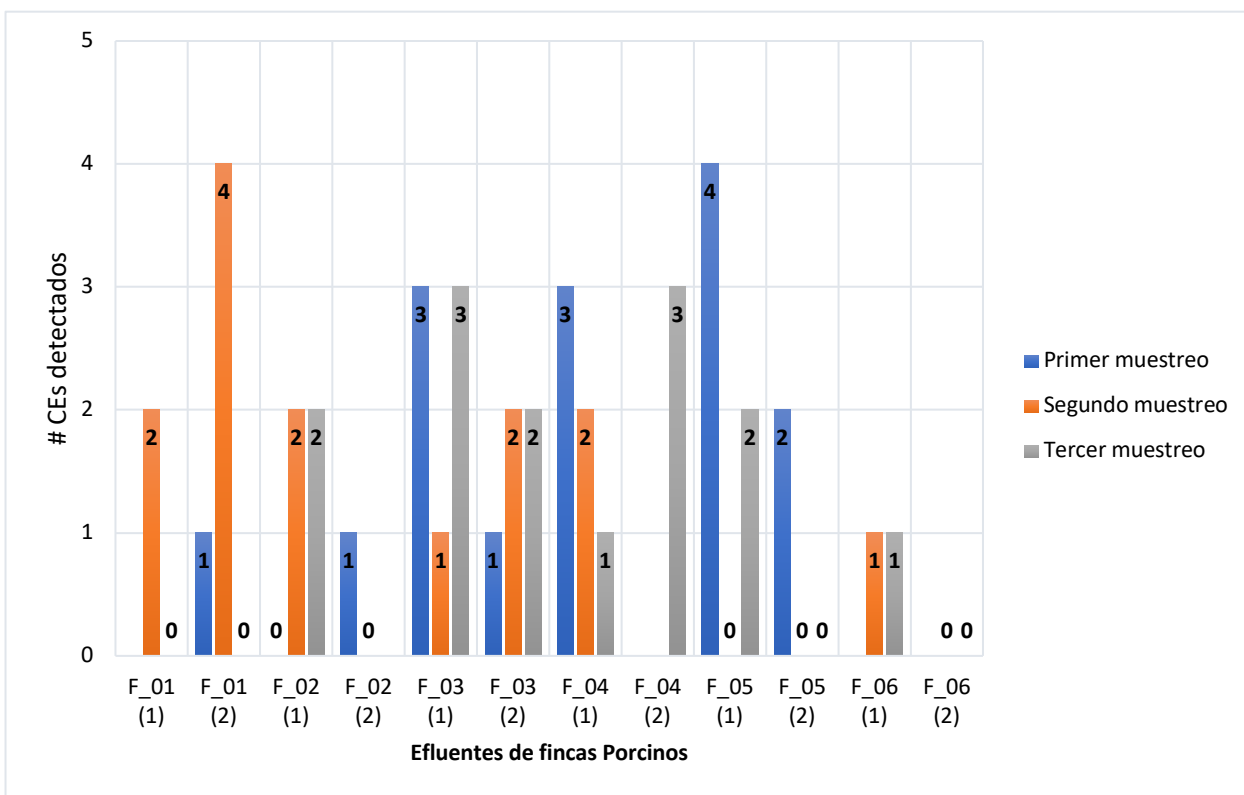


Figura 8. Número de detecciones de CEs por muestreo en los efluentes de fincas porcinas.

Tabla 19. Concentración ($\mu\text{g/L}$) de fármacos detectados en Fincas porcinas

CEs	Finca	Concentración Punto 1	Concentración Punto 2	Muestreo	$EC_{50} D. magna$ mg/L	$EC_{50} Microtox$ ® mg/L	Referencias
1,7-Dimetilxantina	4	-	0,29	Tercero	> 100 < 400	> 1000,00	Tabla 4
Acetaminofén	1	0,58	0,89	Segundo	40,00	-	(Du et al., 2016)
	2	0,54	N/A	Tercero			
	3	51,8	-	Primero			
	4	35,64	N/A	Primero			
	5	65,79	26,93	Tercero			
Bacitracina	5	5,6	-	Primero	30,5	-	(Brambilla et al., 1994;
Cafeína	1	0,94	-	Segundo	182,00	54,21	(Camacho-Muñoz et al., 2010; Gheorghe et al., 2016)
	2	1,25	-	Segundo			
	3	6,21	-	Primero			
	4	59,94	N/A	Primero			
		5,75	N/A	Segundo			

	5	5,60	0	Tercero			
Ciprofloxacina	4	65,53	N/A	Primero	65,30	11,50	(Martins et al., 2012)
	5	19,77	-	Segundo			
Gemfibrozil	3	0,19	-	Tercero	10,40	35,30	(Rosal et al., 2009; Han et al., 2006)
Ibuprofeno	1	-	0,33	Segundo	9,06	37,50	(Ra et al., 2008; Halling-Sørensen et al., 1998)
	2	1,32	-	Segundo			
	2	0,39	N/A	Tercero			
	3	1,33	2,80	Tercero			
	4	0,82	N/A	Segundo			
	4	0,89	1,71	Tercero			
	5	1,63	-	Tercero			
	6	2,21	-	Segundo			
	6	1,04	-	Tercero			
Ketoprofeno	1	N/A	45,76	Primero	43,65	16,21	(Gheorghe et al., 2016)
	2	-	8,09	Segundo			
	3	23,57	21,35	Primero			
	5	12,86	6,03	Primero			
Naproxeno	1	-	0,38	Segundo	16,95	46,72	(Gheorghe et al., 2016)
	2	29,98	5,11	Segundo			
		4,27	6,62	Tercero			
Risperidona	1	-	1,00	Segundo	6,00	-	(Whitacre, 2012)

Fuente. Elaboración propia a partir de datos reportados por Laboratorio de Plaguicidas y Compuestos Orgánicos del CICA, 2020

*N/A. Muestreo no realizado

- Efluentes de fincas Bovinas

Se trabajó con ocho fincas, a las que se muestreó en tres ocasiones, solo a dos se les realizó dos muestreos y la finca 7 tiene tres puntos muestreados para un total de 28 muestras (Tabla 17).

El análisis de las 28 muestras en *D. magna* y según la clasificación de evaluación tóxica de muestras ambientales (Tabla 7) indicó que dos muestras no son tóxicas, 21 son tóxicas de clase II, cuatro clase III o muy tóxicas y una clase IV siendo esta la más tóxica con un $EC_{50} < 1\%$ (Tabla 17). Esta muestra al igual que la de mayor toxicidad de las fincas porcinas no reportó un dato específico debido a que a concentraciones inferiores a 1% mataba o inmovilizaba el 100% de los neonatos. En cuanto a Microtox®, se encontraron dos muestras no tóxicas, cinco tóxicas, 20 muy tóxicas o clase III y una clase IV. Esta última con un EC_{50}

de 0,50% clasificada como extremadamente tóxica (Tabla 20). Por lo que no se observa una diferencia significativa entre la época de muestreo, ya que estas muestras no se ven tan influenciadas por las época climáticas (Figura 9).

Tabla 20. Ecotoxicidad de muestras de aguas residuales de fincas bovinas reportada como EC₅₀ y unidades tóxicas (TU) de acuerdo con bioensayos agudos en *D. magna* y Microtox®.

Fincas	Puntos	<i>Daphnia magna</i>			Microtox®		
		EC ₅₀ (%)	TU	Clase toxicidad	EC ₅₀ (%) 15 min.	TU	Clase toxicidad
Finca 7	1	> 100	0	0	36,29	2,76	II
		28,85	3,47	II	5,92	16,89	III
		17,72	5,64	II	5,75	17,39	III
	2	4,41	22,68	III	9,41	10,63	III
		27,35	3,66	II	6,68	14,97	III
		6,16	16,23	III	30,23	3,31	II
	3	>100	0	0	17,22	5,81	II
		30,96	3,23	II	8,12	12,32	III
		56,64	1,77	II	12,43	8,05	II
Finca 8	1	5,03	19,88	III	4,94	20,24	III
		30,68	3,26	II	0,51	196,08	IV
		36,79	2,72	II	9,55	10,47	III
Finca 9	1	9,38	10,66	II	2,54	39,37	III
		25,99	3,85	II	1,97	50,76	III
		43,48	2,30	II	9,55	10,47	III
Finca 10	1	<1	100	IV	5,70	17,54	III
		32,59	3,07	II	11,20	8,93	II
		8,97	11,15	III	1,77	56,50	III
Finca 11	1	23,30	4,29	II	4,70	21,28	III
		33,35	3,00	II	1,23	81,30	III
		94,41	1,06	II	9,19	10,88	III
Finca 12	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		13,81	7,24	II	1,33	75,19	III
		10,89	9,18	II	4,80	20,83	III
Finca 13	1	74,35	1,34	II	>100	0	0
		23,89	4,19	II	5,37	18,62	III
		10,89	9,18	II	4,60	21,74	III
Finca 14	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		35,58	2,81	II	4,74	21,10	III
		17,77	5,63	II	>100	0	0

Fuente. Elaboración propia, 2020.

*N/A. Muestreo no realizado

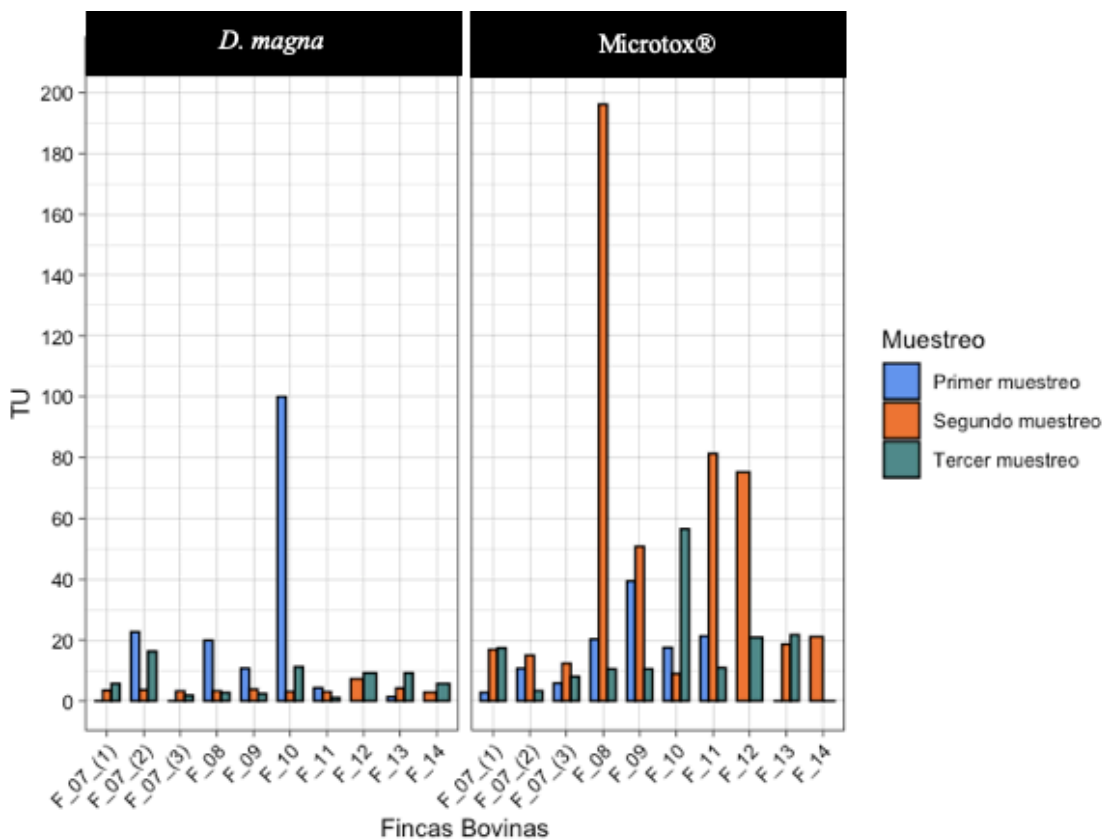


Figura 9. Toxicidad en TU de efluentes de fincas bovinas en los bioensayos de *D. magna* y Microtox®.

El código queda sujeto según el punto de muestreo y número de Finca (F). Por ejemplo F_07_(1) corresponde a finca 7, punto 1.

En comparación con los muestras porcinas, ambas presentan toxicidad en la mayoría de muestras, no obstante, hay una proporción mayor de muestras tóxicas porcinas (96,67%) que bovinas (92,86%) en *D. magna*. Para Microtox®, hay más muestras tóxicas bovinas (92,86%) que porcinas (83,33%)

En cuanto a la presencia de fármacos, según LAPCO se reporta que seis muestras no presentan CEs, dos reportan tres compuestos como el máximo de fármacos diferentes detectados y las restantes solo uno o dos CEs (Figura 10). En total se reporta la presencia de 10 compuestos con un total de 34 detecciones (Tabla 21). Los medicamentos de mayor frecuencia fueron naproxeno con concentraciones entre 0,17 a 17,92 µg/L, la cafeína (0,26 a 1,68 µg/L) y acetaminofén entre 0,52 a 2,79 µg/L cada una con 14, 5 y 5 hallazgos respectivamente. Además se reportó datos de rispiridona, clindamicina, ciprofloxacina, albendazol, lovastatina, ibuprofeno y ketoprofeno. Entre las concentraciones más altas reportadas son Naproxeno con 17,92 µg/L, albeazole con 9,5 µg/L y acetaminofén con 2,79 µg/L (Tabla 21). Del restante, las concentraciones son inferiores a 1 µg/L, datos bajos en

comparación a sus datos de toxicidad reportados (Martins et al., 2012; Gheorghe et al., 2016; Ra et al., 2008, Whitacre, 2012)

A diferencia de otros estudios, los compuestos más predominantes en efluentes de fincas son los antibióticos (Sim et al., 2011; Sim et al., 2013; Wei et al., 2011). Además, y en comparación con los efluentes ya analizados en los puntos anteriores se observa una menor cantidad y concentración de CEs. Por lo que, al igual que en las demás muestras no se observa una relación entre toxicidad y fármacos detectados.

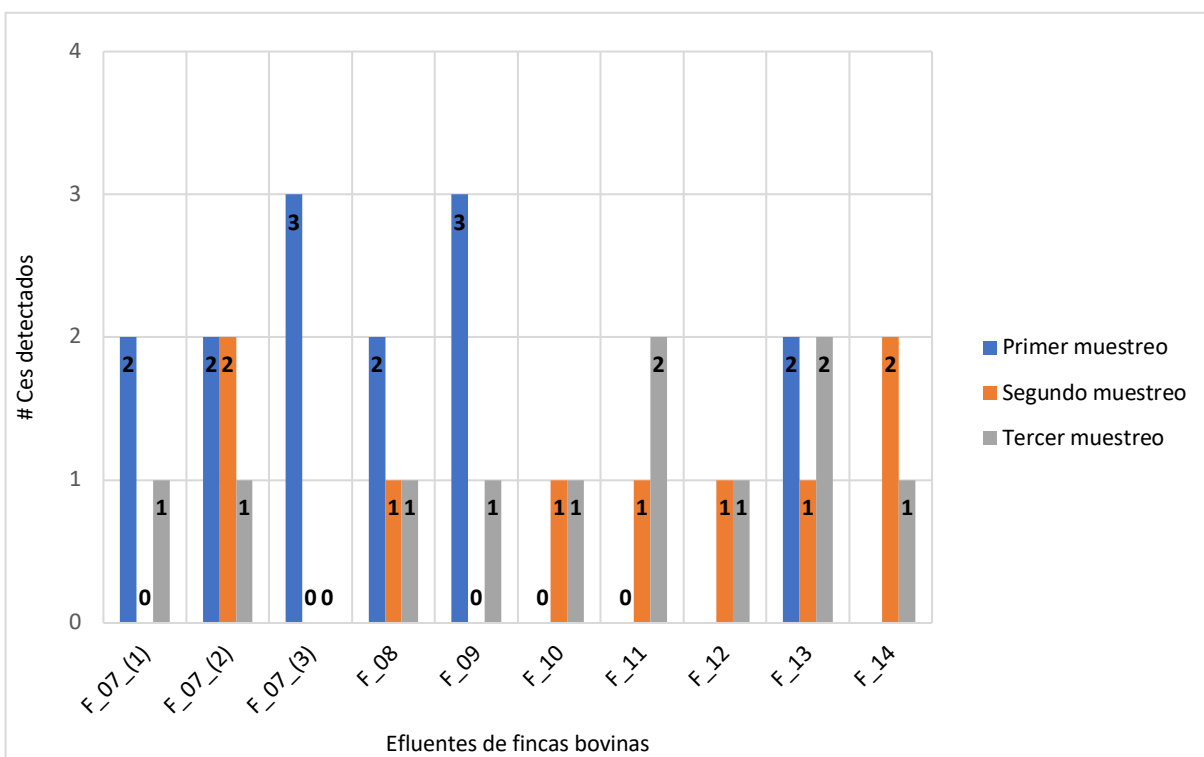


Figura 10. Número de detecciones de CEs por muestreo en los efluentes de fincas bovinas.

Tabla 21. Concentración ($\mu\text{g/L}$) de fármacos detectados en Fincas bovinas

CEs	Finca	Concentración $\mu\text{g/L}$	Muestreo	EC_{50} D. <i>magna</i> mg/L	EC_{50} Microtox® mg/L	Referencias
Acetaminofén	7	0,84	Segundo (Punto 2)	40,00	-	(Du et al.,2016)
	8	0,82	Primero			
	9	2,79	Primero			
	13	0,52	Primero			
	14	1,50	Primero			
Albendazol	11	9,50	Tercero	180,40	-	Lannacone y Alvariño, 2007)
Cafeína	7	0,29	Primero (Punto 1)	182,00	54,21	(Camacho-Muñoz et al., 2010; Gheorghe et al., 2016)
		1,68	Tercero (Punto 1)			
		0,50	Primero (Punto 2)			
		0,26	Primero (Punto 3)			
Ciprofloxacina	13	0,30	Tercero	65,30	11,50	(Martins et al., 2012)
Clindamicina	10	0,31	Primero	> 100 < 200	356, 46	Tabla 4
Ibuprofeno	7	0,91	Tercero (Punto 2)	9,06	37,50	(Ra et al., 2008; Halling-Sørensen et al., 1998)
Ketoprofeno	7	0,29	Segundo (Punto 2)	43,65	16,21	(Gheorghe et al., 2016)
	9	0,29	Primero			
Lovastatina	13	0,26	Tercero	-	-	
Naproxeno	8	0,95	Primero	16,95	46,72	(Gheorghe et al., 2016)
		0,42	Segundo			
		0,23	Tercero			
	9	17,92	Primero			
		0,42	Tercero			
	10	0,32	Tercero			
	11	0,32	Segundo			
		0,41	Tercero			
	12	0,37	Segundo			
		1,71	Tercero			
13	12,63	Primero				
	3,31	Segundo				

	14	0,17 4,28	Segundo Tercero			
Risperidona	7	0,2	Primero (Punto 1)	6,00	-	(Whitacre, 2012)
		0,16	Primero (Punto 2)			
		0,64	Primero (Punto 3)			

Fuente. Elaboración propia a partir de datos reportados por Laboratorio de Plaguicidas y Compuestos Orgánicos del CICA, 2020

En la Tabla 21, se observa cinco CEs de uso humano como la cafeína, risperidona, naproxeno, ibuprofeno y lovastatina, el resto son de uso humano y veterinario. La presencia de estos CEs puede deberse por su uso del fármaco dentro de la finca, sin embargo, se observa que sus concentraciones presentes son inferiores a 2 µg/L. Asimismo, las muestras de efluentes de fincas porcinas y bovinas tienen poca presencia de fármacos de tipo de antibiótico. Sin embargo, en las fincas bovinas se destaca la ciprofloxacina como uno de los compuestos de mayor concentración, en este caso, su concentración en relación a su EC₅₀ es bajo, no obstante, su riesgo ambiental puede ser significativo al no tener un sistema de tratamiento que degrade o elimine el compuesto.

La poca cantidad de antibióticos es de importancia ya que el riesgo ambiental por la producción y proliferación de patógenos resistentes a antibióticos es bajo. Además, se denota que el uso de estos compuestos por parte de las fincas es de manera adecuada y responsable, ya que estas no se encuentran conectada a un alcantarillado municipal y la mayoría de las fincas usan sus aguas para riego.

4.3 Ecotoxicidad de mezclas binarias farmacológicas

El análisis ecotoxicológico de las mezclas binarias se realizó con tres CEs. Los fármacos seleccionados son el trimetoprim (TRI), ketoprofeno (KET) y fluoxetina (FLU), fármacos detectados en las muestras analizadas en el punto 4.2. Estos cuentan con reportes de EC_{50} para *D. magna* y Microtox® en otros estudios (Christensen et al., 2007; Brooks et al., 2003, Kim et al., 2007; Gheorghe et al., 2016; Ponce, 2017; De Liguoro et al., 2009) (Tabla 22). En este caso, cada mezcla es una combinación diferente entre los compuestos (FLU:TRI, TRI:KET, FLU:KET). Para probar si las mezclas presentan sinergia o antagonismo, se probó seis experimentos de toxicidad, tres en *D. magna* y tres en Microtox®. Los bioensayos se trabajaron según los apartados 3.5.2 y 3.5.3 de la metodología. En cada ensayo se expuso el organismo a dos sustancias individuales y tres pruebas de mezclas para un total de 5 variables (75%:25%, 50%-50% y 25%:75%), esto a partir de la concentración madre de cada compuesto individual (Tabla 23).

Tabla 22. CEs seleccionados para el análisis ecotoxicológico en *D. magna* y Microtox® por medio de mezclas binarias.

Compuesto	Tipo	Frecuencia de detección	<i>Daphnia magna</i> (EC_{50})	Microtox® (EC_{50})
Fluoxetina (FLU)	Psiquiátrico	3,43%	6.4 mg/L (Christensen et al., 2007) 0.820 mg/L (Brooks et al., 2003)	159.25 mg/L (Ponce, 2017) 13,0 mg/L (Nalecz et al., 2008)
Trimetoprim (TRI)	Antibiótico	6,01%	167.4 mg/L (Kim et al., 2007) 149 mg/L (De Liguoro et al., 2009)	176.7 mg/L (Kim et al. 2007)
Ketoprofeno (KET)	Antiinflamatorio	16,31%	43.65 mg/L. (Gheorghe et al., 2016)	16.21 mg/L (Gheorghe et al., 2016)

Fuente. Elaboración propia, 2019

Tabla 23. Concentración inicial de compuestos individuales y mezclas para cada bioensayo en *D. magna* y Microtox®, según su mezcla.

Experimento	Mezcla	Concentración inicial <i>Daphnia magna</i>	Concentración inicial MICROTOX®
FLU-TRI	FLU individual	20 mg/L	462,04 mg/L
	TRI individual	305,4 mg/L	139,05 mg/L
	75% FLU	15 mg/L	346,54 mg/L
	25% TRI	76,35 mg/L	34,76 mg/L
	50% FLU	10 mg/L	231,02 mg/L
	50% TRI	152,7 mg/L	69,52 mg/L
	25% FLU	5 mg/L	115,51 mg/L
	75% TRI	229,05 mg/L	104,29 mg/L
FLU-KET	FLU individual	20 mg/L	471,15 mg/L
	KET individual	51,37 mg/L	23,12 mg/L
	75% FLU	15 mg/L	353,36 mg/L
	25% KET	12,84 mg/L	5,78 mg/L
	50% FLU	10 mg/L	235,58 mg/L
	50% KET	25,68 mg/L	11,56 mg/L
	25% FLU	5 mg/L	117,79 mg/L
	75% KET	38,53 mg/L	17,34 mg/L
KET-TRI	KET individual	51,50 mg/L	23,18 mg/L
	TRI individual	304,94 mg/L	137,22 mg/L
	75% KET	38,62 mg/L	17,38 mg/L
	25% TRI	76,24 mg/L	34,30 mg/L
	50% KET	25,75 mg/L	11,59 mg/L
	50% TRI	152,47 mg/L	68,61 mg/L
	25% KET	12,88 mg/L	5,79 mg/L
	75% TRI	228,70 mg/L	102,92 mg/L

Fuente. Elaboración propia, 2019

La aplicación de los seis bioensayos permitió reportar el EC₅₀ para cada compuesto individual dos veces y el EC₅₀ para cada una de las mezclas (Tabla 24). La toxicidad reportada para los tres CEs en ambos organismos ordenada de mayor a menor fue FLU, KET y TRI. En este caso, el EC₅₀ para cada compuesto es similar al de otros estudios, en el que la toxicidad se comporta de la misma manera para los dos organismos, es decir, FLU como la más tóxica y TRI como la menos tóxica. (Tabla 22). No obstante, los datos que tienen mayor diferencia son los del KET, debido a que los datos reportados para *D. magna* son más tóxicos y los de Microtox® menos tóxicos que los de otras investigaciones (Tabla 22 y Tabla 24).

Asimismo, para Microtox®, según la GHS (Tabla 5) la FLU y KET son nocivos para el organismo y el TRI es un compuesto no tóxico. La mezcla de mayor toxicidad para ambos ensayos y según sus cinco variables es la FLU-KET y la de menor toxicidad es KET-TRI (Tabla 24).

En cuanto a la comparación de los modelos de CA y Hewlett, se obtuvo que para Microtox® dos mezclas presentan sinergia (FLU-TRI y FLU-KET), es decir, el aumento del efecto en el organismo respecto al efecto teórico o esperado, en este caso a partir de un modelo concentración adición (Álvarez, 2018). Además, una mezcla reporta antagonismo (TRI-KET), efecto contrario a la sinergia, es decir, el efecto de la mezcla conjunta es más bajo que lo esperado (Cedergreen et al., 2007). Asimismo, para *D. magna* dos mezclas presentan antagonismo (FLU-TRI y FLU-KET) y una mezcla no presenta ninguna interacción (TRI-KET) (Tabla 25).

Como se observa en los resultados, se obtuvo un efecto inverso para cada organismo en la mayoría de las mezclas. Lo anterior, puede deberse al mecanismo de acción de cada fármaco, ya que cada CE seleccionado pertenece a distintos grupos, en este caso la FLU a los psiquiátricos, TRI a los antibióticos y KET a los antiinflamatorios. Además, puede no existir una tendencia general en la sensibilidad de cada organismo al compuesto. Lo anterior visto en otro estudio de mezclas binarias con fármacos en *D. magna* y el alga verde *Desmodesmus subspicatus* en el que para cada organismo la mezcla reportó un efecto distinto (Cleuvers, 2003).

Al considerar los resultados, se observa que el efecto sinérgico y antagónico también ha sido reportado en otras mezclas de fármacos. Por ejemplo, sinergismos en mezclas de

diclofenaco con ibuprofeno y paracetamol con edaravone en *D. magna* y Microtox® respectivamente (Álvarez, 2018; Cleuvers, 2003). Además, antagonismo en mezclas de clorhidrato de propranolol con losartan de potasio y cisplatino con imatibib en *Lemna minor* y *D. magna* respectivamente (Godoy et al., 2015; Parrella et al., 2014).

Lo anterior, permite visualizar la necesidad de estudiar mezclas de compuestos, debido a que la presencia de CE's en el ambiente va a estar presentes en combinaciones de diversos compuestos y no individualmente. Además, en otras investigaciones se ha demostrado que el efecto tóxico de un compuesto individual al efecto de una mezcla es menor, y que la contaminación ambiental es causada a partir de mezclas de compuestos de diferentes índoles (Kortenkamp et al. 2009; Cleuvers, 2003; Backhaus et al. al., 2008; Di Poi et al ., 2017).

En las Figura 11; Figura 12; Figura 13, se observan los resultados obtenidos para cada mezcla según la comparación entre el modelo de Hewlett y el de CA. Los datos se respaldan con los valores dados en la ANOVA obtenida para cada mezcla, en el que se determinó significancia para cinco de las seis mezclas estadísticamente hablando, es decir, se obtuvo un valor de $p < 0,05$ (Tabla 25). En este caso, el valor de significancia permite o expresa en términos de probabilidad un valor certero respecto a equivocarse (Sampieri et al., 2010). No obstante, la única mezcla con un valor de $p > 0,05$ fue TRI-KET en *D. magna* con un valor de 0,1893, mezcla que no reportó ninguna interacción.

Para finalizar, como se mencionó al inicio de esta sección los tres CE's seleccionados han sido detectados en las muestras ambientales analizadas por LAPCO (Tabla 22), en el que se reporta concentraciones inferiores de 0,50 µg/L de FLU, 1,65 µg/L de TRI y 46,00 µg/L de KET. Por lo tanto, como menciona Cleuvers (2004), se debe pensar en realizar ensayos crónicos, ya que los efectos son más probables que los efectos agudos. Lo anterior al considerar los resultados de cada mezcla y la concentración de estos en las muestras ambientales.

Tabla 24. EC_{50} (mg/L) obtenido para cada experimento según sus compuestos individuales y mezclas.

Experimento	Mezcla	EC_{50} (mg/L)	EC_{50} (mg/L) Microtox®
		<i>D. magna</i> 48h (\pm IC)	15 Min(\pm IC)
FLU-TRI	FLU individual	3,39 (3,06 – 3,71)	29,21 (8,67 – 49,75)
	TRI individual	172,28 (128,79 – 215,78)	156,66 (133,32 – 179,99)
	75% FLU 25% TRI	19,15 (17,38 – 20,91)	29,90 (22,50 – 37,31)
	50% FLU 50% TRI	54,95 (49,85 – 60,06)	28,46 (24,16 – 32,77)
	25% FLU 75% TRI	102,98 (93,86 – 112,10)	28,98 (25,21 – 32,74)
FLU-KET	FLU individual	2,33 (2,09 – 2,58)	42,34 (33,05 – 51,63)
	KET individual	28,62 (23,89 – 33,36)	31,47 (24,85 – 38,09)
	75% FLU 25% KET	7,47 (6,42 – 8,52)	0,71 (-4,27 – 42708,32)*
	50% FLU 50% KET	19,88 (16,59 – 23,17)	24,20 (19,53 – 28,87)
	25% FLU 75% KET	32,16 (27,17 – 37,14)	20,74 (17,78 – 23,71)
KET-TRI	KET individual	38,18 (32,11 – 44,26)	25,29 (22,02 – 28,57)
	TRI individual	158,83 (151,38 – 166,29)	199,36 (150,88 – 247,83)
	75% KET 25% TRI	76,04 (68,80 – 83,28)	169,66 (142,36 – 316,73)
	50% KET 50% TRI	112,20 (102,91 – 121,48)	3413,76 (-4206,34 – 1,10x10 ⁴)*
	25% KET 75% TRI	126,68 (121,47 – 131,89)	126,68 (55,94 – 283,38)

Fuente. Elaboración propia, 2019.

*Dato no utilizado en la mezcla, debido al error y intervalo de confianza tan amplio.

Tabla 25. Resultado obtenido de mezclas de binarias de CEs en ensayos *D. magna* y Microtox®.

Mezclas	<i>D. magna</i>	P-value ANOVA	Microtox®	P-value ANOVA
FLU-TRI	Antagonismo	0,000	Sinergia	0,0008
FLU-KET	Antagonismo	0,000	Sinergia	0,0011
KET-TRI	Sin interacción	0,1831	Antagonismo	0,000

Fuente. Elaboración propia, 2019.

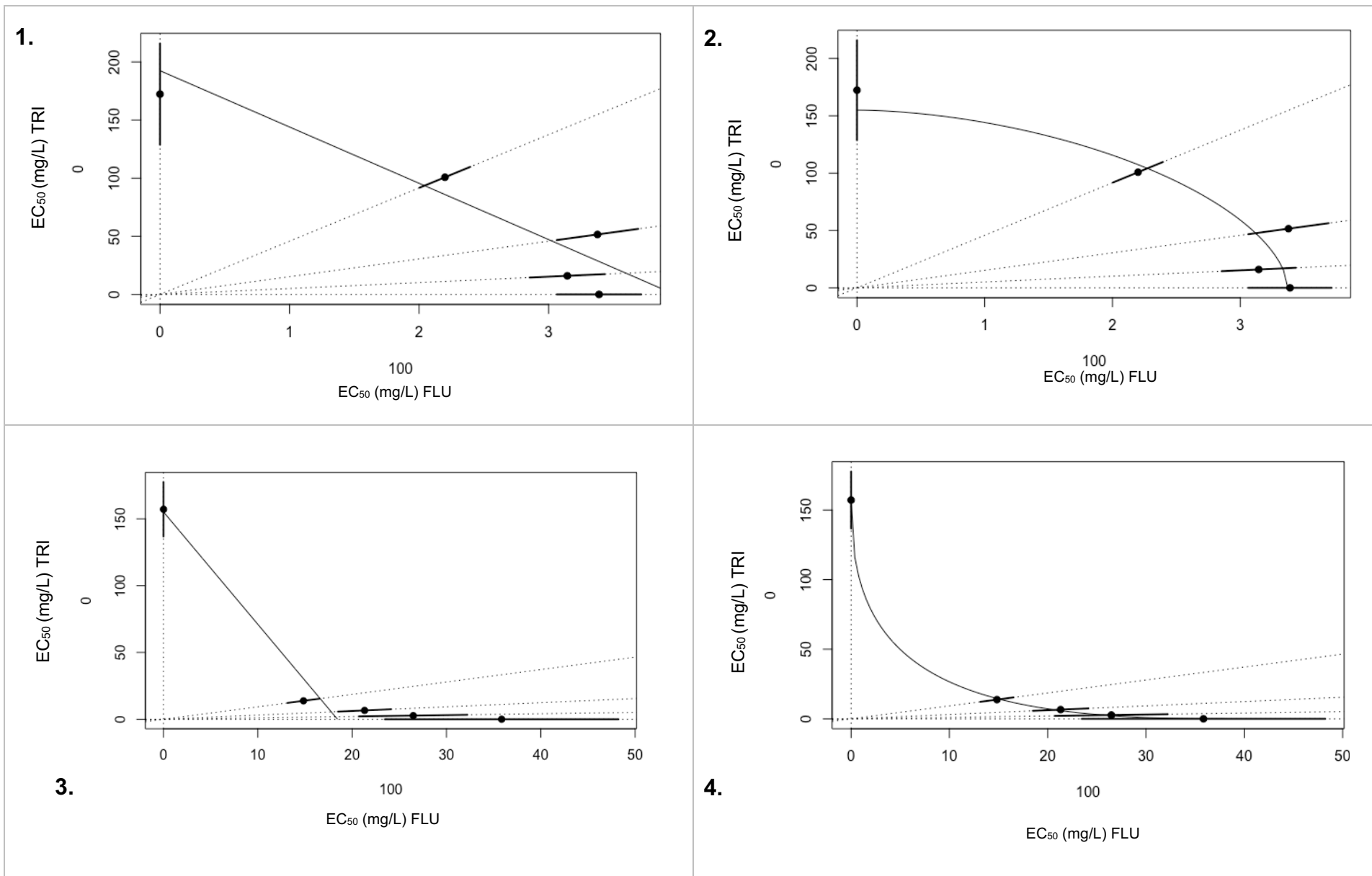


Figura 11. Mezcla FLU-TRI, 1(CA) y 2(Hewlett) mezcla en *Daphnia magna* con resultado antagónico. 3(CA) y 4(Hewlett) mezcla en Microtox® con resultado sinérgico.

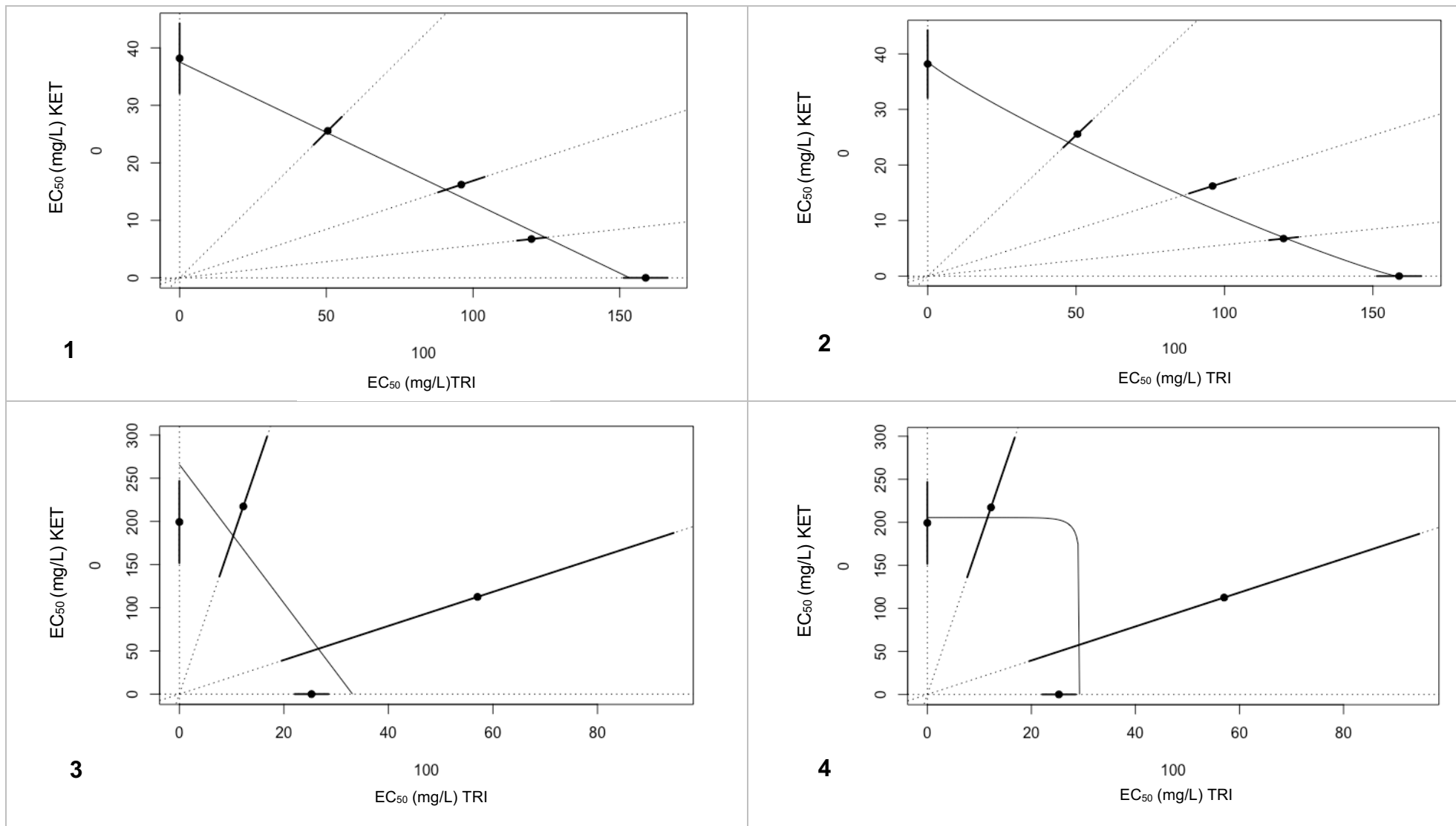


Figura 12. Mezcla TRI-KET, 1(CA) y 2(Hewlett) mezcla en *Daphnia magna* con resultado sin interacción. 3(CA) y 4(Hewlett) mezcla en Microtox® resultado antagonico.

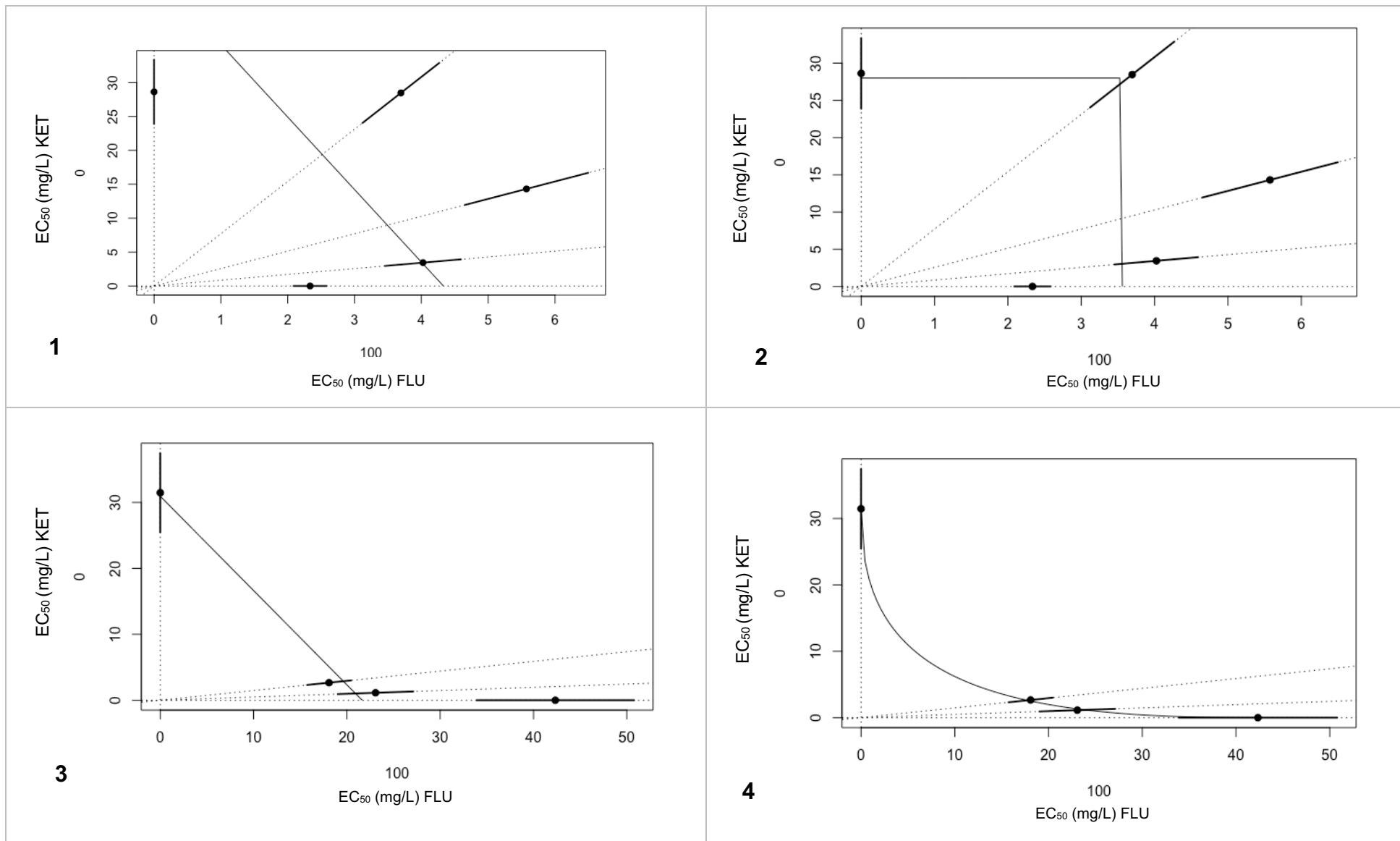


Figura 13. Mezcla FLU-KET, 1(CA) y 2(Hewlett) mezcla en *Daphnia magna* resultado antagónico. 3(CA) y 4(Hewlett) mezcla en Microtox® resultado sinérgico.

Capítulo V

5. Conclusiones

- Para la mayoría de los fármacos individuales evaluados el EC₅₀ fue mayor a la solubilidad en agua del compuesto o mayor a la concentración máxima trabajada para los bioensayos de *Daphnia magna* y Microtox®.
- Las polimixinas E y B, el clenbuterol y 1,7-dimetilxantina presentaron toxicidad para *D. magna*, mientras que las polimixinas E y B y cefotaxima presentaron toxicidad para *V. fischeri*. Sin embargo, los valores de EC₅₀ son más altos con respecto a las concentraciones reportadas en aguas superficiales y residuales, exceptuando las polimixinas que son escasamente detectadas en cuerpos de agua.
- De los compuesto evaluados individualmente, las polimixinas son los CEs más tóxicos para los organismos utilizados en este estudio. Esto es importante porque son compuestos de último recurso terapéutico según la Organización Mundial de la Salud (2017).
- El 100% de las muestras de aguas superficiales no presentan toxicidad para *D. magna*. A su vez el 40,81% de las muestras no son tóxicas para *V. fischeri* y 59,18% muestran hormesis, como un posible efecto estimulador a otras razones medio ambientales.
- Las muestras de aguas superficiales presentan 139 detecciones de CEs para un total de 18 fármacos diferentes. Los compuestos con más detecciones son la cafeína, 1,7-dimetilxantina y gemfibrozil. Además, las muestras con mayor cantidad de CEs son las que se ubican en lugares densamente poblados.
- Se detectaron 28 diferentes fármacos en los afluentes y efluentes de PTARs para un total de 331 detecciones individuales. Los compuestos de mayor frecuencia fueron 1,7-dimetilxantina, cafeína, acetaminofén, ibuprofeno y naproxeno. La PTAR que presentó la mayor diversidad de fármacos fue la PTAR_7, debido a factores como la cobertura poblacional, ubicación y caudal de la planta probablemente.
- Se observó que la toxicidad disminuye de la entrada a la salida de las PTARs. Asimismo, se observa que el tratamiento de las plantas disminuye el 34,87% y eliminan 43,08% de los compuestos presentes en los afluentes, lo cual denota cierta efectividad en los tratamientos de las PTARs.
- Se determinó que el 62,96% de las muestras de aguas hospitalarias son tóxicas para *D. magna* y el 59,26% para *V. fischeri*. Asimismo, se detectaron 32 fármacos para un

total de 214 detecciones individuales en todas las muestras. Los más detectados fueron la cafeína, 1,7-dimetilxantina, acetaminofén, ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno.

- Se observó que el hospital 8 es el único que cuenta con una planta de tratamiento de aguas residuales y en el que se da una disminución de toxicidad del afluente al efluente. Además, la presencia de CEs se disminuye en un 20% y se elimina un 68,57% por lo que denota la importancia de que cada hospital cuente con una planta de tratamiento de aguas residuales.
- El análisis de las muestras residuales de fincas porcinas y bovinas establece que el 96,7% de las muestras porcinas son tóxicas para *D. magna* y el 83,3% para *V. fischeri*. Además el 92,86% de las muestras bovinas son tóxicas para ambos organismos trabajados.
- Las muestras residuales ganaderas contienen presencia de CEs. Específicamente, para las fincas porcinas se obtuvieron 43 detecciones correspondientes a 10 compuestos diferentes y 34 detecciones para un total de 10 fármacos diferentes para las bovinas. En este caso, los compuestos de mayor presencia en las fincas porcinas fueron ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, acetaminofén y cafeína. Para las bovinas, acetaminofén, naproxeno y cafeína.
- Las aguas residuales de las fincas porcinas cuentan con un sistema de tratamiento de laguna de oxidación o biodigestor, en el que se observa una disminución de la toxicidad y concentración de los fármacos. Estas aguas, más las bovinas en su mayoría son de uso para el riego o únicamente son desechadas en la finca. No obstante, la concentración y cantidad de fármacos reportada es baja, además de que la concentración es menor al EC_{50} reportado para cada fármaco.
- La correlación entre la toxicidad de las muestras ambientales y de las residuales de PTARs, hospitalarias y ganaderas con la cantidad y concentración de CEs detectados es baja, ya que, la concentración de EC_{50} reportada en literatura para *D. magna* y Microtox® es mayor a la concentración obtenida en las muestras. Asimismo, su toxicidad puede deberse a factores como cantidad de materia orgánica u otros contaminantes presentes, sin embargo falta esa información para comprobarlo.
- En la mezclas binarias se observó un comportamiento sinérgico en el ensayo de Microtox® para FLU/KET y FLU/TRI, es decir, su toxicidad en mezcla es mayor a la de cada compuesto individual. Además, se obtuvo un comportamiento antagónico de las mezclas FLU/KET y FLU/TRI para *Daphnia magna* y TRI/KET para Microtox®, en este caso su toxicidad es menor a la esperada para la sumatoria de ambos compuestos.

- Esta investigación destaca por ser pionera en Costa Rica, ya que el análisis de ecotoxicidad de CE's farmacológicos individuales y sus mezclas binarias, encontrados en muestras ambientales y residuales, brinda información que puede ser utilizada para la toma de decisiones, promover más investigaciones, ser un antecedente para mejorar procesos de tratamientos de aguas residuales, implementar PTARs en hospitales y establecer límites permisibles de CE's en cuerpos de agua. Además, da una visión de cómo se encuentran las aguas ambientales y residuales del país en torno a la contaminación por CE's.

6. Recomendaciones

- Se recomienda continuar con el análisis ecotoxicológico de fármacos que aún no cuentan con datos de toxicidad. Asimismo, es importante tomar en cuenta otros organismos centinelas para ensayos ecotoxicológicos, así como ensayos crónicos que permitan la observación de otros tipos de efectos.
- Se recomienda el uso de los datos de ecotoxicidad para la toma de decisiones como un criterio importante para determinar los valores permisibles en el ambiente o efluentes residuales.
- Es importante que con los resultados de toxicidad y de concentración reportados en los efluentes de aguas residuales se logre implementar mejoras en las PTAR. Además, que se valore la implementación de plantas de tratamiento para los hospitales del país como un tratamiento previo antes de su ingreso al alcantarillado público. Por último, para los efluentes de fincas los que tienen tratamientos realizar una mejora en el sistema y los que no implementar un sistema de tratamiento para que la carga tóxica y concentración de fármacos sea aún menor.
- Con los resultados obtenidos de las mezclas binarias se recomienda realizar más estudios de este tipo de mezclas con otros compuestos en el que su presencia en las muestras sea aún mayor. Además, se recomienda realizar ensayos crónicos con estas mezclas binarias y otras nuevas. Asimismo, también es importante utilizar otros organismos para los ensayos de mezclas binarias.
- Al Centro de Investigación en Contaminación Ambiental se le recomienda divulgar los resultados de toxicidad a los diferentes hospitales, plantas de tratamiento y fincas.
- Se recomienda la divulgación de los resultados al Ministerio de Salud, Ministerio de Ambiente y Energía y al Instituto de Acueductos y Alcantarillados. Esto, para su uso en la toma de decisiones e incluir o promover mayores estudios que incidan en el decreto de Vertido y Reúso de Aguas residuales (N° 33601-MINAE-S) y en el reglamento para la Evaluación y Clasificación de la Calidad de Cuerpos de Agua Superficiales (N° 33903-MINAE-S).
- Se insta al Centro de Investigación en Contaminación Ambiental en continuar con más investigaciones relacionadas a contaminantes emergentes y que los resultados obtenidos sean el preámbulo para futuros proyectos.
- Se recomienda al Centro de Investigación en Contaminación Ambiental continuar realizando investigaciones multidisciplinarias en sus diferentes áreas de trabajo en el

que estudiantes o profesionales en Salud Ambiental puedan integrarse y ser parte de investigaciones en el que se involucre la relación ambiente-salud.

- Al departamento de Salud Ambiental y a la Escuela de Tecnologías en Salud se le recomienda promover, reforzar y fomentar la formación científica e investigativa de los estudiantes de la carrera de Salud Ambiental.
- Se insta al departamento de Salud Ambiental fortalecer la comunicación con otros Centros de Investigación y Laboratorios de la Universidad de Costa Rica para que los estudiantes participen en proyectos de investigación que permita enriquecer la formación académico-científica.
- Se recomienda al Departamento de Salud Ambiental fomentar conexiones con centros de investigación, laboratorios o áreas académicas para la implementación de investigaciones multidisciplinarias que involucren a estudiantes, profesores y profesionales de la Salud Ambiental.

7. Referencias bibliográficas

- Abe, A. (1999). Distribution of 1,4-dioxane in relation to possible sources in the water environment. *Science of the Total Environment*, 227(1), 41-47. [http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00003-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00003-0)
- Agathokleous, E. (2018). Environmental hormesis, a fundamental non-monotonic biological phenomenon with implications in ecotoxicology and environmental safety. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148, 1042-1053. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.003>
- Araújo, C. V., Nascimento, R. B., Oliveira, C. A., Strotmann, U. J., y Da Silva, E. M. (2005). The use of Microtox® to assess toxicity removal of industrial effluents from the industrial district of Camaçari (BA, Brazil). *Chemosphere*, 58(9), 1277–1281. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.036>
- Ashworth, J., Nijenhuis, E., Glowacka, B., Tran, L., y Schenck-Watt, L. (2010). Turbidity and Color Correction in the Microtox™ Bioassay~!2009-08-13~!2009-12-24~!2010-03-02~! *The Open Environmental Pollution y Toxicology Journal*, 2(1), 1–7. <https://doi.org/10.2174/1876397901002010001>
- Backhaus, T., Scholze, M., y Grimme, L. H. (2000). The single substance and mixture toxicity of quinolones to the bioluminescent bacterium *Vibrio fischeri*. *Aquatic Toxicology*, 49(1-2), 49-61. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(99\)00069-7](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(99)00069-7)
- Backhaus, T., Sumpter, J., y Blanck, H. (2008). On the Ecotoxicology of Pharmaceutical Mixtures. *Pharmaceuticals in the Environment*, 257-276. https://doi.org/10.1007/978-3-540-74664-5_16
- Barceló, D., López de Alda, M., (2008) Contaminación y calidad química del agua: El problema de los contaminantes emergentes. Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales-CSIC, Barcelona. Recuperado de <http://elaguapotable.com/Contaminación%20y%20calidad%20qu%C3%ADm%20del%20agua-los%20contaminantes%20emergentes.pdf>
- Baquero, F., Martínez, J., y Cantón, R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(3), 260-265. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2008.05.006>
- Barletta, R., Pérez, L., Castro, G., Pujol, M., Barletta, J., y Dueñas, Y. (2018). *Acinetobacter baumannii* multirresistente: un reto para la terapéutica actual. *Scielo Cuba*, 16(2), 322–334. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/ms/v16n2/ms15216.pdf>

- Becerril, J. (2009). Contaminantes Emergentes en el agua. *Revista Digital Universitaria*, Vol 10, 1-7. Recuperado de <http://www.ru.tic.unam.mx/bitstream/handle/123456789/1529/879.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Bellanger, M., Demeneix, B., Grandjean, P., Zoeller, R., y Trasande, L. (2015). Neurobehavioral Deficits, Diseases, and Associated Costs of Exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals in the European Union. *The Journal of Clinical Endocrinology y Metabolism*, 100(4), 1256-1266. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2014-4323>
- Berninger, J. P., Du, B., Connors, K. A., Eytcheson, S. A., Kolkmeier, M. A., Prosser, K. N., . . . Brooks, B. W. (2011). Effects of the antihistamine diphenhydramine on selected aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(9), 2065–2072. <https://doi.org/10.1002/etc.590>
- Berto, J., Rothenbach, G. C., Barreiros, M. A. B., Corrêa, A. X., Peluso-Silva, S., y Radetski, C. M. (2009). Physico-chemical, microbiological and ecotoxicological evaluation of a septic tank/Fenton reaction combination for the treatment of hospital wastewaters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(4), 1076–1081. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.12.002>
- Bila, D y Dezotti, M. (2003). Fármacos no meio ambiente. *Química Nova*, 26(4), 523-530. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422003000400015>
- Birnbaum, L. S., y Staskal, D. F. (2004). Brominated flame retardants: cause for concern? *Environmental Health Perspectives*, 112(1), 9–17. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1241790/citedby/>
- Brambilla G, Civitareale C, Migliore L (1994) Experimental toxicity and analysis of bacitracin, flumequine and sulphadimethoxine in terrestrial and aquatic organisms as a predictive model for ecosystem damage. *Química Analítica* 13(SUpp1): S73-Sn
- Brausch, J., Connors, K., Brooks, B., Rand, G. (2012). Human Pharmaceuticals in the Aquatic Environment: A review of recent toxicological studies and considerations for toxicity testing. *Environmental Contamination Toxicology*, 218: 1-99. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22488604>
- Brooks, B. W., Foran, C. M., Richards, S. M., Weston, J., Turner, P. K., Stanley, J. K., . . . La Point, T. W. (2003). Aquatic ecotoxicology of fluoxetine. *Toxicology Letters*, 142(3), 169–183. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(03\)00066-3](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(03)00066-3)
- Boluda, R., Quintanilla, J., Bonilla, J., Sáez, E., y Gamón, M. (2002). Application of the Microtox® test and pollution indices to the study of water toxicity in the Albufera Natural

- Park (Valencia, Spain). *Chemosphere*, 46(2), 355-369. [http://dx.doi.org/10.1016/s0045-6535\(01\)00092-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0045-6535(01)00092-3)
- Buerge, I., Buser, H., Kahle, M., Müller, M., y Poiger, T. (2009). Ubiquitous Occurrence of the Artificial Sweetener Acesulfame in the Aquatic Environment: An Ideal Chemical Marker of Domestic Wastewater in Groundwater. *Environmental Science y Technology*, 43(12), 4381-4385. <http://dx.doi.org/10.1021/es900126x>
- Buikema, A., Geiger, J., y Lee, D. (1980) *Aquatic Invertebrate Bioassays*, 48-48-22. <http://dx.doi.org/10.1520/stp33407s>
- Buser, H., Poiger, T., y Müller, M. (1999). Occurrence and Environmental Behavior of the Chiral Pharmaceutical Drug Ibuprofen in Surface Waters and in Wastewater. *Environmental Science y Technology*, 33(15), 2529-2535. <http://dx.doi.org/10.1021/es981014w>
- Butarewicz, A., Rosochacki, S., y Wrzaszcz, E. (2019). Toxicity of Sewage from Industrial Wastewater Treatment Plants. *Journal of Ecological Engineering*, 20(2), 191–199. <https://doi.org/10.12911/22998993/99060>
- Camacho-Muñoz, D., Martín, J., Santos, J. L., Aparicio, I., y Alonso, E. (2010). Occurrence, temporal evolution and risk assessment of pharmaceutically active compounds in Doñana Park (Spain). *Journal of Hazardous Materials*, 183(1-3), 602–608. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.07.067>
- Campos, I (2000). *Saneamiento Ambiental, Costa Rica*, Editorial EUNED.
- Capó, M. (2007). *Principios de Ecotoxicología, España*, Editorial TEBAR.
- Capó, M. (2003). La ecotoxicología, una ciencia de hoy. *Medicina Balear. Universidad Complutense de Madrid. Madrid Vol.18, 3: 101-104*. Recuperado de http://ibdigital.uib.es/greenstone/collect/medicinaBalear/import/2003_v18_n3/Medicina_Balear_2003v18n3_p101.pdf
- Carr, G., y Neary, J. (2008). *Water quality for ecosystem and human health. UNEP/Earthprint*. Recuperado de <http://wedocs.unep.org/handle/20.500.11822/1221>
- Castillo, G (2004). *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones Jiutepec*, Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA). 188 p.
- Cedergreen, N., Abbaspoor, M., Sørensen, H., y Streibig, J. C. (2007). Is mixture toxicity measured on a biomarker indicative of what happens on a population level? A study with *Lemna minor*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67(3), 323–332. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.12.006>

- Centro de Investigación en Contaminación Ambiental. (2017). Contaminantes Emergentes: Monitoreo y diseño de estrategias para la mitigación de su impacto ambiental.
- Christensen, A. M., Faaborg-Andersen, S., Ingerslev, F., y Baun, A. (2007). Mixture and single-substance toxicity of selective serotonin reuptake inhibitors toward algae and crustaceans. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(1), 85. <https://doi.org/10.1897/06-219r.1>
- Christofi, N., Hoffmann, C., y Tosh, L. (2002). Hormesis Responses of Free and Immobilized Light-Emitting Bacteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 52(3), 227–231. <https://doi.org/10.1006/eesa.2002.2203>
- Cidlinová, A., Wittlingerová, Z., Zimová, M., Chrobáková, T., y Petruželková, A. (2018). Ecotoxicity of Wastewater from Medical Facilities: A Review. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 49(1), 26–31. <https://doi.org/10.2478/sab-2018-0005>
- Cleuvers, M. (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters*, 142(3), 185–194. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(03\)00068-7](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(03)00068-7)
- Cleuvers, M. (2004). Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59(3), 309–315. [https://doi.org/10.1016/s0147-6513\(03\)00141-6](https://doi.org/10.1016/s0147-6513(03)00141-6)
- Creswell, J. (2005). Educational research: Planning, conducting, and evaluating quantitative and qualitative research. Upper Saddle River: Pearson Education.
- Costa, M., y López, E. (2005). Educación para la Salud. Una estrategia para cambiar los estilos de vida. Ediciones Pirámide: Madrid.
- Dafouz, R., y Valcárcel, Y. (2017). Cafeína como contaminante ambiental. *Rev. Toxicol*, 34, 136-142. Recuperado de <http://rev.aetox.es/wp/wp-content/uploads/2017/12/34.2.8.pdf>
- Daughton, C., y Ternes, T. (1999). Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change? *Environmental Health Perspectives*, 107, 907. <http://dx.doi.org/10.2307/3434573>
- De García, S. O., García-Encina, P. A., y Irusta-Mata, R. (2015). Dose–response behavior of the bacterium *Vibrio fischeri* exposed to pharmaceuticals and personal care products. *Ecotoxicology*, 25(1), 141–162. <https://doi.org/10.1007/s10646-015-1576-8>
- De Jesus Gaffney, V., Cardoso, V. V., Cardoso, E., Teixeira, A. P., Martins, J., Benoliel, M. J., y Almeida, C. M. M. (2017). Occurrence and behaviour of pharmaceutical compounds in a Portuguese wastewater treatment plant: Removal efficiency through conventional

- treatment processes. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(17), 14717–14734. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9012-7>
- De la Cruz, E., Fournier, M., Molina, A., Alfaro, M., Ramirez, F., y Rodríguez, C. (2014). Hazard prioritization and risk characterization of antibiotics in an irrigated Costa Rican region used for intensive crop, livestock and aquaculture farming. *Journal of Environmental Biology*, 85-98. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Maria_Fournier/publication/260439974_Hazard_prioritization_and_risk_characterization_of_antibiotics_in_an_irrigated_Costa_Rican_region_used_for_intensive_crop_livestock_and_aquaculture_farming/links/56e86c1b08ae9bc3e1cd1a0.pdf
- Delgado, S. (2011) Evaluación de Tecnologías potenciales de reducción de la contaminación de las aguas de Canarias. Universidad de la Laguna, España. Recuperado de https://issuu.com/cienciacanaria/docs/evaluacion_de_tecnologias_potenciales
- De Liguoro, M., Fioretto, B., Poltronieri, C., y Gallina, G. (2009). The toxicity of sulfamethazine to *Daphnia magna* and its additivity to other veterinary sulfonamides and trimethoprim. *Chemosphere*, 75(11), 1519–1524. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.002>
- De Souza, S. M. L., De Vasconcelos, E. C., Dziedzic, M., y De Oliveira, C. M. R. (2009). Environmental risk assessment of antibiotics: An intensive care unit analysis. *Chemosphere*, 77(7), 962–967. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.08.010>
- Díaz-Cruz, M., López de Alda, M., y Barceló, D. (2003). Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *Trends in Analytical Chemistry*, 22(6), 340-351. [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-9936\(03\)00603-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-9936(03)00603-4)
- Dimogerontas, G., y Liapi, C. (2013). Endocrine Disruptors (Xenoestrogens): An Overview. *Plastics In Dentistry And Estrogenicity*, 3-48. doi: 10.1007/978-3-642-29687-1_1
- Di Poi, C., Costil, K., Bouchart, V., y Halm-Lemeille, M. (2017). Toxicity assessment of five emerging pollutants, alone and in binary or ternary mixtures, towards three aquatic organisms. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(7), 6122–6134. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9306-9>
- Dirección de Agua, MINAE (2016). Indicadores de la gestión del recurso hídrico. Sistema de Información para la gestión integral de recursos hídricos. MINAE, Costa Rica.
- Dirección General de Salud y Seguridad Alimentaria. (2016). Informe Final. España. Recuperado de ec.europa.eu/food/fvo/act_getPDF.cfm?PDF_ID=13202

- Du, J., Mei, C.-F., Ying, G.-G., y Xu, M.-Y. (2016). Toxicity Thresholds for Diclofenac, Acetaminophen and Ibuprofen in the Water Flea *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 97(1), 84-90. <https://doi.org/10.1007/s00128-016-1806-7>
- Duffus, J. (1993). Glossary for chemists of terms used in toxicology (IUPAC Recommendations 1993). *Pure and Applied Chemistry*, 65(9), 2003-2122. <http://dx.doi.org/10.1351/pac199365092003>
- Escher, B. I., Baumgartner, R., Koller, M., Treyer, K., Lienert, J., y McArdell, C. S. (2011). Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater. *Water Research*, 45(1), 75-92. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.019>
- Factor-Litvak, P., Insel, B., Calafat, A., Liu, X., Perera, F., Rauh, V., y Whyatt, R. (2014). Persistent Associations between Maternal Prenatal Exposure to Phthalates on Child IQ at Age 7 Years. *Plos ONE*, 9(12), e114003. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0114003>
- Fent, k., Weston, A., y Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, 76(2), 122-159. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.09.009>
- Fernández-Piñas, F., Rodea-Palomares, I., Leganés, F., González-Pleiter, M., y Ángeles Muñoz-Martín, M. (2014). Evaluation of the Ecotoxicity of Pollutants with Bioluminescent Microorganisms. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 65-135. https://doi.org/10.1007/978-3-662-43619-6_3
- Naciones Unidas. (2011). *Sistema Globalmente armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos de las Naciones Unidas*. Recuperado de https://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev04/Spanish/ST-SG-AC10-30-Rev4sp.pdf
- Filho, R., Barreiro, J., Vieira, E., y Cass, Q. (2007). Fármacos, ETEs e corpos hídricos. *Revista Ambiente y Agua- An International Journal of Applied Science*. 2: 54-61. Recuperado de <http://www.redalyc.org/service/redalyc/downloadPdf/928/92820307/F%E1rmacos,+ETEs+e+corpos+h%E1dricos/1>
- García, C., Górtares, P., Drogui, P. (2011). Contaminantes emergentes: efectos y tratamiento de remoción. *Química Viva*, 10(2) 96-105. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86319141004>
- Gheorghe, S., Petre, J., Lucaciu, I., Stoica, C., y Nita-Lazar, M. (2016). Risk screening of pharmaceutical compounds in Romanian aquatic environment. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(6). <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5375-3>

- Gill, M., Soto, A., Usma, J., Gutiérrez, O. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción más limpia*, 7(2) 52-73. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/pml/v7n2/v7n2a05.pdf>
- Gobierno de la República de Costa Rica. (7 de marzo de 2017). Costa Rica Gobierno de la República. Obtenido de <http://presidencia.go.cr/comunicados/2017/03/costa-rica-establece-por-primera-vez-politica-nacional-de-saneamiento-de-aguas-residuales-con-inversiones-por-520-millones/>
- Godoy, A. A., Kummrow, F., y Pamplin, P. A. Z. (2015). Ecotoxicological evaluation of propranolol hydrochloride and losartan potassium to *Lemna minor* L. (1753) individually and in binary mixtures. *Ecotoxicology*, 24(5), 1112–1123. <https://doi.org/10.1007/s10646-015-1455-3>
- Gómez, M., Petrović, M., Fernández-Alba, A., y Barceló, D. (2006). Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters. *Journal of Chromatography A*, 1114(2), 224-233. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2006.02.038>
- González-Alonso, S., Merino, L. M., Esteban, S., López de Alda, M., Barceló, D., Durán, J. J., ... Valcárcel, Y. (2017). Occurrence of pharmaceutical, recreational and psychotropic drug residues in surface water on the northern Antarctic Peninsula region. *Environmental Pollution*, 229, 241-254. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.060>
- González-Mariño, I., Quintana, J., Rodríguez, I., González-Díez, M., y Cela, R. (2012). Screening and Selective Quantification of Illicit Drugs in Wastewater by Mixed-Mode Solid-Phase Extraction and Quadrupole-Time-of-Flight Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 84(3), 1708-1717. <http://dx.doi.org/10.1021/ac202989e>
- Gracia-Lor, E., Sancho, J. V., Serrano, R., y Hernández, F. (2012). Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants at the Spanish Mediterranean area of Valencia. *Chemosphere*, 87(5), 453–462. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.025>
- Gros, M., Rodríguez-Mozaz, S., y Barceló, D. (2013). Rapid analysis of multiclass antibiotic residues and some of their metabolites in hospital, urban wastewater and river water by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1292, 173–188. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.12.072>

- Gros, M., Petrović, M., y Barceló, D. (2007). Wastewater treatment plants as a pathway for aquatic contamination by pharmaceuticals in the Ebro river basin (northeast Spain). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(8), 1553-1562. <http://dx.doi.org/10.1897/06-495r.1>
- Grünheid, S., Amy, G., y Jekel, M. (2005). Removal of bulk dissolved organic carbon (DOC) and trace organic compounds by bank filtration and artificial recharge. *Water Research*, 39(14), 3219-3228. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2005.05.030>
- Halling-Sørensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P., Ingerslev, F., Holten Lützhøft, H., y Jørgensen, S. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. *Chemosphere*, 36(2), 357-393. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(97\)00354-8](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(97)00354-8)
- Han, G. H., Hur, H. G., y Kim, S. D. (2006). Ecotoxicological risk of pharmaceuticals from wastewater treatment plants in Korea: occurrence and toxicity to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(1), 265. <https://doi.org/10.1897/05-193r.1>
- Henríquez, D. (2012). Presencia de contaminantes emergentes en aguas y su impacto en el ecosistema. Estudio de caso: productos farmacéuticos en la cuenca del río Biobío, Región del Biobío, Chile. Recuperado de <http://www.repositorio.uchile.cl/handle/2250/102748>
- Hernández, F., Bayo, J., Pérez de los Ríos, A., Vicente, M., Bernal, F. and Quesada-Medina, J. (2015). Discovering less toxic ionic liquids by using the Microtox® toxicity test. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 116, pp.29-33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.02.034>
- Hernando, M., Mezcuá, M., Fernández de Alba, A., y Barcelo, D. (2006). Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*, 69(2), 334-342. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2005.09.037>
- Hernando, M., De Vettori, S., Martínez Bueno, M., y Fernández-Alba, A. (2007). Toxicity evaluation with *Vibrio fischeri* test of organic chemicals used in aquaculture. *Chemosphere*, 68(4), 724-730. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.12.097>
- Holmberg, Bo; Hogberg, J; Johanson, G. (2006). Toxicología, definiciones y conceptos. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el trabajo. Chantal Dufrense, BA Vol 1 pp. 33,3 - 33.8 Recuperado de <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo1/33.pdf>

- Hong, P., Al-Jassim, N., Ansari, M., y Mackie, R. (2013). Environmental and Public Health Implications of Water Reuse: Antibiotics, Antibiotic Resistant Bacteria, and Antibiotic Resistance Genes. *Antibiotics*, 2(3), 367-399. <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics2030367>
- Hossain, A., Nakamichi, S., Habibullah-Al-Mamun, Md., Tani, K., Masunaga, S., y Matsuda, H. (2018). Occurrence and ecological risk of pharmaceuticals in river surface water of Bangladesh. *Environmental Research*, 165, 258-266. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.04.030>
- ISO 11348-3 (2007) Water quality -- Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test). Recuperado de <https://www.iso.org/standard/40518.html>
- Irusta, R (2011). Evaluación ecotoxicológica de productos farmacéuticos y de higiene personal como medida para la prevención de la contaminación en ambientes acuáticos. Fundación Mapfre. Recuperado de <https://www.researchgate.net/publication/302871928>
- Jekel, M., Ruhl, A., Meinel, F., Zietzschmann, F., Lima, S., y Baur, N. et al. (2013). Anthropogenic organic micro-pollutants and pathogens in the urban water cycle: assessment, barriers and risk communication (ASKURIS). *Environmental Sciences Europe*, 25(1), 20. <http://dx.doi.org/10.1186/2190-4715-25-20>
- Jiménez, C. (2011) Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: productos farmaceuticos. *Revista Lasallista de Investigación* 2011, 8 (2), 143-153. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69522607016>
- Johnson, B. Microtox® Acute Toxicity Test. *Small-Scale Freshwater Toxicity Investigations*, 69-105. http://dx.doi.org/10.1007/1-4020-3120-3_2
- Jones, O., Voulvoulis, N., y Lester, J. (2001). Human Pharmaceuticals in the Aquatic Environment a Review. *Environmental Technology*, 22(12), 1383-1394. <http://dx.doi.org/10.1080/09593332208618186>
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R., y Guwy, A. (2008). The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Research*, 42(13), 3498-3518. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2008.04.026>
- Kaštelan-Macan, M., Ahel, M., Horvat, A., Jabučar, D., y Jovančić, P. (2007). Water resources and waste water management in Bosnia and Herzegovina, Croatia and the State Union of Serbia and Montenegro. *Water Policy*, 9(3), 319. <http://dx.doi.org/10.2166/wp.2007.003>

- Katsoyiannis, A., y Samara, C. (2007). Ecotoxicological evaluation of the wastewater treatment process of the sewage treatment plant of Thessaloniki, Greece. *Journal of Hazardous Materials*, 141(3), 614–621. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.07.038>
- Kim, S. D., Cho, J., Kim, I. S., Vanderford, B. J., y Snyder, S. A. (2007). Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. *Water research*, 41(5), 1013-1021. doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.034
- Kratz, W. (2008). Ecotoxicological Risk of Human Pharmaceuticals in Brandenburg Surface Waters? Environmental Protection in The European Union, 379-389. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-31141-6_30
- Kortenkamp A, Backhaus T, Faust M (2009) State of the art report on mixture toxicity. Report for Directorate General for the Environment of the European Commission. European Commission, Luxembourg
- Lacey, C., McMahon, G., Bones, J., Barron, L., Morrissey, A., y Tobin, J. (2008). An LC–MS method for the determination of pharmaceutical compounds in wastewater treatment plant influent and effluent samples. *Talanta*, 75(4), 1089–1097. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.01.011>
- Lankova, D., Lacina, O., Pulkrabova, J., y Hajslova, J. (2013). The determination of perfluoroalkyl substances, brominated flame retardants and their metabolites in human breast milk and infant formula. *Talanta*, 117, 318-325. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2013.08.040>
- Lannacone, J y Alvaríño, L. (2009). Evaluación del riesgo acuático de siete productos farmacéuticos sobre *Daphnia magna*. *Ecología Aplicada*, 8(1-2), 71-80. Recuperado en 10 de abril de 2018, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttextpid=S1726-22162009000100009yIng=esytIng=es.
- Legrand, E., Boulangé-Lecomte, C., Restoux, G., Trémolet, G., Duflot, A., y Forget-Leray, J. (2016). Individual and mixture acute toxicity of model pesticides chlordecone and pyriproxyfen in the estuarine copepod *Eurytemora affinis*. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(6), 5976–5984. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8294-5>
- Ley N° 7554 Ley Orgánica del Ambiente. Costa Rica: Publicado en La Gaceta 215 el 13 de noviembre de 1995.

- Li, S., y Lin, A. Y. (2015). Increased acute toxicity to fish caused by pharmaceuticals in hospital effluents in a pharmaceutical mixture and after solar irradiation. *Chemosphere*, 139, 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.06.010>
- Lilius, H., Isomaa, B., y Holmström, T. (1994). A comparison of the toxicity of 50 reference chemicals to freshly isolated rainbow trout hepatocytes and *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 30(1), 47–60. [https://doi.org/10.1016/0166-445x\(94\)90005-1](https://doi.org/10.1016/0166-445x(94)90005-1)
- Lin, A. Y., y Tsai, Y. (2009). Occurrence of pharmaceuticals in Taiwan's surface waters: Impact of waste streams from hospitals and pharmaceutical production facilities. *Science of The Total Environment*, 407(12), 3793–3802. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.03.009>
- Lindstrom, A., Buerge, I., Poiger, T., Bergqvist, P., Müller, M., y Buser, H. (2002). Occurrence and Environmental Behavior of the Bactericide Triclosan and Its Methyl Derivative in Surface Waters and in Wastewater. *Environmental Science y Technology*, 36(11), 2322-2329. <http://dx.doi.org/10.1021/es0114254>
- Lizano, V., Masís, M., Espinoza, D., Lizano, M., y Rodríguez, C. (2017). Removal of pesticides and ecotoxicological changes during the simultaneous treatment of triazines and chlorpyrifos in biomixtures. *Chemosphere*, 182, 106-113. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.147>
- Lucero, G., Marcela, G., Sandra, G., Manuel, G., y Celene, R. (2015). Naproxen-Enriched Artificial Sediment Induces Oxidative Stress and Genotoxicity in *Hyalella azteca*. *Water, Air, y Soil Pollution*, 226(6). <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-015-2454-y>
- Magdaleno, A., Juárez, Á. B., Dragani, V., Saenz, M. E., Paz, M., y Moretton, J. (2014). Ecotoxicological and Genotoxic Evaluation of Buenos Aires City (Argentina) Hospital Wastewater. *Journal of Toxicology*, 2014, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2014/248461>
- Mantis, I., Voutsas, D., y Samara, C. (2005). Assessment of the environmental hazard from municipal and industrial wastewater treatment sludge by employing chemical and biological methods. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(3), 397–407. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.12.010>
- Martins, N., Pereira, R., Abrantes, N., Pereira, J., Gonçalves, F., y Marques, C. R. (2012). Ecotoxicological effects of ciprofloxacin on freshwater species: data integration and derivation of toxicity thresholds for risk assessment. *Ecotoxicology*, 21(4), 1167–1176. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0871-x>
- Mateus, J. (2012). *Presença de fármacos no rio Arade Importância da sensibilização da população para este problema de saúde pública*. Recuperado de

<https://sapiencia.ualg.pt/bitstream/10400.1/3577/1/Presenca%20de%20Farmacos%20no%20rio%20Arade%20-%20Joana%20Mateus%20Pires%202012.pdf>

- Martínez, J. (2009). Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environmental Pollution*, 157(11), 2893-2902. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2009.05.051>
- Mckee, D., y Ebert, D. (1996). The interactive effects of temperature, food level and maternal phenotype on offspring size in *Daphnia magna*. *Oecologia*, 107(2), 189-196. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00327902>
- Meek, M., Boobis, A., Cote, I., Dellarco, V., Fotakis, G., y Munn, S. et al. (2013). New developments in the evolution and application of the WHO/IPCS framework on mode of action/species concordance analysis. *Journal of Applied Toxicology*, 34(1), 1-18. <http://dx.doi.org/10.1002/jat.2949>
- Medina, J., Paciel, D., Noceti, O., y Reppi, G. (2017, 12 junio). Actualización acerca de colistina (polimixina E): aspectos clínicos, PK/PD y equivalencias. *Scielo Uruguay*, 33(3), 195–206. Recuperado de <http://www.scielo.edu.uy/pdf/rmu/v33n3/1688-0390-rmu-33-03-00079.pdf>
- Méndez-Arriaga, F., Torres-Palma, R. A., Pétrier, C., Esplugas, S., Gimenez, J., y Pulgarin C. (2008). Ultrasonic treatment of water contaminated with ibuprofen [Electronic version]. *Water Research*, 42(16), 4243-4248. doi: 10.1016/j.envpol.2010.11.034
- Mendonça, E., Picado, A., Cunha, M. A., Catarino, J., Laboratório Nacional de Energia e Geologia, y Agência Portuguesa do Ambiente. (2011). Environmental Management of Wastewater Treatment Plants – the Added Value of the Ecotoxicological Approach. *Environmental Management in Practice*, 21, 411–424. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Ana_Picado/publication/221912936_Environmental_Management_of_Wastewater_Treatment_Plants_the_Added_Value_of_the_Ecotoxicological_Approach/links/0fcfd50b7312dd98ce000000/Environmental-Management-of-Wastewater-Treatment-Plants-the-Added-Value-of-the-Ecotoxicological-Approach.pdf
- Mendonça, E., Picado, A., Paixão, S. M., Silva, L., Barbosa, M., y Cunha, M. A. (2013). Ecotoxicological evaluation of wastewater in a municipal WWTP in Lisbon area (Portugal). *Desalination and Water Treatment*, 51(19-21), 4162–4170. <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.768021>
- Mohapatra, S., Huang, C., Mukherji, S., y Padhye, L. P. (2016). Occurrence and fate of pharmaceuticals in WWTPs in India and comparison with a similar study in the United

- States. *Chemosphere*, 159, 526–535.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.06.047>
- Molina, J., Cordero, E., Palomino, J., y Pachón, J. (2009). Aminoglucósidos y polimixinas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(3), 178–188.
<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.02.001>
- Mora, D., y Portuguese, C. (2017). Agua para consumo humano y saneamiento en Costa Rica al 2016-metas al 2022 y 2030. San José: Laboratorio Nacional de Aguas.
- Mushak, P. (2013). How prevalent is chemical hormesis in the natural and experimental worlds? *Science of The Total Environment*, 443, 573-581.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.028>
- Niemiryecz, E., Nichthausser, J., Staniszezwska, M., Nałęcz-Jawecki, G., y Bolałek, J. (2007). The Microtox® biological test: Application in toxicity evaluation of surface waters and sediments in Poland. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 36(4).
<https://doi.org/10.2478/v10009-007-0030-5>
- Oaks, J., Gilbert, M., Virani, M., Watson, R., Meteyer, C., y Rideout, B. et al. (2004). Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature*, 427(6975), 630-633. <http://dx.doi.org/10.1038/nature02317>
- Organización Mundial de la Salud . (2015). Plan de Acción Mundial sobre la Resistencia a los Antimicrobianos. Recuperado 27 de abril de 2020, de <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255204/9789243509761-spa.pdf?ua=1>
- Organización Mundial de la Salud (2018). Salud Ambiental. Recuperado de http://www.who.int/topics/environmental_health/es/
- Organización Mundial de la Salud (2017). La OMS actualiza la Lista de Medicamentos esenciales con nuevas recomendaciones sobre el uso de antibióticos. Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/essential-medicines-list/es/>
- Organización Mundial de la Salud (2012). Pharmaceuticals in Drinking Water. Recuperado de http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2012/pharmaceuticals/en/
- Organización Mundial de la Salud (2006). Constitución de la Organización Mundial de la Salud. Recuperado de http://www.who.int/governance/eb/who_constitution_sp.pdf
- Pal, A., He, Y., Jekel, M., Reinhard, M., y Gin, K. (2014). Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. *Environment International*, 71, 46-62.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2014.05.025>

- Park, S., y Choi, K. (2008). Hazard assessment of commonly used agricultural antibiotics on aquatic ecosystems. *Ecotoxicology*, 17(6), 526–538. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0209-x>
- Parrella, A., Kundi, M., Lavorgna, M., Criscuolo, E., Russo, C., y Isidori, M. (2014). Toxicity of exposure to binary mixtures of four anti-neoplastic drugs in *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia*. *Aquatic Toxicology*, 157, 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.09.012>
- Patiño, Y., Díaz, E., Ordoñez, S. (2014) Water Micropollutants: Classification and Treatment Technologies. (La Serena, Chile) Avances en Ciencias e Ingeniería, pp 1-20. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=323631115001>
- Pauwels, B., y Verstraete, W. (2006). The treatment of hospital wastewater: an appraisal. *Journal of Water and Health*, 4(4), 405–416. <https://doi.org/10.2166/wh.2006.0024>
- Peña-Álvarez, A. y Castillo-Alanís, A. (2015). Identificación y cuantificación de contaminantes emergentes en aguas residuales por microextracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-CG-EM). *TIP*, 18(1), pp.29-42. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2015.05.003>
- Pedrouzo, M., Borrull, F., Pocurull, E., y Marcé, R. (2011). Drugs of abuse and their metabolites in waste and surface waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 34(10), 1091-1101. <http://dx.doi.org/10.1002/jssc.201100043>
- Pérez, F., Llorca, M., Farré, M., y Barceló, D. (2012). Automated analysis of perfluorinated compounds in human hair and urine samples by turbulent flow chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 402(7), 2369-2378. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-011-5660-5>
- Petrovic, M., Gonzalez, S., y Barceló, D. (2003). Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *Trends in Analytical Chemistry*, 22(10), 685-696. [http://dx.doi.org/10.1016/s0165-9936\(03\)01105-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0165-9936(03)01105-1)
- Política Nacional de Saneamiento en Aguas Residuales. (2016). Política Nacional de Saneamiento en Aguas Residuales. San José, San José, Costa Rica.
- Ponce, J. (2017). *Efectos adversos de inhibidores selectivos de recaptura de serotonina. evaluación en diferentes niveles de organización biológica.* . Recuperado de http://repositorio.imta.mx/bitstream/handle/20.500.12013/1836/T_078.pdf?sequence=1yisAllowed=y

- Programa Nacional de Toxicología de Estados Unidos, (2011). *Report on Carcinogens*: (499 pp.) (12th Edition). North Carolina, USA: U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21822324>
- Ra, J. S., Oh, S., Lee, B. C., y Kim, S. D. (2008). The effect of suspended particles coated by humic acid on the toxicity of pharmaceuticals, estrogens, and phenolic compounds. *Environment International*, 34(2), 184–192. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2007.08.001>
- Ragunetti, M., Adams, M., Guimarães, A., Sponchiado, G., de Vasconcelos, E., y de Oliveira, C. (2010). Ibuprofen Genotoxicity in Aquatic Environment: An Experimental Model Using *Oreochromis niloticus*. *Water, Air, y Soil Pollution*, 218(1-4), 361-364. <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-010-0698-0>
- Rahman, F., Langford, K., Scrimshaw, M., y Lester, J. (2001). Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Science of The Total Environment*, 275(1-3), 1-17. [http://dx.doi.org/10.1016/s0048-9697\(01\)00852-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0048-9697(01)00852-x)
- Rahman, M. F., Yanful, E. K., y Jasim, S. Y. (2009). Occurrences of the endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals in the aquatic environment and their removal from drinking water: Challenges in the context of the developing world [Electronic version]. *Desalination*, 248, 578-585. doi:10.1016/j.desal.2008.05.105
- Ramírez, D., y Rivera, V. (2017). Cafeína como contaminante ambiental. *Revista de Toxicología*, 34, 136–142. Recuperado de <http://rev.aetox.es/wp/wp-content/uploads/2017/12/34.2.8.pdf>
- Ramos, C. (2006). Los residuos en la industria farmacéutica. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 37: 25-31. Recuperado de <http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/sites/default/files/articulos/CB-2006-1-025-031.pdf>
- Repetto, M., y Sanz, P (1993) Glosario de Términos toxicológicos. Asociación española de toxicología. Recuperado de <http://busca-tox.com/05pub/Glosario%20terminos%20toxicologicos%20toxicologia%20Repetto.pdf>
- Richardson, M., y Bowron, J. (1985). The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 37(1), 1-12. <http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-7158.1985.tb04922.x>
- Richardson, S. (2009). Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Analytical Chemistry*, 81(12), 4645-4677. doi: 10.1021/ac9008012
- Ritz, C., Baty, F., Streibig, J. C., Gerhard, D. (2015) Dose - Respons Analysis Using R PLOS ONE, 10(12), e0146021

- Ritz, C., y Streibig, J. C. (2014). From additivity to synergism – A modelling perspective. *Synergy*, 1(1), 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.synres.2014.07.010>
- Rosal, R., Gonzalo, M. S., Boltes, K., Letón, P., Vaquero, J. J., y García-Calvo, E. (2009). Identification of intermediates and assessment of ecotoxicity in the oxidation products generated during the ozonation of clofibric acid. *Journal of Hazardous Materials*, 172(2-3), 1061–1068. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.07.110>
- Sakai, N., Sakai, M., Mohamad Haron, D. E., Yoneda, M., y Ali Mohd, M. (2016). Beta-agonist residues in cattle, chicken and swine livers at the wet market and the environmental impacts of wastewater from livestock farms in Selangor State, Malaysia. *Chemosphere*, 165, 183-190. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.022>
- Sampieri, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2010). *Metodología de la Investigación* (5ª ed.). México, México: Mc Graw Hill.
- Santos, L., Araújo, A., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., y Montenegro, M. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 175(1-3), 45-95. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.100>
- Scheurer, M., Ramil, M., Metcalfe, C. D., Groh, S., y Ternes, T. A. (2009). The challenge of analyzing beta-blocker drugs in sludge and wastewater. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396(2), 845–856. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3225-7>
- Schuster, A., Hädrich, C., y Kümmerer, K. (2008). Flows of Active Pharmaceutical Ingredients Originating from Health Care Practices on a Local, Regional, and Nationwide Level in Germany—Is Hospital Effluent Treatment an Effective Approach for Risk Reduction? *Water, Air, y Soil Pollution: Focus*, 8 (5-6), 457–471. <https://doi.org/10.1007/s11267-008-9183-9>
- Shao, B., Chen, D., Zhang, J., Wu, Y., y Sun, C. (2009). Determination of 76 pharmaceutical drugs by liquid chromatography–tandem mass spectrometry in slaughterhouse wastewater. *Journal of Chromatography A*, 1216(47), 8312-8318. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.08.038>
- Sánchez, M (2006) Alteraciones fisiológicas como consecuencia de la exposición a plaguicidas en sucesivas generaciones de *Daphnia magna*. Universidad de Valencia. Recuperado de <http://www.tesisenred.net/handle/10803/9491>

- Shen, K., Shen, C., Lu, Y., Tang, X., Zhang, C., Chen, X., . . . Chen, Y. (2009). Hormesis response of marine and freshwater luminescent bacteria to metal exposure. *Biological Research*, 42(2). <https://doi.org/10.4067/s0716-97602009000200006>
- Silbergeld, E. (2006) Toxicología, introducción. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el trabajo. Chantal Dufrense, BA Vol 1 pp 33.2 Recuperado de <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo1/33.pdf>
- Sim, W., Kim, H., Choi, S., Kwon, J., y Oh, J. (2013). Evaluation of pharmaceuticals and personal care products with emphasis on anthelmintics in human sanitary waste, sewage, hospital wastewater, livestock wastewater and receiving water. *Journal of Hazardous Materials*, 248-249, 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.01.007>
- Sim, W., Lee, J., Lee, E., Shin, S., Hwang, S., y Oh, J. (2011). Occurrence and distribution of pharmaceuticals in wastewater from households, livestock farms, hospitals and pharmaceutical manufactures. *Chemosphere*, 82(2), 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.10.026>
- Singh, R. d., Devi, S., Gondaliya, S. R., Bhavsar, S. K y Thaker, A. M. (2009). Safety of ketoprofen in cow calves following repeated intravenous administration. *Veterinary World*, 2(3), 105-107. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Bhavsar_Shailesh/publication/49608952_Safety_of_Ketoprofen_in_Cow_calves_following_repeated_intravenous_administration/links/5890190992851c9794c4a730/Safety-of-Ketoprofen-in-Cow-calves-following-repeated-intravenous-administration.pdf
- Smeti, E. M., Koronakis, D. E., y Golfinoopoulos, S. K. (2013). Statistical analysis techniques for the assessment of the toxicity of raw surface water intended for human consumption—a case study. *Desalination and Water Treatment*, 51(13-15), 2987–2993. <https://doi.org/10.1080/19443994.2012.748447>
- Sørensen, H., Cedergreen, N., Skovgaard, I. M., y Streibig, J. C. (2007). An isobole-based statistical model and test for synergism/antagonism in binary mixture toxicity experiments. *Environmental and Ecological Statistics*, 14(4), 383–397. <https://doi.org/10.1007/s10651-007-0022-3>
- Spongberg, A., Witter, J., Acuña, J., Vargas, J., Murillo, M., y Umaña, G. et al. (2011). Reconnaissance of selected PPCP compounds in Costa Rican surface waters. *Water Research*, 45(20), 6709-6717. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2011.10.004>

- Stackelberg, P., Furlong, E., Meyer, M., Zaugg, S., Henderson, A., y Reissman, D. (2004). Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-water-treatment plant. *Science of the Total Environment*, 329(1-3), 99-113. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.03.015>
- Stephenson, J. (2009) Testimony before the subcommittee on commerce, trade, and consumer protection, committee on energy and commerce, house of representatives. United States. Recuperado de <https://www.gao.gov/new.items/d09428t.pdf>
- Steven, G. (2012). *A Small Dose of Toxicology*, 2nd Edition. Healthy World Press
- Stuart, M., Lapworth, D., Crane, E., y Hart, A. (2012). Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. *Science of the Total Environment*, 416, 1-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.11.072>
- Ternes, T. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research*, 32(11), 3245-3260. [http://dx.doi.org/10.1016/s0043-1354\(98\)00099-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0043-1354(98)00099-2)
- Terzic, S., Senta, I., Ahel, M., Gros, M., Petrović, M., y Barcelo, D. et al. (2008). Occurrence and fate of emerging wastewater contaminants in Western Balkan Region. *Science of The Total Environment*, 399(1-3), 66-77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.03.003>
- Tigini, V., Franchino, M., Bona, F., y Varese, G. C. (2016). Is digestate safe? A study on its ecotoxicity and environmental risk on a pig manure. *Science of The Total Environment*, 551-552, 127-132. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.004>
- U.S. EPA. 2001. *Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual*. EPA 823-B-01-002. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC.
- U.S. EPA. 2002. *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms*. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC. Recuperado de https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-08/documents/acute-freshwater-and-marine-wet-manual_2002.pdf.
- Valcárcel, Y., Martínez, F., González-Alonso, S., Segura, Y., Catalá, M., y Molina, R. et al. (2012). Drugs of abuse in surface and tap waters of the Tagus River basin: Heterogeneous photo-Fenton process is effective in their degradation. *Environment International*, 41, 35-43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2011.12.006>

- Van Nuijs, A., Castiglioni, S., Tarcomnicu, I., Postigo, C., de Alda, M., y Neels, H. et al. (2011). Illicit drug consumption estimations derived from wastewater analysis: A critical review. *Science of the Total Environment*, 409(19), 3564-3577. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.05.030>
- Van Stempvoort, D., Roy, J., Brown, S., y Bickerton, G. (2011). Artificial sweeteners as potential tracers in groundwater in urban environments. *Journal of Hydrology*, 401(1-2), 126-133. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhydrol.2011.02.013>
- Verlicchi, P., Al Aukidy, M., Jelic, A., Petrović, M., y Barceló, D. (2014). Comparison of measured and predicted concentrations of selected pharmaceuticals in wastewater and surface water: A case study of a catchment area in the Po Valley (Italy). *Science of The Total Environment*, 470-471, 844–854. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.10.026>
- Verlicchi, P., Al Aukidy, M., y Zambello, E. (2012). Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment—A review. *Science of The Total Environment*, 429, 123–155. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.028>
- Verlicchi, P., Galletti, A., Petrovic, M., y Barceló, D. (2010). Hospital effluents as a source of emerging pollutants: An overview of micropollutants and sustainable treatment options. *Journal of Hydrology*, 389(3-4), 416–428. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2010.06.005>
- Wang, P., Yuan, T., Hu, J., y Tan, Y. (2011). Determination of cephalosporin antibiotics in water samples by optimised solid phase extraction and high performance liquid chromatography with ultraviolet detector. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 91(13), 1267–1281. <https://doi.org/10.1080/03067311003778649>
- Wei, R., Ge, F., Huang, S., Chen, M., y Wang, R. (2011). Occurrence of veterinary antibiotics in animal wastewater and surface water around farms in Jiangsu Province, China. *Chemosphere*, 82(10), 1408–1414. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.067>
- Whitacre, D. M. (Ed.). (2012). Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 218. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3137-4>
- Whyatt, R., Rundle, A., Perzanowski, M., Just, A., Donohue, K., y Calafat, A. et al. (2014). Prenatal phthalate and early childhood bisphenol A exposures increase asthma risk in inner-city children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 134(5), 1195-1197.e2. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2014.07.027>
- Wilkinson, J., Hooda, P., Barker, J., Barton, S., y Swinden, J. (2015). Ecotoxic pharmaceuticals, personal care products, and other emerging contaminants: A review of environmental,

receptor-mediated, developmental, and epigenetic toxicity with discussion of proposed toxicity to humans. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 46(4), 336-381. <http://dx.doi.org/10.1080/10643389.2015.1096876>

Wohde, M., Berkner, S., Junker, T., Konradi, S., Schwarz, L., y Düring, R. (2016). Occurrence and transformation of veterinary pharmaceuticals and biocides in manure: a literature review. *Environmental Sciences Europe*, 28(1). <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0091-8>

Wu, C., Witter, J. D., Spongberg, A. L., y Czajkowski, K. P. (2009). Occurrence of selected pharmaceuticals in an agricultural landscape, western Lake Erie basin. *Water Research*, 43(14), 3407–3416. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.05.014>

Yamamoto, H., Nakamura, Y., Nakamura, Y., Kitani, C., Imari, T., Sekizawa, J., Takao, Y., Yamashita, N., Hirai, N., Oda, S., y Tatarazako, N. (2007). Initial ecological risk assessment of eight selected human pharmaceuticals in Japan. *Environmental sciences : an international journal of environmental physiology and toxicology*, 14(4), 177–193.

Zhang, Y., Cai, X., Lang, X., Qiao, X., Li, X., y Chen, J. (2012). Insights into aquatic toxicities of the antibiotics oxytetracycline and ciprofloxacin in the presence of metal: Complexation versus mixture. *Environmental Pollution*, 166, 48-56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2012.03.009>

Zogorski, J., y Squillace, P. (2007). Chlorinated Solvents in Groundwater of the United States. *Environmental Science y Technology*, 41(1), 74-81. <http://dx.doi.org/10.1021/es061553y>

8. Anexos

Anexo N° 1. Lugar y puntos de muestreo de muestras ambientales superficiales.

Lugar	Puntos
Santa Cruz, Turrialba, Cartago.	Puente de Quebrada Guayabito, Calle Vargas, las Virtudes. Puente de Quebrada Lola en Calle los Bajos de Bonilla, Las Virtudes. Puente de Quebrada Lola, Calle Leiva, Las Virtudes.* Puente Río AQUIARES arriba sobre ruta 230 La Pastora. Quebrada Río Guayabito, Bar el Arca de Noé.* Río Guayabo arriba, San Antonia.
Turrialba, Turrialba, Cartago	Quebrada La Zagota, Jardín Botánico CATIE. Río Guayabo abajo, Ruta 415- Santa Teresita, Turrialba, Cartago Río Colorado, Plantel del MOPT. Río Turrialba 3, Plantel del MOPT.
La Isabel, Turrialba, Cartago.	Río AQUIARES 2, Escuela Valeriano Fernández, la Isabel.
Colorado, Turrialba, Cartago.	Río Colorado 1, El Recreo.*
Coliblanco, Turrialba, Cartago.	Río Turrialba 1, Ruta 230.
La Alegría, Turrialba, Cartago.	Río Turrialba 2, La Alegría.
Cascajal, Vásquez de Coronado, San José.	Río Virilla 1, cerca de Naciente.
San Isidro, Vásquez de Coronado, San José.	Río Virilla 2, puente diagonal a la ferretería "El Lagar".
Trinidad, Moravia, San José.	Río Virilla 3, la Trinidad.
San Juan, Tibás, San José.	Río Virilla 4, puente entre ruta 32 y ruta a Santo Domingo.
Guachipelín, Escazú, San José.	Río Virilla 5, Puente de Mulas, CNFL.
Turrúcares, Alajuela. Cascajal, Vásquez de Coronado, San José.	Río Virilla 6, Puente Bayle. Quebrada Cascajal, ruta 216.
San Pedro, Vásquez de Coronado, San José.	Quebrada el Derrumbe, Calle Platanares. Quebrada el Vuelco, El Rodeo. Quebrada Honda, El Rodeo.

<p>San Jerónimo, Moravia, San José.</p>	<p>Río Agrá, Calle la Palma, entrada hacia al sur 200 metros. Río Macho, calle El Poró. Río Macho, puente ruta 307. Río Pará, puente en la presa. Río Paracito, en puente, Platanares. Río Paracito, Finca de don Anselmo Rodríguez.</p>
<p>Uruca, San José</p>	<p>Río Torres, Aguas abajo de descarga PTAR Río Torres, Aguas arriba de descarga PTAR</p>
<p>San Miguel, Desamparados, San José.</p>	<p>Río Jorco</p>

Fuente. Elaboración propia, 2020

*Muestras con uno o dos puntos sin analizar por ser puntos secos.

Anexo N° 2. Concentraciones (µg/L) de fármacos detectados en muestras de aguas superficiales.

Muestra	Muestreo	Concentraciones de CEs (µg/L)						
		1,7-Dimetilxantina	Acetaminofén	Atenolol	Azitromicina	Cafeína	Carbamazepina	Cefalexina
Río Jorco, Desamparados	1	-	-	-	-	4,14	0,17	0,40
	2	-	-	-	-	0,74	0,73	-
	3	-	-	-	-	2,84	-	-
Quebrada Guayabito, Turrialba	1	-	-	-	-	0,23	-	-
Río Guayabo abajo, Turrialba	1	-	-	-	-	-	-	-
Quebrada la Zagota, Turrialba	1	0,28	0,60	-	-	1,46	-	0,24
	3	-	-	-	-	6,58	-	-
Río Colorado, Turrialba	1	2,03	-	-	-	14,57	-	0,45
	2	0,62	-	-	-	38,31	-	0,49
	3	0,33	-	-	-	13,26	-	0,31
Río Turrialba 3	1	-	-	-	-	-	-	0,24
Río Turrialba 4	2	-	0,37	-	-	0,73	-	-
	3	-	-	-	-	1,69	-	-
Río Virilla 2	1	-	-	-	-	0,46	-	-
	2	-	-	-	-	9,03	-	-
Río Virilla 3	1	-	-	-	-	1,31	-	-
	2	-	-	-	-	21,45	-	-
Río Virilla 4	1	-	-	-	-	1,93	-	-
	2	0,36	-	-	-	31,03	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
Río Virilla 5	1	-	-	-	-	5,57	-	0,90
	2	-	-	-	-	18,59	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	0,13
Río Virilla 6	1	0,69	-	-	-	2,22	-	0,54
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
Quebrada Cascajal, Vásquez de Coronado	1	-	-	-	-	0,02	-	0,22
Quebrada el Vuelco, Vásquez de Coronado	1	-	-	-	-	0,05	-	-
Quebrada Honda, Vásquez de Coronado	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	0,32	-	-
	3	-	0,44	-	-	1,40	-	-
Río Macho, San Jerónimo	1	-	-	-	-	0,44	-	-
Río Paracito, San Jerónimo	1	0,14	0,10	-	-	0,99	-	-
	2	-	1,02	-	-	27,42	0,18	-
	3	0,32	1,04	-	-	-	-	-
Río Pará, San Jerónimo	1	-	-	-	-	0,14	-	-
	2	-	-	-	-	1,17	-	-
Río Torres Aguas arriba, Uruca	1	-	-	-	-	5,22	0,08	0,83

	2	-	-	-	-	5,21	-	-
	3	-	-	-	-	3,30	-	-
	1	4,22	-	0,17	0,39	10,98	0,11	1,42
Río Torres Aguas abajo, Uruca	2	2,66	-	-	-	53,84	-	-
	3	3,05	-	-	-	13,41	-	0,32

- No detectado

Continuación Anexo N° 2.

Muestra	Muestreo	Concentraciones de CEs (µg/L)						
		Ciprofloxacina	Claritromicina	Codeína	Difenhidramina	Fluoxetina	Gemfibrozil	Ibuprofeno
Río Jorco, Desamparados	1	1,33	-	-	0,30	0,20	-	0,68
	2	-	-	-	-	-	0,22	0,31
	3	-	-	-	-	-	1,79	-
Quebrada Guayabito, Turrialba	1	-	-	-	-	-	-	-
Río Guayabo abajo, Turrialba	1	0,31	-	-	-	-	-	-
Quebrada la Zagota, Turrialba	1	-	-	-	0,11	0,13	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
Río Colorado, Turrialba	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	0,39
	3	-	-	-	-	-	0,47	-
Río Turrialba 3	1	-	-	-	-	-	-	-
Río Turrialba 4	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
Río Virilla 2	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
Río Virilla 3	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	0,14
Río Virilla 4	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	0,44	0,11
	3	-	-	-	-	-	0,19	-
Río Virilla 5	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	0,45	0,86
	3	-	-	-	-	-	1,30	0,63
Río Virilla 6	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	0,22	-
	3	-	-	-	-	-	0,49	-
Quebrada Cascajal, Vásquez de Coronado	1	-	-	-	-	-	-	-
Quebrada el Vuelco, Vásquez de Coronado	1	-	-	-	-	-	-	-
Quebrada Honda, Vásquez de Coronado	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-

	3	-	-	-	-	-	-	-
Río Macho, San Jerónimo	1	-	-	-	-	-	-	-
Río Paracito, San Jerónimo	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	0,28
Río Pará, San Jerónimo	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	0,32	-
Río Torres Aguas arriba, Uruca	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	0,64	0,28
	3	-	-	-	-	-	0,99	0,42
Río Torres Aguas abajo, Uruca	1	0,85	0,06	0,04	0,24	0,23	1,13	-
	2	-	-	-	-	-	1,23	0,55
	3	-	-	-	-	-	2,83	1,50

- No detectado

Continuación Anexo N° 2.

Muestra	Muestreo	Concentraciones de CEs (µg/L)			
		Ketoprofeno	Naproxeno	Ofloxacina	Risperidona
Río Jorco, Desamparados	1	0,45	0,17	1,25	0,30
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
Quebrada Guayabito, Turrialba	1	-	-	-	-
Río Guayabo abajo, Turrialba	1	-	-	-	-
Quebrada la Zagota, Turrialba	1	-	0,18	-	-
	3	-	-	-	-
Río Colorado, Turrialba	1	-	-	-	-
	2	-	0,24	-	-
	3	-	-	-	-
Río Turrialba 3	1	-	-	-	-
Río Turrialba 4	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
Río Virilla 2	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
Río Virilla 3	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
Río Virilla 4	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
Río Virilla 5	1	-	0,36	-	-
	2	-	0,50	-	-

	3	-	0,29	-	-
Río Virilla 6	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
Quebrada Cascajal, Vásquez de Coronado	1	-	-	-	-
Quebrada el Vuelco, Vásquez de Coronado	1	-	-	-	-
Quebrada Honda, Vásquez de Coronado	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
Río Macho, San Jerónimo	1	-	-	-	-
Río Paracito, San Jerónimo	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
Río Pará, San Jerónimo	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
Río Torres Aguas arriba, Uruca	1	-	0,22	-	-
	2	-	0,14	-	-
	3	-	0,31	-	-
Río Torres Aguas abajo, Uruca	1	-	0,58	-	0,19
	2	-	0,31	-	-
	3	-	1,06	-	-

Fuente. Elaboración propia, 2020 a partir de información obtenida de LAPCO según la cuantificación de CEs.

- No detectado

Anexo N° 3. Concentraciones (µg/L) de fármacos detectados en efluentes y afluentes de Plantas de Tratamientos de Aguas Residuales.

Planta	Origen	Muestreo	Concentraciones de CE's (µg/L)								
			1,7-Dimetilxantina	Acetaminofen	Ácido Mefenámico	Albeazole	Atenolol	Azitromicina	Bacitracina	Cafeína	Carbamazepina
PTAR_1	Afluente	1	5,53	-	0,4	0,33	0,46	-	-	28,73	0,19
		2	7,26	12,25	-	-	-	-	-	20,24	-
		3	4,34	1,69	-	-	-	-	-	66,61	-
	Efluente	1	0,2	-	0,2	0,19	-	-	-	0,18	0,39
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	0,47	-	-	-	-	-	-
PTAR_2	Afluente	1	0,15	-	0,24	0,21	0,23	-	-	0,29	0,4
		2	-	-	-	-	-	-	-	1,17	-
		3	-	-	0,34	-	-	-	-	-	-
PTAR_3	Afluente	1	15,37	15,77	-	-	-	-	-	9,94	-
		2	1,68	8,84	-	-	-	-	-	9,33	-
		3	3,75	4,43	-	-	-	-	-	24,33	-
	Efluente	1	1,33	-	-	-	-	-	-	1,84	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	0,76	0,83	-	-	-	-	-	2,03	-
PTAR_4	Afluente	1	26,81	42,31	-	0,07	0,15	0,22	-	64,74	-
		2	6,67	30,73	-	-	-	-	-	109,8	-
		3	1,54	5,25	-	-	-	-	-	29	-
	Efluente	1	-	-	0,14	-	-	-	-	-	0,1
		2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		3	2,5	0,24	-	-	-	-	-	10,76	-
PTAR_5	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	21,43	9,42	-	-	-	-	-	193,48	-
		3	10,36	13,39	-	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	0,59	-	-	-	-	-	0,59	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTAR_6	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	10,07	2,62	-	-	-	-	-	101,72	-
		3	13,2	22,73	-	0,11	-	-	-	38,64	-
	Efluente	1	0,7	-	-	-	-	-	-	1,63	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	1,24	-
		3	0,41	-	-	-	-	-	-	7,27	-
PTAR_7	Afluente	1	24,63	33,97	-	0,11	1,09	0,54	-	114,85	0,28
		2	6,14	19,08	-	-	-	-	-	111,82	-
		3	6,47	30,19	-	-	-	-	-	63,27	0,21
	Efluente	1	17	3,44	-	-	0,67	0,29	-	31,67	0,34

		2	7,4	6,63	-	-	-	-	-	26,01	
		3	6,02	27,32	-	0,12	-	-	-	66,94	0,26
PTAR_8	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	7,55	15,84	-	-	-	0,52	-	102,03	-
		3	9,77	39,47	-	-	-	-	-	43,88	-
	Efluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	0,15	-	-	-	-	-	-	0,89	-
PTAR_9	Afluente	1	3,25	11,94	-	-	-	-	-	106,43	-
		2	1,18	30,36	-	-	-	-	-	1,94	-
		3	1,89	9,74	-	-	-	-	-	3,84	-
	Efluente	1	-	-	-	-	-	-	-	1,77	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTAR_10	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*N/A No muestreado.

- No detectado

Continuación Anexo N° 3.

Planta	Origen	Muestreo	Concentraciones de CEs (µg/L)									
			Cefalexina	Cefalotina	Ciprofloxacina	Claritromicina	Clindamicina	Codeína	Diclofenaco	Difenhidramina	Dimetridazol	
PTAR_1	Afluente	1	-	-	0,92	-	-	-	-	-	0,31	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	0,19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTAR_2	Afluente	1	0,2	-	0,43	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTAR_3	Afluente	1	-	-	-	-	-	-	0,36	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	Efluente	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	0,33	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTAR_4	Afluente	1	14,36	-	0,38	-	-	-	-	0,29	-
		2	-	-	0,7	-	-	-	-	0,31	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	-	-	-	-	-	-	-	0,22	-
		2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTAR_5	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTAR_6	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	-	-	-	0,27	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTAR_7	Afluente	1	6,74	-	2,42	0,23	-	0,22	0,38	0,63	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	0,13	-
		3	0,15	-	1,51	-	-	-	-	0,47	-
	Efluente	1	3,37	-	0,46	0,12	-	0,19	-	0,29	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	0,11	-
		3	0,15	-	0,78	-	-	-	-	0,65	-
PTAR_8	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	0,22	-	-	-	-	-	-
		3	1,12	-	-	-	-	-	0,31	-	-
	Efluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	0,26	-	-
PTAR_9	Afluente	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	0,31	-	-
		3	-	-	0,34	-	-	-	0,26	-	-

PTAR_10	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*N/A No muestreado.

- No detectado

Continuación Anexo N° 3.

Planta	Origen	Muestreo	Concentraciones de CEes (µg/L)								
			DoxiciclinaHiclato	Enrofloxacina	Fluoxetina	Gemfibrozil	Gentamicina	Ibuprofeno	lometacina	Ketoprofeno	Lorazepam
PTAR_1	Afluente	1	3,11	1,15	-	-	-	6,06	-	0,45	-
		2	-	-	-	-	-	0,46	-	0,27	-
		3	-	-	-	0,31	-	1,25	-	-	-
	Efluente	1	-	-	-	-	-	6,08	-	0,61	-
		2	-	-	-	-	-	3,02	-	0,41	-
		3	-	-	-	0,23	-	4,07	-	0,41	-
PTAR_2	Afluente	1	0,93	-	-	-	-	4,57	-	0,61	-
		2	-	-	-	-	-	3,2	-	0,43	-
		3	-	-	-	0,22	-	4,61	-	0,34	-
PTAR_3	Afluente	1	-	-	-	2,72	-	1,05	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	-	-	-	1,42	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	0,43	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTAR_4	Afluente	1	-	-	0,15	-	-	3,3	-	0,58	-
		2	-	-	-	0,54	-	2,02	-	0,49	-
		3	-	-	-	0,45	-	0,92	-	-	-
	Efluente	1	-	-	0,12	-	-	-	-	0,29	-
		2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		3	-	-	-	0,36	-	0,44	-	-	-
PTAR_5	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	-	-	0,68	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	1,8	-	0,76	-
	Efluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

PTAR_6	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	0,25	-	0,2	-	0,25	-
		3	-	-	-	-	-	0,61	-	0,43	-
	Efluente	1	-	-	-	3,86	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	0,5	-	0,16	-	0,16	-
		3	-	-	-	-	-	0,24	-	-	-
PTAR_7	Afluente	1	-	-	0,19	11,15	-	4,42	-	0,46	-
		2	-	-	-	0,09	-	-	-	0,16	-
		3	-	-	-	0,32	-	1,33	-	0,22	-
	Efluente	1	-	-	0,11	5,68	-	2,95	-	0,37	-
		2	-	-	-	3,13	-	-	-	0,17	-
		3	-	-	-	0,58	-	1,95	-	0,26	-
PTAR_8	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	8,2	-	2,12	-	12,19	-
		3	-	-	-	0,96	-	1,39	-	0,17	-
	Efluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	0,28	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-
PTAR_9	Afluente	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	0,83	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTAR_10	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	3,93	-	6,8	-	-	-
		3	-	-	-	3,74	-	8,65	-	-	-
	Efluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		3	-	-	-	1,63	-	4,49	-	-	-

*N/A No muestreado.

- No detectado

Continuación Anexo N° 3.

Planta	Origen	Muestreo	Concentraciones de CEs (µg/L)								
			Lovastatina	Metronidazol	Naproxeno	Ofloxacina	Pseudoefedrina	Risperidona	Sertralina	Sulfametoxazol	Trimetropim
PTAR_1	Afluente	1	-	-	17,3	1,01	3,98	0,28	0,35	-	-
		2	0,15	-	1,2	-	-	-	-	-	-
		3	0,22	-	0,96	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	-	-	1,47	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	0,37	-	-	-	-	0,12	-
		3	-	-	0,27	-	-	-	-	-	-
PTAR_2	Afluente	1	-	-	2,41	-	0,59	-	0,17	-	-
		2	-	-	1,25	-	-	-	-	-	-
		3	0,21	-	1,51	-	-	-	-	-	-
PTAR_3	Afluente	1	-	0,52	2,72	-	-	-	-	-	-
		2	0,39	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	-	-	0,26	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	0,21	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	0,45	-	-	-	-	-
PTAR_4	Afluente	1	-	-	4,99	-	0,26	0,19	-	3,16	0,54
		2	0,18	-	1,79	0,58	-	-	-	0,2	-
		3	-	-	0,35	-	-	-	-	0,2	-
	Efluente	1	-	-	0,19	-	-	-	-	1,11	-
		2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		3	-	-	0,47	-	-	-	-	-	-
PTAR_5	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	0,26	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	1,16	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTAR_6	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	1,87	-	-	-	-	3,6	2,95
		3	-	-	0,83	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	-	-	0,21	-	-	-	-	-	0,57
		2	-	-	0,28	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	0,14	-	-	-	-	-	-
PTAR_7	Afluente	1	-	0,38	5,02	-	0,37	-	-	0,73	0,25
		2	0,44	-	0,89	-	-	-	-	0,28	-
		3	1,07	-	1,46	0,27	-	-	-	0,88	0,31
	Efluente	1	-	-	2,28	-	0,24	-	-	-	0,17
		2	-	-	1,12	-	-	-	-	-	-

		3	2,19	-	1,89	0,18	-	-	-	0,93	0,27
PTAR_8	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	0,15	-	0,93	-	-	-	-	-	-
		3	0,99	-	4,69	-	-	-	-	2,02	0,84
	Efluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	0,17
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTAR_9	Afluente	1	-	-	1,85	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	8,67	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	-	0,26	0,43	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTAR_10	Afluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Efluente	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fuente. Elaboración propia, 2020 a partir de información obtenida de LAPCO según la cuantificación de CEs.

*N/A No muestreado.

- No detectado

Anexo N° 4. Concentraciones (µg/L) de fármacos detectados en efluentes hospitalarios.

Hospitales	Muestreo	Concentraciones de CEs (µg/L)									
		1,7-Dimetilxantina	Acetaminofen	Albeazole	Atenolol	Azitromicina	Bacitracina	Cafeína	Carbamazepina	Cefalexina	Cefalotina
Hosp_1	1	38,6	65,2	-	1,78	-	-	57,66	1,76	7,71	-
	2	9,46	15,93	-	1,08	-	-	208,76	0,33	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hosp_2	1	-	-	-	-	-	-	1,34	0,7	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	4,09	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hosp_3	1	4,68	3,33	0,3	-	1,23	-	5,12	-	-	-
	2	7,35	5,75	-	-	-	-	8,71	-	-	-
	3	3,38	12,34	-	-	-	-	10,44	-	-	-
Hosp_4	1	4,98	20,61	-	6,59	-	-	-	-	-	-
	2	3,87	7,74	-	-	-	-	39,26	-	-	-
	3	6,12	18,72	-	-	-	-	57	0,78	-	-
Hosp_5	1	3,42	21,04	-	-	-	-	8,61	-	-	-
	2	4,06	155,62	-	-	-	-	9,19	-	-	9,99
	3	13,52	10,78	-	-	-	-	9,97	-	-	-
Hosp_6	1	1,52	5,47	-	-	-	-	16,78	-	-	-
	2	3,3	3,82	-	-	-	-	32,77	0,3	2,43	0,35
	3	1,51	1,29	-	-	-	-	4,86	1,6	-	3,91
Hosp_7	1	14,86	110,59	-	-	-	-	11	-	-	-
	2	9,07	12,82	-	-	-	-	9,73	-	-	-
	3	7,77	128,33	-	-	-	-	38,79	-	-	-
Hosp_8 A	1	8,41	10,93	-	-	-	-	73,81	-	-	-
	2	4,19	20,34	0,13	-	0,4	4,58	18,48	-	-	-
	3	5,99	54,66	-	-	-	-	39,14	-	-	-
Hosp_8 E	1	0,32	-	-	-	-	-	2,78	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- No detectado

Continuación Anexo N° 4.

Hospitales	Muestreo	Concentraciones de CEs (µg/L)									
		Ciprofloxacina	Clarithromicina	Clindamicina	Codeína	Diclofenaco	Difenhidramina	Doxiciclina Hiclato	Fluoxetina	Gemfibrozil	Gentamicina
Hosp_1	1	1,83	0,42	-	0,75	-	2,52	-	0,37	17,46	-
	2	0,63	-	-	-	-	-	-	-	0,28	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hosp_2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hosp_3	1	1,66	-	-	-	-	0,22	-	-	0,2	-
	2	11,38	-	-	-	-	0,18	-	-	-	-
	3	149,78	-	0,85	-	-	-	-	-	-	-
Hosp_4	1	-	-	-	-	0,39	-	-	-	0,2	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	1,35	-	0,12	-	0,23	0,22	-	-	-	-
Hosp_5	1	-	-	-	-	0,31	-	-	-	0,24	-
	2	-	-	-	-	-	0,33	-	-	-	-
	3	2,31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hosp_6	1	0,31	-	-	-	1,11	-	-	-	0,53	-
	2	2,93	-	-	-	-	0,29	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hosp_7	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
	2	0,28	-	-	-	-	0,16	-	-	-	-
	3	10,77	-	-	-	0,25	0,23	-	-	0,2	-
Hosp_8 A	1	-	-	0,13	-	0,28	-	-	-	-	-
	2	0,67	-	-	-	-	0,35	4,31	-	3,11	-
	3	-	0,78	0,13	-	0,28	-	-	-	1,31	-
Hosp_8 E	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	0,23	-	-	-	-

- No detectado

Continuación Anexo N° 4.

Hospitales	Muestra	Concentraciones de CE's (µg/L)										Trimetropim
		Ibuprofeno	Indometacina	Ketoprofeno	Lorazepam	Lovastatina	Metronidazol	Naproxeno	Ofloxacina	Sertralina	Sulfametoxazol	
Hosp_1	1	-	-	0,99	0,15	-	0,19	1,15	-	0,33	-	0,42
	2	1,48	-	-	-	0,11	-	-	-	-	0,11	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hosp_2	1	-	-	-	-	8,66	-	-	0,29	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	19,78	-	-	-	-
Hosp_3	1	-	1,2	-	-	0,54	-	-	-	-	-	0,43
	2	4,73	-	0,45	0,12	-	1,86	-	-	-	-	0,61
	3	1,17	-	0,26	-	0,64	-	0,36	-	-	-	-
Hosp_4	1	1,73	-	1,61	-	1,16	0,64	3,52	-	-	-	-
	2	0,15	-	-	-	0,81	-	1,25	-	-	-	-
	3	1,52	-	-	-	0,24	-	0,39	-	-	-	-
Hosp_5	1	0,3	-	-	-	0,32	-	0,72	-	-	0,09	-
	2	0,17	-	-	-	0,18	-	0,18	-	-	0,21	2,4
	3	2,57	-	1,09	-	0,13	-	-	-	-	-	2,2
Hosp_6	1	-	-	-	-	-	6,72	0,45	-	-	-	-
	2	4,53	-	-	-	0,88	-	0,23	-	-	0,82	-
	3	0,47	-	-	-	0,16	-	-	-	-	-	-
Hosp_7	1	-	-	0,52	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	0,23	-	1,85	-	-	-	0,39	1,25	-	-	-
	3	-	2,11	3,11	-	-	-	3,63	0,15	-	-	-
Hosp_8 A	1	-	-	1,82	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	8,3	-	-	1,73	3,86	1,39	-	0,15	-
	3	0,18	-	4,75	-	-	-	1,7	0,85	-	-	-
Hosp_8 E	1	-	-	1,67	-	-	0,4	-	-	-	-	-
	2	0,16	-	2,05	-	-	1,18	-	-	-	-	-
	3	0,21	-	1,01	-	-	-	-	0,71	-	-	-

Fuente. Elaboración propia, 2020 a partir de información obtenida de LAPCO según la cuantificación de CE's.

- No detectado

