



Mortalidad en estadios juveniles del Sapo Espinoso Andino *Rhinella spinulosa* (Wiegman 1843): un indicador de aguas contaminadas por medicamentos antiinflamatorios
Mortality in juvenile stages of the Andean Spiny Toad *Rhinella spinulosa* (Wiegman 1843): an indicator of waters contaminated by anti-inflammatory drugs

Rayme-Chalco Marisol, Tenorio-Bautista Saturnino Martín*

Datos del Artículo

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
Facultad de Ciencias Biológicas.
Portal Independencia N° 57.
Huamanga-Ayacucho.
Perú.
Tel: (066)312510 – (066)312230.

*Dirección de contacto:
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
Facultad de Ciencias Biológicas.
Portal Independencia N° 57.
Huamanga-Ayacucho.
Perú.
Tel: (066)312510-(066)312230.

Saturnino Martín Tenorio-Bautista
E-mail address: marte1901@hotmail.com

Palabras clave:

Mortalidad acumulada,
aguas contaminadas por fármacos,
estadios inmaduros de *Rhinella spinulosa*,
CL₅₀.

J. Selva Andina Res. Soc.
2020; 11(2):114-129.

ID del artículo: [133/JSARS/2020](https://doi.org/10.133/JSARS/2020)

Historial del artículo.

Recibido febrero 2020.
Devuelto abril 2020.
Aceptado junio 2020.
Disponible en línea, agosto 2020.

Editado por:
**Selva Andina
Research Society**

Keywords:

Accumulated mortality,
waters contaminated by drugs,
immature stages of *Rhinella spinulosa*,
LC₅₀.

Resumen

El experimento se realizó en el laboratorio de Biodiversidad y Sistema de Información Geográfica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, se construyeron 40 UE constituidas por envases de plástico de 1 L de capacidad, con la concentración de cada fármaco además de contar con unidades de control sin presencia de fármaco. En cada UE se colocó 10 unidades de estadios inmaduros de *Rhinella spinulosa* (Wiegman 1843), con un tamaño aproximado de 2 a 2.5 cm, para luego determinar la mortalidad generada durante las 24 y 48 h de exposición. De los resultados se puede observar que los porcentajes de mortalidad, fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$), según la concentración de los fármacos en las UE, registrándose para el ibuprofeno mortalidades de 43.33 y 100% a 40 y 80 mg/L de concentración durante 24 h y 40, 76.67 y 100% a 10; 20 y 40 mg/L de concentración a las 48 h de exposición, para el naproxeno se obtuvo una mortalidad de 3.33 y 13.33% a 32 y 64 mg/L a las 24 h y 23.33, 26.67, 50 y 73.33% a las 8, 16, 32 y 64 mg/L de concentración a las 48 h de exposición, finalmente para el diclofenaco se registró mortalidades de 13.33 y 100% a 60 y 120 mg/L a las 24 h y 23.33; 60, 90 y 100% a 15; 30; 60 y 120 mg/L a las 48 h, reportando, que a medida que se incrementa la concentración, aumenta el porcentaje de mortalidad. La CL₅₀ para los tres fármacos fue respectivamente 68.6 mg/L, 106.6 mg/L y 120 mg/L a 24 h de exposición y de 13.47 mg/L, 104.6 mg/L y 29.8 mg/L a 48 h, señalando así que la CL₅₀ disminuye a medida que el tiempo de exposición se incrementa.

2020. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

This research has been developed in the Biodiversity and Geographyc Information System Laboratory at the Faculty of Biological Sciences of San Cristobal de Huamanga University. Forty experimental units of 1L round plastic containers were built with different concentrations of anti-inflammatory drugs and control units. Ten immature specimens of *Rhinella spinulosa* (Wiegman 1843) about 2 to 25 cm were placed in each experimental unit to determine mortality rates during continuous exposure at 24 and 48 h. As a result, mortality percentages obtained were statistically different ($p < 0.05$); ibuprofen has generated a mortality of 43.33 and 100% at 40 and 80 mg/L of concentration for 24 hours and 40, 76.67 and 100% a 10; 20 and 40 mg/L of concentration for 48 hours, naproxen 3.33 and 13.33% at 32 and 64 mg/L of concentration for 24 hours and 23.33; 26.67; 50 and 73.33% at 8, 16; 32 y 64 mg/L of concentration for 48 hours, and diclofenac 13.33 y 100% at 60 y 120 mg/L for 24 hours and 23.33; 60, 90 y 100% at 15; 30; 60 y 120 mg/L for 48 hours. The LC₅₀ was respectively: 68.6 mg / L, 106.6 mg / L and 120 mg / L for 24 hours and 13.47 mg / L, 104.6 mg / L and 29.8 mg / L for 48 hours, showing that as the exposure time decreases the lethal concentration increase.

2020. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. All rights reserved.



Introducción

El agua es un líquido vital para la existencia de todo organismo. Sin embargo este recurso se encuentra amenazado por el rápido crecimiento poblacional y por ende la contaminación. La toxicidad producida por contaminantes como metales pesados, hidrocarburos, plaguicidas y fertilizantes en ambientes acuáticos han sido ampliamente evaluada¹, pocos son los estudios sobre el efecto de los productos farmacéuticos (PF), principalmente de antiinflamatorios no esteroideos (AINE's) (ibuprofeno, naproxeno y diclofenaco).

Los medicamentos tienen su importancia en la práctica médica, con efectos beneficiosos (y/o secundarios) en la salud humana y veterinaria, ampliamente reconocida. Sin embargo, el área donde carecemos de una visión global, es comprender qué sucede cuando estos se descargan al medio ambiente (MA), ya sea a través de su consumo, o como productos no utilizados o caducados. Se han detectado residuos de varios tipos de medicamentos en el MA, como aguas superficiales, aguas subterráneas, suelos, aire y biota. Tal ocurrencia generalizada obviamente plantea la pregunta de si una concentración de medicamentos en el MA representa un riesgo para la biota o los humanos². Los fármacos detectados en mayores concentraciones en las aguas de entrada fueron AINE's, hipolipemiantes, betabloqueantes y antihistamínicos, se analizaron las concentraciones de fármacos, desinfectantes y drogas de abuso a la entrada y a la salida. Los contaminantes cuyas concentraciones a la salida se mantuvieron con respecto a la entrada fueron: diazepam, diclofenaco, enalapril y EDDP (metabolito de metadona)^{3,4}.

Lo que ha despertado una mayor preocupación ha sido el hallazgo de algunos de estos como (ibuprofeno, diclofenaco y carbamacepina) en aguas pota-

bles. Esta contaminación produce cambios que afecta el funcionamiento de procesos biológicos, generando efectos tóxicos crónicos, que provocan disminución en la reproducción, muerte en el proceso de embriogénesis, de los recién nacidos, deformaciones en el crecimiento, daños en la piel, finalmente reducción en la población de la flora y fauna habitantes naturales del ambiente acuático⁵⁻⁷. La contaminación producida por contaminantes como metales pesados, hidrocarburos y plaguicidas en ambientes acuáticos ha sido ampliamente evaluada, pero pocos son los estudios sobre el efecto de los PF^{8,9}. Las principales vías de contaminación están relacionadas con el consumo y la excreción de fármacos y sus metabolitos en orina, heces que contaminan el ambiente acuático⁶.

Los AINE's son el grupo farmacológico que más se consume globalmente con o sin prescripción médica, sobre todo para el tratamiento sintomático de diversos padecimientos, que cursan con dolor agudo o crónico¹⁰, actualmente constituyen uno de los grupos farmacológicos más prescritos y consumidos en el mundo, por su venta libre, para usos en diversos síndromes dolorosos, de ahí que resulta ineludible focalizar la atención sobre los aspectos de su seguridad¹¹. Los PF son sustancias que intentan curar, mitigar o prevenir en su aplicación en el cuerpo humano o animal, debido a su uso intenso y extensivo ingresan al ambiente cada año, y estiman que su cantidad es similar al total de plaguicidas utilizados durante mismo periodo^{9,12,13}.

Las formas más comunes de los efectos negativos, son la disminución en la reproducción, muerte en el proceso de embriogénesis y de los recién nacidos, deformaciones en el crecimiento, daños en la piel y

finalmente reducción en la población de la flora y fauna habitantes naturales del ambiente acuático^{14,15}. Los objetivos del trabajo de investigación fueron: i) Evaluar la mortalidad en estadios juveniles del Sapo Espinoso Andino *Rhinella spinulosa* (Wiegman 1843): un indicador de aguas contaminadas por medicamentos antiinflamatorios no esteroideos AINE's con diferentes concentraciones en dos tiempos de exposición (24 y 48 h) sobre sus estados inmaduros, determinado su porcentaje de mortalidad y el cálculo de la concentración letal media (CL₅₀). ii) Comparar la mortalidad y la concentración letal media (CL₅₀).

Materiales y métodos

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Sistema de Información Geográfica y Biodiversidad de la Facultad de Ciencias Biológicas (LSIGB-FCB), en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH). Ubicado en la región Ayacucho, provincia de Huamanga y distrito de Ayacucho. Entre las Coordenadas Geográficas: 13° 08' 42" Latitud Sur y 74° 13' 17" Longitud Oeste y Coordenadas UTM 0584386 Este, 8546645 Norte y 2791 msnm.

Obtención de los estados inmaduros de R. spinulosa: Fueron obtenidos del río Huatatas cerca de la ciudad de Ayacucho, se transporto en baldes al LSIGB-FCB, luego fueron estabuladas en bandejas con agua declorada, 24 h antes de la prueba de toxicidad, para evitar que las excretas y restos orgánicos interfiera en los resultados del experimento. Dichos individuos fueron seleccionados de un tamaño homogéneo de aproximadamente 2 a 2.5 cm, figura 1 y 2. Se utilizó 3 g de cada fármaco comercial (ibuprofeno: 400 mg, naproxeno: 550 mg y diclofenaco: 50 mg) expendidos en la ciudad de Ayacucho.

Preparación de las soluciones de fármacos comerciales: Se elaboró diferentes concentraciones, ya que no se contaban información recomendada para cada producto. Para ello se realizó pruebas piloto, y a partir de estos se determinó las concentraciones, tabla 1.

Población y muestra. Los estadios inmaduros del *R. spinulosa* como organismo de prueba, se fundamenta en que estos individuos son resistentes a aguas contaminadas, ya que su hábitat es por lo general en aguas estancadas, además de su disponibilidad en grandes cantidades en las estaciones de verano.

Figura 1 Bandejas con estados inmaduros de *Rhinella spinulosa* (Wiegman 1843) listas para el experimento



Figura 2 Medida del tamaño de los estadios inmaduros *Rhinella spinulosa* (Wiegman 1843) utilizados para el experimento



Unidad experimental (UE): Envases de un litro de capacidad, conteniendo ibuprofeno de 10, 20 40 y 80 mg/L, naproxeno 8, 16, 32 y 64 mg/L y diclofenaco 16, 30, 60 y 120 mg/L, respectivamente, cada uno con tres repeticiones, además de 10 unidades de estados inmaduros de *R. spinulosa*. El experimento se instaló a las 06 h, el control de mortalidad se

registró cada 24 h, considerándose la mortalidad acumulada (MA) la suma de los especímenes muertos a las 24 y 48 h.

Tabla 1 Disposición de los envases con diferentes concentraciones de fármacos

Unidad experimental	N° de individuos (estados inmaduros de <i>Rhinella spinulosa</i>)	Concentración del fármaco ibuprofeno (mg/L)	Concentración del fármaco naproxeno (mg/L)	Concentración del fármaco diclofenaco (mg/L)
Testigo	10	0	0	0
1	10	10	8	16
2	10	20	16	30
3	10	40	32	60
4	10	80	64	120

Tabla 2 Distribución de las unidades experimentales según la concentración de los fármacos

Fármaco	Concentración del fármaco (mg/L)	N° de recipientes (repeticiones)	Total de Recipientes
Ibuprofeno	10	3	12
	20	3	
	40	3	
	80	3	
Naproxeno	8	3	12
	16	3	
	32	3	
	64	3	
Diclofenaco	16	3	12
	30	3	
	60	3	
	120	3	
Testigo	0	4	4

Sistema de muestreo: El sistema de muestreo a través del que se seleccionó la cantidad de fármaco a emplear fue aleatorio, se tomó 3 g de cada fármaco comercial, previamente trituradas y molidos los comprimidos. Con la finalidad de darle aleatoriedad en las filas y columnas se sorteó la disposición de las UE de fármacos más los estados inmaduros de *R. spinulosa*.

Recolección de datos: El instrumento empleado para la recolección de datos fue la observación, a través del cual se pudo determinar el número de individuos muertos (no presentan movimiento al toque con una brocheta) a las 24 y 48 h de exposición a los fármacos.

Preparación de las UE: Se consideró 40 con tres

repeticiones cada una, constituida por envases de plásticos de 1 L de capacidad, con 1 L de agua y la concentración del fármaco, 10 individuos de estados inmaduros de *R. spinulosa* (número recomendado para estudios de toxicidad en la que se emplea como modelos a organismos como insectos, anfibios y Peces¹⁶). Con la finalidad de minimizar el efecto de factores no considerados (luz, ruido, etc.) en el estudio, las UE fueron ubicadas en un ambiente aislado a 22 °C de temperatura promedio bajo sombra, 50% de humedad y 13 h luz día. Se acondicionó dos bombas de aire para acuario de 9W, empleando mangueras de silicona de 0.3 cm de diámetro y piedras difusoras, el ingreso de aire a cada UE fue con potencia mínima para evitar formación de corrientes

con el fin de no perturbar el comportamiento natural de los renacuajos.

Una vez estabulados los individuos de *R. spinulosa* en las UE, se realizaron las inspecciones cada 24 h con la finalidad de determinar el número de individuos muertos, con la ayuda de unas brochetas se tocaron aquellos individuos inmóviles, si en el caso de seguir inmóvil, fueron considerados como muertos y extraídos de las unidades experimentales, el mismo procedimiento se realizó a las 24 y 48 h.

Tipo de investigación: Básica - experimental ya que el objetivo del trabajo dar pautas sobre el grado de toxicidad de los fármacos en los recursos hídricos, contribuyendo a demostrar que los residuos de los medicamentos se comportan como contaminantes produciendo la mortalidad de anfibios y otros seres vivos acuáticos, tomando como modelo a los estadios inmaduros de *R. spinulosa* y experimental ya que se tomaron en cuenta dos variables, i) los tres

tipos de fármacos, ii) las concentraciones crecientes. **Análisis estadístico:** Los datos obtenidos fueron utilizados para la construcción de una matriz de datos en el software Excel, para luego ser exportados a InfoStat¹⁷ y MINITAB 16¹⁸, se elaboraron tablas y figuras con datos estadísticos de tendencia central y de dispersión, con la finalidad de comparar las mortalidades registradas de los individuos en los doce tratamientos (tres fármacos probados en cuatro concentraciones crecientes) más un testigo, se empleó el análisis de Kruskal-Wallis¹⁹, debido a que los datos no mostraron distribución normal Para la estimación de la concentración letal media (CL₅₀)^{16,20}, para el cual se empleó el software MINITAB 16¹⁸ para realizar los análisis estadísticos señalados.

Resultados

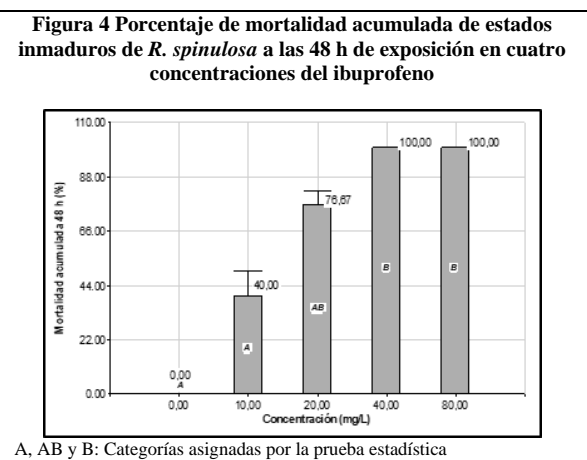
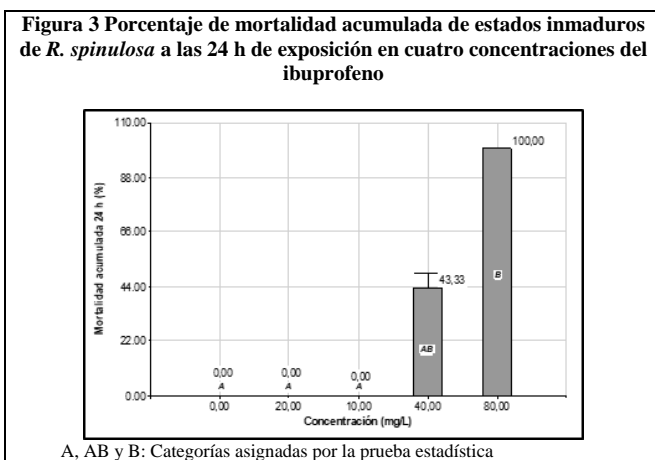


Tabla 3 Valores de la concentración letal media (CL₅₀) e intervalo de confianza a 24 y 48 h de exposición para los tres fármacos

Tratamientos (detergentes)	Tiempo de exposición (h)	CL ₅₀	Intervalo de Confianza (95%)	
			Inferior	Superior
Ibuprofeno	24	68.60	58.7566	83.6727
	48	13.47	10.7968	16.1952
Naproxeno	24	106.6	75.0996	297.636
	48	104.6	67.1679	533.18
Diclofenaco	24	120.8	104.966	147.734
	48	29.8	24.1588	35.9928

CL₅₀: Concentración Letal Media

Tabla 4 Prueba de Kruskal-Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad acumulada de los estados inmaduros de *R. spinulosa* sometidos a cuatro concentraciones crecientes de ibuprofeno registrados a las 24 h de exposición

Concentración (mg/L)	N	Medias	D.E.	H	p	Trat.	Ranks		
0	2	0	0	10.37	0.0118	0	4.5	A	
10	3	0	0			10	4.5	A	
20	3	0	0			20	4.5	A	
40	3	43.33	5.77			40	10.0	A	B
80	3	100.00	0			80	13.0		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 5 Prueba de Kruskal-Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad acumulada de los estados inmaduros de *R. spinulosa* sometidos a cuatro concentraciones crecientes de ibuprofeno registrados a las 48 h de exposición

Concentración (mg/L)	N	Medias	D.E.	H	p	Trat.	Ranks		
0	2	0	0	11.74	0.0124	0	1.5	A	
10	3	40.00	10.00			10	4.0	A	
20	3	76.67	5.77			20	7.0	A	B
40	3	100.00	0			40	11.5		B
80	3	100.00	0			80	11.5		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 6 Prueba de Kruskal-Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad acumulada de los estados inmaduros de *R. spinulosa* sometidos a cuatro concentraciones crecientes de naproxeno registrados a las 24 h de exposición

Concentración (mg/L)	N	Medias	D.E.	H	p	Trat.	Ranks		
0	2	0	0	6.41	0.0372	0	5.50	A	
8	3	0	0			8	5.50	A	
16	3	0	0			16	5.50	A	
32	3	3.33	5.77			32	7.67	A	B
64	3	13.33	5.77			64	12.67		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 7 Prueba de Kruskal-Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad acumulada de los estados inmaduros de *R. spinulosa* sometidos a cuatro concentraciones crecientes del naproxeno registrados a las 48 h de exposición

Concentración (mg/L)	N	Medias	D.E.	H	p	Trat.	Ranks		
0	2	0	0	11.83	0.0167	0	1.5	A	
8	3	23.33	5.77			8	5.0	A	B
16	3	26.67	5.77			16	6.0	A	B
32	3	50.00	10.00			32	10.0		B
64	3	73.33	5.77			64	13.0		B

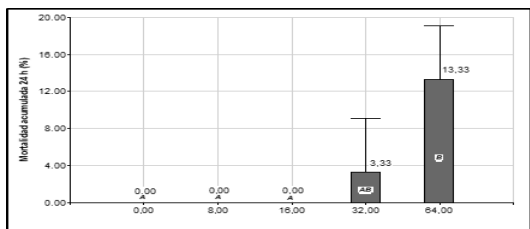
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 8 Prueba de Kruskal-Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad acumulada de los estados inmaduros de *R. spinulosa* sometidos a cuatro concentraciones crecientes de diclofenaco registrados a las 24 h de exposición

Concentración (mg/L)	N	Medias	D.E.	H	p	Trat.	Ranks		
0	2	0	0	10.37	0.0118	0	4.5	A	
15	3	0	0			15	4.5	A	
30	3	0	0			30	4.5	A	
60	3	13.33	5.77			60	10.0	A	B
120	3	100.00	0			120	13.0		B

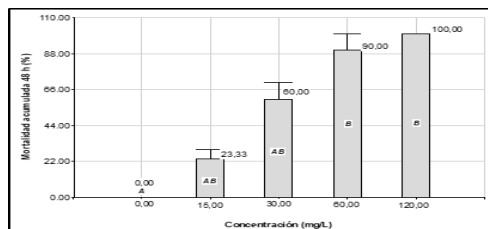
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Figura 5 Porcentaje de mortalidad acumulada de estados inmaduros de *R. spinulosa* a las 24 h de exposición en cuatro concentraciones del naproxeno



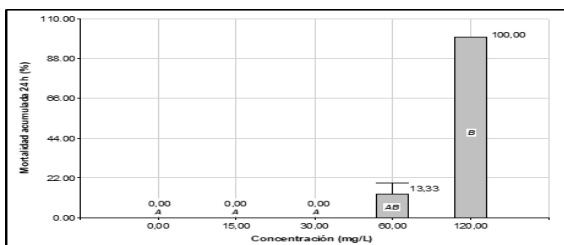
A, AB y B: Categorías asignadas por la prueba estadística

Figura 6 Porcentaje de mortalidad acumulada de estados inmaduros de *R. spinulosa* a las 48 h de exposición en cuatro concentraciones del naproxeno



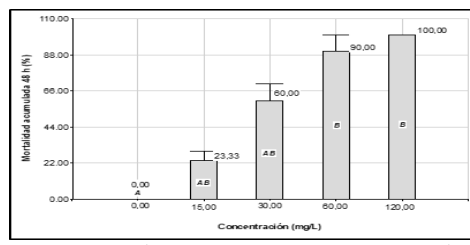
A, AB y B: Categorías asignadas por la prueba estadística

Figura 7 Porcentaje de mortalidad acumulada de estados inmaduros de *R. spinulosa* a las 24 h de exposición en cuatro concentraciones del diclofenaco



A, AB y B: Categorías asignadas por la prueba estadística

Figura 8 Porcentaje de mortalidad acumulada de estados inmaduros de *R. spinulosa* a las 48 h de exposición en cuatro concentraciones del diclofenaco



A, AB y B: Categorías asignadas por la prueba estadística

Tabla 9 Prueba de Kruskal-Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad acumulada de los estados inmaduros de *R. spinulosa* sometidos a cuatro concentraciones crecientes de diclofenaco registrados a las 48 h de exposición

Concentración (mg/L)	N	Medias	D.E.	H	p	Trat.	Ranks
0	2	0	0	12.09	0.0145	0	1.5 A
15	3	23.33	5.77			15	4.0 A B
30	3	60.00	10.00			30	7.0 A B
60	3	90.00	10.00			60	10.5 B
120	3	100.00	0			120	12.5 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Discusión

En la figura 3 y tabla 4, se observa que la mortalidad se incrementa directamente a su concentración, así 10 y 20 mg/L no se registró, mientras a 40 y 80 mg/L presenta 43.33% y 100% respectivamente, en el testigo no hubo mortalidad, de ahí que la mortalidad estaría relacionada por los cambios químicos que ocurre en el ambiente acuático por la presencia de los residuos y algunos metabolitos del ibuprofeno. La prueba de Kruskal Wallis^{19,21} para comparar la MA en las diferentes concentraciones, se halló significancia estadística ($p < 0.05$), la mortalidad registrada (MR) fue diferente de acuerdo al incre-

mento de concentración. Al categorizarla en función a la MR, se observa a 10 y 20 mg/L fue menor, mientras que a 40 y 80 mg/L generaron mayor mortalidad, siendo a la vez estos similares entre sí. Lo hallado puede deberse a la presencia de metabolitos del fármaco, estos son poco degradables en el ambiente ocasionando una mayor capacidad de toxicidad en los órganos de los animales^{5,9,15}. González-Naranjo²², reporta que ibuprofeno presenta una gran movilidad en el suelo, por lo que al menos se encontrará en dos compartimientos ambientales: el acuático y el terrestre y no existen estudios de toxicidad. Muñoz-Escobar & Palacio-Baena²⁰, señala que la tasa de crecimiento de los renacuajos tratados con

HgCl₂ se redujo considerablemente, en especial en la mayor concentración, la reducción de peso y longitud de los renacuajos podría estar asociada con el incremento del costo metabólico debido a los procesos de depuración y detoxificación celular, a la reducción de la actividad de algunas enzimas. Infac⁴ informa que existen fármacos con efectos tóxicos en diversas especies, que alteran la reproducción de peces, en determinados casos los datos de toxicidad en humanos se puede extrapolar a los potenciales efectos en los vertebrados. Castro-Pastrana et al.²³, advierten que algunos fármacos de mayor consumo como el ibuprofeno, en estudios realizados en Canadá y Europa han confirmado la presencia de este fármaco en concentraciones del orden de los µL o mayores en aguas superficiales, sedimentos, biosólidos, agua subterránea, agua potable y aguas previamente procesadas en plantas de tratamiento. Silva-Agredo et al.²⁴, recomiendan que es necesario la investigación e implementación de técnicas que permitan la remoción de este tipo de sustancias de cuerpos de agua, a través del empleo de ondas ultrasónicas generadas a través de un piezoeléctrico tienen la capacidad de degradar contaminantes orgánicos. Estos resultados son corroborados por los autores citados anteriormente.

En la figura 4 y tabla 5, tal como se había señalado anteriormente se observa que la mortalidad se incrementa a con la concentración del fármaco, así, con 10 y 20 mg/L la MR fue 40 y 76.67% respectivamente, mientras que a 40 y 80 mg/L se registra 100%. Con la prueba de Kruskal-Wallis^{19,21} para comprar las MA de las diferentes concentraciones del ibuprofeno, se halló significancia estadística ($p < 0.05$). Interpretándose que los porcentajes de MR son diferentes en los medios probados con diferente concentración. Al realizar la categorización en función de los valores promedios de MR, a 10 y 20

mg/L originaron menor mortalidad, mientras que a 40 y 80 mg/L fue mayor, siendo a la vez similares entre sí, el porcentaje de mortalidad aumenta a menores concentraciones ya que el tiempo de exposición al que fue sometido fue mayor que el anterior. También es importante resaltar que debido a la acumulación de los metabolitos en el individuo produce mayor daño, cuando mayor tiempo es expuesto. Por otro lado, la acumulación de estos metabolitos ocasionan alteraciones en el comportamiento de los estados inmaduros de *R. spinulosa*, disminuyendo su movilidad y finalmente separando la epidermis de los músculos^{4,6,9,14}. En muchos países se han realizado investigaciones que determinan la presencia de estos contaminantes, en el río Atibaia de São Paulo (Brasil), se han realizado estudios para la determinación de 15 contaminantes emergentes (CE) en aguas superficiales, entre ellos ibuprofeno. En aguas residuales de Montevideo, Uruguay se destaca la presencia de residuos de ibuprofeno y otros contaminantes^{25,26}. En la última década ha aumentado la medición de residuos farmacéuticos, especialmente en aguas superficiales, freáticas e incluso en el agua potable teniendo efectos adversos en la flora y la fauna y en la salud de los ecosistemas, desencadenando la preocupación pública porque el ibuprofeno fue reportado en 47 países en el medio acuático²⁷. La atención en la contaminación del agua se ha expandido recientemente en los llamados “contaminantes emergentes” o nuevos contaminantes, cuya presencia en el MA no es nueva, pero las posibles consecuencias en la salud pública y el MA no son bien conocidas, en este estudio encuentran al ibuprofeno en muestras de agua²⁶. Estos estudios señalan que a medida que se incrementa los contaminantes farmacéuticos, muchos seres vivos en su estado inmaduro mueren o no llegan a reproducirse. En la figura 5 y tabla 6, se observa aumento

de la mortalidad en relación a la concentración, así a 8 y 16 mg/L no se registró, mientras a 32 y 64 mg/L, se observó 3.33% y 13% respectivamente de mortalidad, considerándose que en el testigo no hubo registró alguno, lo que indica que la mortalidad está dado por la presencia del fármaco. Al aplicar la prueba estadística de Kruskal Wallis^{19,21} para comparar la MA registrada en las diferentes concentraciones, se halló significancia estadística ($p < 0.05$), nos permite afirmar que los porcentajes de mortalidad registrados difieren según la concentración del fármaco naproxeno en las UE. Al realizar la categorización en función de la mortalidad generada, 8 y 16 mg/L originaron menores mortalidades, mientras que a 32 y 64 mg/L fue mayor, pero a la vez similares entre sí. El resultado se debe a la presencia de los metabolitos del fármaco ya que al estar presente en el medio donde se hallan los estados inmaduros del *R. spinulosa*, existe una mayor posibilidad de que sean ingeridos por éstas. Por otro lado Jiménez-Cartagena²⁸, menciona que los metabolitos de los fármacos no son transformados en su totalidad por lo que son eliminados a las aguas residuales y otros casos a los cuerpos de agua directamente, provocando alteraciones ambientales o bioacumulación en algunos de los niveles de la cadena trófica. En la figura 6 y tabla 7, se observa que la mortalidad se incrementa en relación a la concentración del fármaco, así a 8 y 16 mg/L se registraron 23.33 y 26.67%, mientras a 32 y 64 mg/L, 50% y 73.33% respectivamente. Al realizar la prueba de Kruskal Wallis^{19,21}, se halló significancia estadística ($p < 0.05$), que nos permite señalar que los porcentajes de MR son diferentes en los tratamientos con distinta concentración de naproxeno. Al realizar la categorización de las concentraciones en función a la mortalidad originada, las concentraciones de 8 y 16 mg/L originaron menor, mientras a 32 y 64 mg/L causaron mayores mortalidades, pero a la vez simi-

lares entre ellas. El resultado puede deberse a la acumulación de los metabolitos del fármaco, provocando alteraciones en el comportamiento y la fisiología de los estados inmaduros de *R. spinulosa*, disminuyendo la respiración, inhibiendo los procesos asociados a la membrana celular facilitando la producción del estrés oxidativo¹⁵. Castro-Pastrana et al.²³, mencionan sobre el potencial ecotóxico de los medicamentos más consumidos, debiéndose desarrollar programas de ecofarmacovigilancia y reforzar la investigación. Para evaluar los riesgos medioambientales se comparan las concentraciones previstas (o medidas) de fármacos en el medio ambiente con las concentraciones previstas sin efecto (PNEC: Predicted No Effect Concentration), fruto de experimentos de laboratorio estandarizados con organismos modelo, tales como algas, dafnias, peces o plantas, el naproxeno se encuentra contaminando el medio acuático en 45 países de Naciones Unidas, sugiriendo incrementar la concienciación global sobre los efectos adversos de la penetración de fármacos en el MA²⁷. Los resultados señalan que mayores concentraciones de naproxeno pueden ser letales, porque su consumo se incrementa más y más. El consumo de fármacos en muchos países se cifra en toneladas por año, y muchos de los más usados, entre ellos los antiinflamatorios, luego de su ingesta se excretan a través de orina y heces, ingresando de manera continua y persistentes a las aguas residuales^{5,13}. En la figura 7 y tabla 8, la mortalidad aumenta con la concentración del fármaco, así a 15 y 30 mg/L no se registra mortalidad, mientras que a 60 y 120 mg/L se registran 13.33% y 100% respectivamente, el testigo no hubo mortalidad, y estaría dada por la presencia del fármaco. Al aplicar la prueba estadística de Kruskal Wallis^{19,21} para comparar la MA registrada en las diferentes concentraciones, se halló significancia estadística ($p < 0.05$), permitiendo señalar que los porcentajes de MR son

diferentes en las UE, a diferente concentración de diclofenaco. Al realizar la categorización de las concentraciones en función a la MR, 15 y 30 mg/L no originó mortalidad, mientras a 60 y 120 mg/L presentaron mayor mortalidad, pero similares entre sí. El resultado descrito se debe al efecto tóxico de los metabolitos del diclofenaco ya que no son transformados en su totalidad al ser consumidos por el ser humano y los animales, afectando directamente a los organismos acuáticos al ser acumulado en el medio donde habitan. Por otro lado Valdes-Alanis⁸, concluye que los metabolitos posibilitan la producción del estrés oxidativo (incremento del grado de lipoperoxidación y proteínas oxidadas, así como alteración de la actividad de las enzimas antioxidantes, superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa), como consecuencia daño a diversas biomoléculas, ocasionando finalmente la muerte.

En la figura 8 y tabla 9, se observa que la mortalidad se incrementa a medida que la concentración del fármaco aumenta, así con 15 y 30 mg/L se registra 23.33 y 60%, mientras a 60 y 120 mg/L, 90% y 100% respectivamente. Al realizar la prueba de Kruskal Wallis^{19,21} para comparar las mortalidades acumuladas con diclofenaco, se halló significancia estadística ($p < 0.05$). Nos permite señalar que los porcentajes de MR son diferentes en las UE, la categorización de las concentraciones en función a la mortalidad originada, a 15 y 30 mg/L originaron menor mortalidad y a 60 y 120 mg/L expusieron mayor mortalidad, pero similares entre ellas. Como ya se mencionó anteriormente los resultados hallados se debe a la presencia de sus metabolitos, observándose que el porcentaje de mortalidad aumenta a menores concentraciones mientras más transcurre el tiempo, esto se debe a la acumulación de los metabolitos en el individuo, por lo que produce más daño cuando a mayor tiempo es expuesto, Por otro

lado, de acuerdo a la clasificación de peligro ambiental y valoración de riesgo de ingredientes farmacéuticos en Suecia, diclofenaco está clasificado como peligroso para el ambiente y se considera además potencialmente bioacumulable^{4,7,9,10}. Diclofenaco fue reportado en aguas superficiales por encima de los niveles los niveles PNEC (por siglas en inglés: Predicted no-effect concentration) en 34 países, hecho que sugiere unos efectos ecotoxicológicos adversos para los organismos que habitan estos lugares²⁷. Moreno-Ortiz et al.²⁹ encuentran la presencia de principios activos farmacéuticos en el medio ambiente es cada vez más preocupante, se han observado diversos efectos nocivos de varios grupos terapéuticos tales como los AINE's (diclofenaco) sobre la reproducción, fallo renal, muerte, resistencia a antibióticos y desórdenes endócrinos en diferentes especies animales. Pérez-Parada et al.²⁶, mencionan nuevos contaminantes incluye a diclofenaco que persistentes en aguas residuales, superficiales y potables, en Uruguay al igual que en países de la región, no existe regulación específica de CE, algo que otras normativas como la Europea está bajo consideración para algunas sustancias. Una amplia gama de CE está siendo estudiada en el medio acuático alrededor del mundo. Se incluyen los pesticidas, productos farmacéuticos, drogas ilícitas, entre muchos, los cuales, por sus bajas concentraciones, no son eliminados eficazmente con los tratamientos de agua convencionales, estos pueden ser acumulados y causar un gran impacto en la salud y el medioambiente, y generar algunos problemas como disruptores endócrinos y problemas hormonales, entre otros³⁰ En el tratamiento veterinario se debe conocer no sólo los efectos terapéuticos derivados del empleo de ciertos agentes farmacológicos, sino también los posibles riesgos medioambientales que su actividad puede ocasionar, la ivermectina es

un antiparasitario en el ganado ovino utilizado frecuentemente, el profesional veterinario debe estar implicado en la protección del medio ambiente, “Todo medicamento veterinario no sólo debe ser seguro con respecto al animal tratado, sino también para los consumidores, los usuarios y el medio ambiente”³¹. Por los resultados reportados en el presente trabajo los tres AINE’s contaminan los ambientes acuáticos y producen mortalidad de los estados inmaduros de *R. spinulosa* y posiblemente otras especies acuáticas. En la tabla 3, se presentan valores de las concentraciones letales medias (CL₅₀) con sus intervalos de confianza a las 24 y 48 h de exposición para los tres fármacos. Se puede apreciar que a mayor tiempo de exposición, la CL₅₀ disminuye con los tres fármacos, así para ibuprofeno a las 24 y 48 h, el CL₅₀ fue 68.60 mg/L y 13.47 mg/L respectivamente, para naproxeno se registró valores de 106.6 y de 104.6 mg/L para las 24 y 48 h de exposición y finalmente para el diclofenaco se registró valores de 120.8 y 29.8 mg/L para las 24 y 48 h de exposición. Los resultados reportados son congruentes con lo manifestado anteriormente, esto se justifica por el hecho de que cuando menor sea el valor de la CL₅₀, mayor toxicidad origina, también es de resaltar que, a medida que el tiempo de exposición se incrementa, los valores de la CL₅₀ disminuyen (esta tendencia se observa en los tres fármacos), lo que se interpreta que, cuanto más es el tiempo de exposición a una sustancia tóxica, mayor efecto tóxico causará. Teniendo en cuenta los resultados, se argumenta: que los porcentajes de MR para cada fármaco fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$), según la concentración de los fármacos en las UE, los porcentajes de MR fue aumentando a medida que la concentración y el tiempo de exposición se incrementa, tal fue para el ibuprofeno que registró mortalidades de 40.00%, 76.67% y 100%, naproxeno 23.33%, 26.67%, 50% y 73.33% y fi-

nalmente para el diclofenaco 23.33%, 60%, 90% y 100% a las 48 h de exposición. La CL₅₀ para ibuprofeno fue 68.60 mg/L y 13.47 mg/L, naproxeno 106.6 mg/L y 104.6 mg/L, y finalmente para diclofenaco 120.8 mg/L y 29.8 mg/L a las 24 y 48 h de exposición respectivamente. La mortalidad generada fue menor a las 24 h, mientras a las 48 h fue incrementándose en los tres fármacos estudiados, al hacer la comparación en las concentraciones se halló que la CL₅₀ tiende a disminuir a medida que el tiempo de exposición al tóxico se incrementa. Iannacone & Alvarino³², reportaron el ibuprofeno usado sobre *D. magna* produjo un valor de CL₅₀ a 96 h de 175, con un RAC (Relación Agudo Crónico) de 1.16 y EP (Eco toxicidad Potencial) de 1.28×10^{-4} , PNEC y un cociente de riesgo 0.057, observándose efectos tóxicos. Llanos et al.³³, determinaron CL₅₀ y la eficacia como anestésico de eugenol a diversas dosis sobre el pez espada *Xiphophorus helleri* (Heckel, 1848). Para la determinación de la CL₅₀ se trabajó con 10 individuos en el control y en cada una de las concentraciones con réplicas por triplicado, verificando la efectividad en dosis de 100, 125 y 150 mg.L⁻¹, si el anestésico produce efectos a diferentes concentraciones los AINE’s a medida que se incrementa la dosis mueren por alta concentración. Barros-Santiago & Gámez-Rojas³⁴, determinaron la CL₅₀₋₉₆ del Glifosato Roundup^R 747_{SG} sobre alevinos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), estableciendo que el valor de la CL₅₀₋₉₆, con sus respectivos límites de confianza, osciló entre 0.6251 mg/L y 1.3881 mg/L presentando un valor promedio de 1.0066 mg/L indicando que a esta concentración se muere la mitad de los organismos expuestos al glifosato. Espinoza-Quintana & Martínez-Huaroc³⁵, mencionan que los medicamentos son sustancias químicas, empleados para restablecer la salud de los seres humanos y de los animales, estos efectos pueden producir respuestas inesperadas en microorga-

nismos y plantas, debido a diferencias farmacocinéticas, farmacodinamias y fisiológicas, la investigación se llevó a cabo con *Lactuca sativa* “lechuga”, se determinó la toxicidad aguda producida por diclofenaco de 75mg/3mL, siendo la CIM_{50} 0.076 mg/mL y la CL_{50} 0.402 mg/mL. Entonces estos AINE’s no solamente producen efectos a los animales sino lo realizan en las plantas, es decir la contaminación del suelo y agua debe producir bajos rendimientos en la crianza de animales y plantas cultivadas, a estas últimas generalmente se realizan el riego. Ríos-Abad & Padilla-Sagástegui³⁶, al realizar un trabajo de investigación de “Efecto ecotoxicológico de benzodiazepina y para-aminofenol sobre larvas de *Aedes aegypti*”, señalaron que en un tiempo de exposición de 24 y 48 h, ambos fármacos presentaron efecto letal sobre las larvas, con la diferencia que a las 48 h, el efecto letal de la benzodiazepina supera al para-aminofenol. Oscanoa-Espinoza & Lizaraso-Soto¹¹ en su estudio “Antiinflamatorios no esteroideos: seguridad gastrointestinal, cardiovascular y renal”, en la seguridad gastrointestinal las concentraciones medias circulantes predecía el valor el riesgo de hemorragia digestiva alta para cada AINE’s³⁷. En seguridad cardiovascular naproxeno, ibuprofeno, diclofenaco con placebo, señalaron la existencia una variación significativa entre los diferentes AINE’s analizados, con menor riesgo cardiovascular fue naproxeno, los AINE’s que superan el 30% de riesgo en varios resultados cardiovasculares son ibuprofeno, diclofenaco, etoricoxib y lumiracoxib, entre otros³⁸. Además las principales reacciones adversas de los AINE’s a nivel del sistema renal Nderitu et al.³⁹ publicaron resultados de un estudio meta analítico sobre la influencia de los AINE’s en la progresión de la falla renal crónica, señalando que solo las dosis altas aumentan en forma significativa la progresión de dicha enferme-

dad. El riesgo relativo de los diferentes AINE’s figuraron: diclofenaco (3.2 IC 95% 1.38-7.05), naproxeno (2.98 IC 95% 0.62-14.21), ibuprofeno (2.64 IC 95% 1.01- 6.88). Entonces si en los humanos ocurren estas reacciones adversas al administrar estos medicamentos, más aún en los estados inmaduros de *R. spinulosa* sometidos a la acción de los AINE’s les provocó la muerte por las reacciones adversas. Varios estudios han confirmado que el diclofenaco es tóxico para las aves y se ha reportado en cantidades suficientes en carroñas de reses en la India y es considerado como el principal causante de la disminución de dichas aves^{7,9}, todos los autores consultados corroboran nuestros resultados. Zavaleta-Flores⁴⁰, en la determinación de la CL_{50} realizó mediante bioensayos, a diferentes concentraciones de cloruro de mercurio (0.01 mg $HgCl_2/L$, 0.1 mg $HgCl_2/L$ y 1 mg $HgCl_2/L$ respectivamente) y un tratamiento control para un total de cuatro líneas de prueba, utilizando alevinos de *Colossoma macropomum* con un peso promedio de 4 g y longitud estándar de 5 cm, se emplearon alevinos de esta especie por su grado de sensibilidad a las contaminaciones orgánicas y fácil adaptación a ser alimentado artificialmente, la CL_{50} del cloruro de mercurio para la gamitana fue de 0.23 ± 0.15 mg/L en 96 h. Después de analizar suficiente información de los autores ya mencionados, los resultados obtenidos en el presente trabajo son corroborados, podemos señalar que el estado inmaduro de *R. spinulosa*, resiste a cierta concentración y tiempo de exposición pasado los límites permisibles mueren. Finalmente la presente investigación permitió establecer que los porcentajes de mortalidad registrados para cada fármaco fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$), según la concentración de los fármacos en las unidades experimentales, los porcentajes de MR fue au-

mentando a medida que la concentración y el tiempo de exposición se incrementa.

La mortalidad generada fue menor a las 24 h, mientras a las 48 h fue incrementándose en los tres fármacos estudiados, al hacer la comparación en las concentraciones se halló que la CL_{50} tiende a disminuir a medida que el tiempo de exposición al tóxico se incrementa.

Fuente de financiamiento

Nuestro reconocimiento al Fondo de Desarrollo Socioeconómico de Camisea (FOCAM) que fomenta la investigación científica y tecnológica en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por facilitar los materiales y equipos del Laboratorio de Biodiversidad y Sistema de Información Geográfica, parte del proyecto “Capacidad biogénica y de carga de lagunas y ríos alto andinos para el fomento de la truchicultura sostenible en cuatro distritos del departamento de Ayacucho”.

Conflictos de intereses

Los autores expresan que no existen conflictos de intereses.

Agradecimientos

Nuestro sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, a la Facultad de Ciencias Biológicas y a las escuelas de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, y al laboratorio de Biodiversidad y Sistema de Información Geográfica donde se realizó la parte experimental. Al Dr. Carlos Emilio Carrasco Badajoz por su colaboración y apoyo para hacer posible esta investigación.

Aspectos éticos

Todos los aspectos procedimentales y experimentales fueron aprobados por la comisión evaluadora de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga-Perú.

Literatura citada

1. Egea Serrano A. Aspectos relevantes en la conservación de anfibios en la región de Murcia: efectos de la contaminación por fertilizantes sobre *Pelophylax perezi* (Seoane, 1885) [tesis doctoral]. [Murcia]: Universidad de Murcia; 2010 [citado 26 de octubre de 2019]. Disponible: <http://hdl.handle.net/10803/11085>
2. Mudgal S, De Toni A, Lockwood S, Salès K, Backhaus T, Halling B. Study on the environmental risks of medicinal products. Final Report. Executive Agency for Health and Consumers; 2013 Dec. [citado 15 de octubre de 2019]. 310 p. Contract No.: 2011-6103. Recuperado a partir de: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/environment/study_environment.pdf
3. Barceló LD, López de Alda MJ. Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. [monografía en Internet]. Barcelona: Fundación Nueva Cultura del Agua. Panel Científico-Técnico de seguimiento de la política de aguas; 2008 [acceso 19 de diciembre de 2019]. Disponible en: <http://www.unizar.es/fnca/varios/panel/15.pdf>
4. Agirrezabala JR, Aizpurua I, Albizuri M, Alfonso I, Armendáriz M, Asensio A, et al. Farmacontaminación. Impacto ambiental de los medicamentos. Infac [Internet]. 2016 [citado 5 de octubre de 2016]; 24(10):59-64. Recuperado a partir de:

- http://files.sld.cu/medicamentos/files/2017/01/IN_FAC_Vol_24_n_10_farmacontaminacion.pdf
5. Tejada C, Quiñonez E, Peña, M. Contaminantes emergentes en aguas: metabolitos de fármacos. Una revisión. Revista de Facultad de Ciencias Básicas. [Bogotá]: Universidad Militar Nueva Granada 2014 [citado 19 de mayo de 2014]; 10(1):80-101. Recuperado a partir de: <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/view/341/137>
 6. Oropesa AL, Moreno JJ, Gómez LJ. Lesiones histopatológicas en peces originadas por la exposición a contaminantes emergentes: recopilando y analizando datos. Rev Toxicol [Internet]. 2017 [citado 5 de enero de 2020]; 34:99-108. Recuperado a partir de: <http://rev.aetox.es/wp/wp-content/uploads/2017/12/34.2.3-1.pdf>
 7. Bedner M, MacCrehan WA. Transformation of Acetaminophen by Chlorination Produces the Toxicants 1,4-Benzoquinone and *N*-Acetyl-*p*-benzoquinone. Imine Environ Sci Technol 2006;40(2):516-22. DOI: <https://doi.org/10.1021/es0509073>
 8. Valdes Alanis A. Evaluación de la toxicidad producida por diclofenaco sobre *Daphnia magna* [tesis licenciatura]. [México]: Instituto Politécnico Nacional; 2011 [cited 2014 Sep 4]. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx:8080/xmlui/handle/123456789/8067>
 9. Arbeláez Salazar PA. Contaminantes emergentes en aguas residuales y de río y fangos de depuradora [tesis doctoral]. [Tarragona]: Universitat Rovira i Virgili; 2015 [citado 26 de octubre de 2019]. Recuperado a partir de: <https://www.tesisenred.net/handle/10803/334397#page=2>
 10. García Colmenero I, Díaz Franco SD, Zorrilla Mendoza JG, Cortés Chamorro R. Aspectos de seguridad en el tratamiento del dolor con analgésicos antiinflamatorios no esteroides. Rev Sanid Mil 2018;72(5-6):324-31.
 11. Oscanoa Espinoza T, Lizaraso Soto F. Antiinflamatorios no esteroides: seguridad gastrointestinal, cardiovascular y renal. Rev Gastroenterol Peru 2015;35(1):63-71.
 12. Jjemba PK. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. Ecotoxicol Environ Saf 2005; 63(1):113-30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.11.011>
 13. Elorriaga Y, Marino DJ, Carriquiriborde P, Ronco AE. Emerging pollutants: pharmaceuticals in the environment. En: Elorriaga Y, Marino DJ, Carriquiriborde P, Ronco AE, editores. 7^{mo} Congreso de Medio Ambiente y Actas 7^{mo} Congreso de Medio Ambiente AUGM: 22 al 24 de mayo de 2012. CIMA. Facultad de Ciencias Exactas [Internet]. La Plata: Universidad Nacional de La Plata; 2012 [citado 3 de noviembre de 2019]. p. 1-9. Recuperado a partir de: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/26491>
 14. Castellanos Gutiérrez M, Solís Cartas U, Faure Bermúdez AI, Villaurrutia Velazco YC. Gastropatía por antiinflamatorios no esteroideos en pacientes con enfermedades reumáticas. Rev Cuba Reumatol 2014;16(3):356-64.
 15. Halling Sørensen B, Nors Nielsen S, Lanzky PF, Ingerslev F, Holten Lützhøft HC, Jørgensen SE. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. Chemosphere 1998;36(2):357-93. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00354-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00354-8)
 16. Paredes Espinal CE. Riesgo ecológico del sulfato de bario [tesis maestría]. [Lima]: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2016 [citado 26 de octubre de 2019]. Disponible: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2716>

17. Balzarini M, González LA, Tablada M, Casanoves F, Di Rienzo JA, Robledo CW. InfoStat Software Estadístico Manual del Usuario Versión 2008 [monografía en Internet]. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba; 2008. [acceso 19 de diciembre de 2019]. Disponible en: http://www.researchgate.net/publication/283491340_Infostat_manual_del_usuario
18. Casa Chiluisa PE. El Software Minitab 16 como herramienta de análisis de los datos estadísticos para mejorar la enseñanza aprendizaje en los alumnos de la carrera de ingeniería comercial en el período en el periodo 2014 [tesis licenciatura]. [Latacunga]: Universidad Técnica de Cotopaxi; 2014. [citado 26 de octubre de 2019]. Disponible: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/3133>
19. Clifford BR, Taylor RA, editores. Bioestadística. México: Pearson Educación; 2008.
20. Muñoz Escobar EM, Palacio Baena J. Efectos del cloruro de mercurio ($HgCl_2$) sobre la sobrevivencia y crecimiento de renacuajos de *Dendrosophus bogerti*. Actual Biol 2010;32(93):189-97.
21. Corzo JA. Estadística no paramétrica: métodos basados en rangos [Internet]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2005 [citado 22-de octubre de 2019]. 34 p. Recuperado a partir de: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/53385>
22. González Naranjo V. Efectos sinérgicos en el análisis ecotoxicológico del Ibuprofeno. Aproximación cuantitativa del riesgo ambiental. [tesis doctoral]. [Alcalá]: Universidad de Alcalá, 2013 [citado 26 de octe de 2019]. Recuperado a partir de: <http://eprints.imdea-agua.org:13000/372/>
23. Castro Pastrana LI, Baños Medina MI, López Luna MA, Torres García BL. Ecofarmacovigilancia en México: perspectivas para su implementación. Rev Mex Cienc Farm 2015;46(3):16-40.
24. Silva Agredo J, Giraldo Aguirre AL, Torres Palma RA. Degradación sonocquímica de naproxeno modelo para el tratamiento de aguas que contienen productos farmacéuticos. Rev Invest Univ Quindío (Col.) 2013;24(1):153-60.
25. Reinoso Carrasco JC, Serrano Delgado CY, Orellana Cobos DF. Contaminantes emergentes y su impacto en la salud. Revista de la facultad de Ciencias Médicas. Ref Fac Cienc Médic Univ Cuenca 2017;35(2):55.9.
26. Pérez Parada A, Niell S, Colazzo M, Besila N, Cesio V, Heinzen H. Evaluación preliminar de la ocurrencia de contaminantes emergentes en aguas residuales de Montevideo, Uruguay. En: Pérez Parada A, Niell S, Colazzo M, Besila N, Cesio V, Heinzen H, editores. 7^{mo} Congreso de Medio Ambiente y Actas 7^{mo} Congreso de Medio Ambiente AUGM: 22 al 24 de mayo de 2012. CIMA. Facultad de Ciencias Exactas [Internet]. La Plata: Universidad Nacional de La Plata; 2012 [citado 3 de noviembre de 2019]. p. 1-9. Recuperado a partir de: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/26665/Documento_completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y
27. Frank Andreas W, Beek T, Bergmann A, Carius A, Grüttner G, Hickmann S, et al. Fármacos en el medio ambiente - la perspectiva global: incidencia, efectos y acción cooperativa potencial bajo el SAICM [Internet]. Wörlitzer Platz: German Environment Agency; 2014 [citado 22-de octubre de 2019]. 12 p. Recuperado a partir de: https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/378/publikationen/farmacos_en_el_medio_ambiente.pdf
28. Jiménez Cartagena C. Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: productos farmacéuticos. Rev Lasallista Investing 2011;8(2):143-53.
29. Moreno Ortiz VC, Martínez Núñez JM, Kravzov Jinich J, Pérez Hernández LA, Moreno Bonett C,

- Altagracia Martínez M. Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente. *Rev Mex Cienc Farm* 2013;44(4):17-29.
30. Gil MJ, Soto AM, Usma JI, Gutiérrez OD. Emerging contaminants in waters: effects and possible treatments. *Rev P+L* 2012;7(2):52-73.
31. García Salazar B, Hernández Moreno D, Soler Rodríguez F, Pérez López M. Empleo de Ivermectina como parasiticida en ovino: posibles efectos tóxicos y repercusiones ambientales. *An Vet Murcia* 2011;27: 23-32. DOI: <https://doi.org/10.6018/j/160111>
32. Iannacone J, Alvarino L. Evaluación del riesgo acuático de siete productos farmacéuticos sobre *Daphnia magna*. *Ecol Apl* 2009;8(2):71-80. DOI: <https://doi.org/10.21704/rea.v8i1-2.384>
33. Llanos C, Monteza C, Scotto C. Determinación de la concentración letal media (CL₅₀) y eficacia del eugenol como anestésico sobre *Xiphophorus helleri* (Heckel, 1848) (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Rev Investig Vet Perú* 2012; 23(4):429-40.
34. Barros Santiago CP, Gámez Rojas VE. Determinación de la concentración letal media (CL₅₀₋₉₆) del Glifosato Roundup^R 747_{SG}, por medio de bioensayos utilizando alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) [tesis licenciatura]. [Bogotá]: Universidad de la Salle; 2008 [citado 26 de noviembre de 2019]. Recuperado a partir de: http://www.mamacoca.org/docs_de_base/Fumigas/Barrros_y_Gamez_Concentracion_glifosato_UdeLaSalle_dic2008.pdf
35. Espinoza Quintana C, Martínez Huaroc RS. Evaluación de la toxicidad aguda producida por amoxicilina, dexametasona y diclofenaco, en *Lactuca sativa* (lechuga) [tesis licenciatura]. [Tarragona]: Universidad Privada de Huancayo “Franklin Roosevelt”; 2016 [citado 26 de noviembre de 2019]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.uroosevelt.edu.pe/xmlui/handle/ROOSEVELT/29>
36. Ríos Abad I, Padilla Sagástegui SE. Efecto ecotoxicológico de benzodiazepina y para-aminofenol sobre larvas de *Aedes aegypti*. *Sciéndo* 2015;17(2):57-69.
37. Massó González EL, Patrignani P, Tacconelli S, García Rodríguez LA. Variability among non-steroidal antiinflammatory drugs in risk of upper gastrointestinal bleeding Arthritis Rheum 2010; 62(6):1592-601. DOI: <https://doi.org/10.1002/art.27412>
38. Trelle S, Reichenbach S, Wandel S, Hildebrand P, Tschannen B, Villiger PM, et al. Cardiovascular safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs: network meta-analysis. *BMJ*. 2011;342: c7086. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.c7086>
39. Nderitu P, Doos L, Jones PW, Davies SJ, Kadam UT. Non-steroidal Anti-Inflammatory Drugs and Chronic Kidney Disease Progression: A Systematic Review. *Fam Pract* 2013; 30(3):247-55. DOI: <https://doi.org/10.1093/fampra/cms086>
40. Zavaleta Flores JO. Concentración Letal Media (CL₅₀) del cloruro de mercurio (HgCl₂) sobre alevinos de gamitana *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818) en ambientes controlados [tesis licenciatura]. [Iquitos]: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2016 [citado 26 de octubre de 2019]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/3296>

Nota del Editor:
Journal of the Selva Andina Research Society (JSARS) se mantiene neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales publicados en mapas y afiliaciones institucionales.