

Antibióticos como contaminantes emergentes. Riesgo ecotoxicológico y control en aguas residuales y depuradas

I. Martínez-Alcalá^{1,*}, J. Soto², A. Lahora³

- (1) Departamento de Ingeniería Civil, Universidad Católica de Murcia (UCAM), Avenida de los Jerónimos, 135, 30107 Guadalupe, Murcia, España.
(2) Departamento de Ingeniería Informática, Universidad Católica de Murcia (UCAM), Avenida de los Jerónimos, 135, 30107 Guadalupe, Murcia, España.
(3) Entidad de Saneamiento y Depuración de Aguas Residuales de la Región de Murcia (ESAMUR), C. Santiago Navarro, 4, 30100 Espinardo, Murcia, España.

* Autor de correspondencia: I. Martínez-Alcalá [jimmartinezcalca@ucam.edu]

> Recibido el 21 de agosto de 2020 - Aceptado el 27 de noviembre de 2020

Martínez-Alcalá, I., Soto, J., Lahora, A. 2020. Antibióticos como contaminantes emergentes. Riesgo ecotoxicológico y control en aguas residuales y depuradas. *Ecosistemas* 29(3):2070. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2070>

La presencia de contaminantes emergentes en aguas es cada vez mayor. Especialmente preocupan los antibióticos, debido a que pueden dar lugar a la aparición de bacterias resistentes, pero también a que dichos antibióticos pueden afectar negativamente a los ecosistemas y a los organismos que los habitan. Los antibióticos empleados para el consumo humano terminan llegando a las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) donde se ha visto que se eliminan solo en parte. Por este motivo, este estudio trata de determinar qué antibióticos son los que se encuentran en las EDAR y a qué concentraciones, y si una vez descargados sus efluentes en el medio ambiente, pueden provocar algún riesgo ecotoxicológico para los diferentes organismos acuáticos. De 17 antibióticos analizados en los influentes de las EDAR, solo 3 fueron detectados en el 100 % de las muestras analizadas (azitromicina, ciprofloxacina y ofloxacino), de los que, tras el proceso de depuración, solo se detectó la azitromicina en el 100 % de las muestras. El antibiótico que se encontró a una mayor concentración en los influentes estudiados fue la claritromicina (2850 ng L⁻¹), mientras que, tras los diferentes procesos de depuración, en los efluentes, el antibiótico que se encontró a una mayor concentración fue la azitromicina (1110 ng L⁻¹). Al realizar la evaluación del riesgo ecotoxicológico de los efluentes, dos EDAR obtuvieron una valoración del riesgo media para la claritromicina y azitromicina, mientras que para el resto de EDAR, el riesgo resultó insignificante.

Palabras clave: depuración de aguas; EDAR; evaluación de riesgo; fármacos

Martínez-Alcalá, I., Soto, J., Lahora, A. 2020. Antibiotics as emerging pollutants. Ecotoxicological risk and control in wastewater and reclaimed water. *Ecosistemas* 29(3):2070. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2070>

The presence of emerging pollutants in waters is increasing. Antibiotics are of particular concern because they can lead to the emergence of resistant bacteria, but also because these antibiotics can adversely affect the ecosystems and the organisms that inhabit them. The antibiotics used for human consumption end up reaching the wastewater treatment plants (WWTP) where they are only partially eliminated. For this reason, this study tries to determine which antibiotics are found in WWTPs and at what concentrations, and if once their effluents are discharged into the environment, they may cause some ecotoxicological risk for different aquatic organisms. Of 17 antibiotics analysed in the influents of the WWTP, only 3 were detected in 100 % of the samples analysed (azithromycin, ciprofloxacin and ofloxacin), of which, after the purification process, only azithromycin was detected in the 100 % of the samples. The antibiotic that was found in a higher concentration in the influents was clarithromycin (2850 ng L⁻¹), while, after the different purification processes, in the effluents, the antibiotic that was found in a higher concentration was azithromycin (1110 ng L⁻¹). After evaluating the ecotoxicological risk of the effluents, two WWTPs obtained a medium risk assessment for clarithromycin and azithromycin, while for the rest of the WWTP, the risk was negligible.

Key words: water purification; WWTP; risk evaluation; pharmaceuticals

Introducción

Existe una preocupación cada vez mayor sobre los denominados “contaminantes emergentes”, se trata de compuestos de distinta naturaleza y origen, que se encuentran en el agua a diferentes concentraciones y que, en su mayoría, no están regulados (Barceló y López 2008). Hay poca información acerca de los efectos que su presencia puede acarrear tanto para la salud humana como para la de los ecosistemas. Entre dichos contaminantes podemos encontrar: fármacos (como, por ejemplo, los antibióticos), microplásticos, residuos de productos de higiene personal y filtros ultravioleta, entre otros (Rasheed et al. 2019).

Este trabajo se centra en los antibióticos, que son sustancias orgánicas que pueden ser producidas a través del metabolismo secundario de microorganismos o bien sintetizadas artificialmente o semi artificialmente. Desde que Alexander Fleming descubrió la penicilina en el año 1928 han disminuido las muertes producidas por infecciones y desde entonces, el empleo de los antibióticos no ha parado de crecer a nivel mundial, observándose un incremento de hasta en un 65 % entre los años 2000 y 2015 (Klein et al. 2018). Siendo empleados no sólo en el ámbito humano, sino también en otros como la ganadería, la acuicultura y la agricultura (Fig. 1). En humanos los antimicrobianos más consumidos son las penicilinas, macrólidos y fluoroquinolonas. Ocupando España la cuarta posi-



Figura 1. Diagrama de las principales fuentes de entrada de los antibióticos a los ecosistemas.

Figure 1. Diagram of the main antibiotic sources into the ecosystems.

ción en cuanto a su consumo con respecto al resto de Europa, con 327 toneladas consumidas (datos de 2014), siendo unas 3821 toneladas el total consumido por Europa (JIACRA 2017). Afortunadamente los últimos informes indican una disminución del 7.2 % en España entre 2015 y 2018 (PRAN 2018).

En ganadería se estima que el consumo global en 2013 fue de 131 109 toneladas, siendo mayor que el consumo humano (Van Boeckel et al. 2017). Dicho uso, en algunos países, principalmente en países con relativamente bajos ingresos, no ha parado de crecer desde entonces, ya que la demanda de proteínas animales por parte de su población es cada vez mayor. No obstante, para el año 2030 se espera que dicha cifra pueda reducirse hasta 105 596 toneladas (FAO 2020). En Europa los más usados son las tetraciclinas, las penicilinas y sulfonamidas, siendo España el país con mayor consumo en 2014, con un total de 2964 toneladas, mientras que el total consumido por todos los países europeos fue de 8927 toneladas (JIACRA 2017). Afortunadamente, en este sentido también se ha observado una reducción del 32.4 % entre los años 2014 y 2017 en España (PRAN 2018). Además, desde 2019 se ha comenzado a controlar en España las ventas de antibióticos para mascotas por parte de farmacias y minoristas que hasta ahora no se estaban monitorizando (AEMPS 2019). Todas estas medidas implicarán una reducción en su consumo. En la acuicultura no existen estimaciones sobre su consumo ya que en la mayoría de los países no se llegan a registrar, aunque sí se sabe que los antibióticos más ampliamente empleados son florofenicol y oxitetraciclina (Rico et al. 2019). Mientras que en la agricultura se estima que la cantidad de antibióticos utilizados para los cultivos es relativamente baja (0.2 al 0.4 %) en comparación con las cantidades utilizadas en otros sectores como en el de la ganadería (FAO 2020).

Los antibióticos tras ser consumidos son metabolizados solo en parte en el organismo, por lo que en su mayoría son excretados y vertidos al medio ambiente a través de la orina o de las heces. Sin embargo, en la mayoría de los casos los antibióticos consumidos por los humanos van a parar a las aguas residuales. Dichas aguas normalmente se depuran en estaciones depuradoras (EDAR), pero estas no fueron diseñadas para eliminar antibióticos, por lo que estos compuestos en algunos casos no son completamente eliminados y siguen estando presentes en sus efluentes (Szymańska et al. 2019). Este hecho puede llegar a resultar peligroso para el ser humano, los animales y para los ecosistemas. Primero porque se

ha demostrado que una exposición prolongada a agentes antimicrobianos favorece el desarrollo de resistencias en bacterias a los antibióticos más consumidos (JIACRA 2017). Este hecho es uno de los mayores peligros sanitarios a los que parecía que nos enfrentábamos en el siglo XXI antes de la aparición del SARS-CoV-2, donde anualmente morían 700 000 personas en todo el mundo debido a la infección por parte de bacterias resistentes, estimándose que para el año 2050 ese número podría aumentar a 10 millones (WHO 2019). Segundo porque las concentraciones a las que en ocasiones se encuentran los antibióticos en matrices ambientales, como el agua o el suelo, podrían afectar negativamente a los organismos que los habitan. Son numerosos los estudios que muestran alteraciones en las comunidades microbianas, algas, microfitas, macrofitas, zooplancton, mosquitos y peces (Kar y Roy 2012; Larsson 2014; Minguez et al. 2016; Straub 2016; Gonzalez-Pleiter et al. 2017, 2019; Huijbers et al. 2019, Kumar et al. 2019; Kovalakova et al. 2020).

Por todas las complicaciones anteriormente descritas asociadas al consumo abusivo de antibióticos, se ha observado que es vital reducir al máximo su consumo a nivel global, así como también expandir la vigilancia sistemática a todas las partes del planeta, desde un enfoque integrador de todos los sectores en los que se consumen antibióticos. Evaluando las complejas interconexiones entre la salud y el bienestar de los animales, las personas, las plantas y sus ecosistemas (OHC 2019). Pero, aunque esta vigilancia se ha estado realizando desde hace más de dos décadas en algunos países para humanos y animales, la inclusión del medio ambiente en estos esfuerzos es bastante más escasa (Huijbers et al. 2019). Una manera de poder evaluar la toxicidad potencial de los antibióticos en los ecosistemas es mediante el cálculo de su riesgo ecotoxicológico. A través de estos cálculos, se estima si las concentraciones de los antibióticos que encontramos en las diferentes matrices ambientales pueden resultar tóxicas para los ecosistemas, facilitando la prevención y manejo de estos compuestos (Kar y Roy 2012; Straub 2016; Rico et al. 2019).

Este trabajo pretende obtener un mayor conocimiento sobre la cantidad de agentes antimicrobianos que encontramos en las aguas del sureste español y las posibles consecuencias asociadas a dicha presencia. Para ello, se han realizado diversos análisis sobre la presencia de antibióticos en influentes y efluentes de aguas residuales que llegan a las EDAR. Se ha tratado de estable-

cer alguna correlación entre diferentes tratamientos convencionales que se producen en las diferentes EDAR estudiadas con respecto a la mayor o menor eliminación de antibióticos. Tras lo cual, se han realizado análisis de los riesgos ecotoxicológicos que tendrían las concentraciones encontradas en los efluentes de las EDAR y en las aguas superficiales analizadas.

Material y métodos

Para la realización de este estudio sobre la presencia y posibles riesgos de la presencia de antibióticos en las aguas residuales de la Región de Murcia, se seleccionaron 11 EDAR (Fig. 2) con tratamientos de depuración con fangos activos en las que algunas contaban con aireación prolongada (EDAR 1-5), en las que el agua residual es tratada en un reactor biológico con un cultivo bacteriano en suspensión; otras con una doble etapa (EDAR 6-8), en las que se dispone de un tratamiento biológico doble para disminuir la carga de orgánica; otra con un tratamiento A2O modificado (EDAR 9), diseñado para la eliminación de materia orgánica, nitrógeno y fósforo; y otras con biorreactor de membrana (EDAR 10-11), los cuales combinan el tratamiento biológico del agua por fangos activos con un proceso de separación sólido-líquido mediante una membrana física. Las principales características de cada una de las EDAR analizadas, pueden encontrarse en la siguiente tabla (Tabla 1).

La Entidad de Saneamiento y Depuración de Aguas Residuales de la Región de Murcia (ESAMUR), llevó a cabo, varias campañas analíticas (desde enero de 2011 hasta junio de 2017), en esas 11 EDARs (Tabla 1), en las cuales se tomaron como mínimo 3 muestras compuestas en sus influentes y otras tres en sus efluentes. Recogidos los influentes y efluentes en la misma fecha. En dichas muestras se analizaron antibióticos de diferentes grupos terapéuticos como los macrólidos, quinolonas, sulfonamidas y tetraciclinas (Tabla 2). Todos ellos actúan como agentes bacteriostáticos y/o bactericidas contra un numeroso grupo de bacterias.

Los resultados de los análisis de las muestras recolectadas fueron suministrados por ESAMUR. La metodología empleada para los análisis explicada brevemente fue la siguiente: Las muestras fueron recogidas y conservadas a 4°C hasta que fueron procesadas en el laboratorio (antes de que transcurrieran 24 h desde su recogida). En el laboratorio se les añadió una cantidad conocida de patrones internos para mantener la trazabilidad de los análisis y se filtraron antes de proceder a su análisis. Se realizó una extracción en fase sólida (SPE) de los antibióticos objeto de estudio. Para ello se usó un sistema de preconcentración "on line" junto con diferen-



Figura 2. Mapa de localización de las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR) analizadas.

Figure 2. Location map of the analysed Wastewater Treatment Plants (WWTPs).

tes disolventes. Una vez obtenidas las muestras limpias y concentradas, se analizaron empleando cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas. En los casos donde las concentraciones han sido inferiores a los límites de detección del equipo empleado, se ha usado como valor dicho límite de detección. De esta manera se está garantizando que se han medido las máximas concentraciones que se podrían esperar en las muestras, avalando el principio de precaución en cuanto a la posible contaminación de las aguas y su riesgo ecotoxicológico.

Los cálculos de los porcentajes de eliminación de los antibióticos se realizaron asumiendo las concentraciones detectadas en el agua de entrada de las EDAR como el 100 % de la concentración, y a ese porcentaje se les restaría el equivalente a las concentra-

Tabla 1. Datos sobre las fechas de los muestreos, la población servida y equivalente, caudal, tipo de tratamiento, uso principal del agua producida y cauce receptor de las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR), (fuente: ESAMUR).

Table 1. Data on the sampling dates, served and equivalent population, flow, type of treatment, main use of produced water and receiving channel of the Wastewater Treatment Plants (WWTPs), (source: ESAMUR).

EDAR	Fecha de muestreos	Población servida	Población equivalente	Caudal (m ³ /a)	Tipo de tratamiento	Uso del agua	Cauce receptor
EDAR 1	2016	19 265	17 293	1 042 844	Aireación Prolongada	Riego	Rambla de las Salinas
EDAR 2	2013	24 646	26 401	1 536 681	Aireación Prolongada	Riego	Río Argos
EDAR 3	2015	15 496	17 210	672 031	Aireación Prolongada	Riego	Río Mula
EDAR 4	2015	19 996	53 597	1 602 051	Aireación Prolongada	Dominio Público	Río Segura
EDAR 5	2013	31 876	43 586	1 648 354	Aireación Prolongada	Riego	Paraje Lidonero
EDAR 6	2015	41 447	62 342	2 588 649	Doble Etapa	Riego	Río Guadalentín
EDAR 7	2015; 2016	72 120	110 625	3 394 317	Doble Etapa	Riego	-
EDAR 8	2011; 2015; 2017	68 296	218 823	6 093 740	Doble Etapa	Riego	Rambla Salar Gordo
EDAR 9	2015; 2016; 2017	375 775	553 451	36 952 999	A2O Modificado	Dominio Público	Río Segura
EDAR 10	2013	9505	26 938	659 778	Biorreactor de Membranas	Dominio Público	Río Argos
EDAR 11	2015	25 173	21 806	2 693 086	Biorreactor de Membranas	Dominio Público	Mar Mediterráneo

Tabla 2. Antibióticos analizados en las aguas de las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR) junto con su número de registro CAS (Chemical Abstracts Service). Además, se indican los valores de CE_{50} para peces y daphnias y LC_{50} de algas, empleados en el análisis de riesgo ecotoxicológico (obtenidos de la aplicación ECOSAR 2.0).

Table 2. Antibiotics analysed in the waters of the Wastewater Treatment Plants (WWTPs), with their CAS registration number (Chemical Abstracts Service). In addition, EC_{50} values for fish and daphnia and LC_{50} for algae used in the ecotoxicological risk analysis (obtained from the ECOSAR 2.0 application) are indicated.

Familia	Antibiótico	Número CAS	Peces LC_{50} (mg/L)	Daphnias LC_{50} (mg/L)	Algas EC_{50} (mg/L)
Macrolidos	Azitromicina	83905-01-5	18.8	3.02	1.87
	Claritromicina	81103-11-9	4.99	3.31	1.4
	Eritromicina	114-07-8	15.2	8.62	3.45
	Roxitromicina	80214-83-1	40.8	6.72	4.66
Quinolonas	Ácido nalidíxico	389-08-2	4420	3290	1800
	Ácido oxolínico	14698-29-4	4470	2.92	1810
	Ciprofloxacina	85721-33-1	13 100	1240	1620
	Enrofloxacina	93106-60-6	4920	505	561
	Flumequina	42835-25-6	784	420	284
	Norfloxacinó	70458-96-7	20 100	1830	2570
	Ofloxacinó	82419-36-1	19 400	1790	2440
	Pefloxacinó	70458-92-3	15 200	1420	1900
Sulfonamidas-Diaminopirimidina	Sulfametoxazol	723-46-6	267	6.43	21.8
	Sulfatiazol	72-14-0	190	5.66	18.4
	Trimetoprima	738-70-5	212	6.38	20.7
Tetraciclinas	Tetraciclina	60-54-8	78.5	5.30	3.30
	Doxiciclina	564-25-0	80.4	5.38	3.37

ciones detectadas en la salida de las EDAR. Se analizó la dependencia lineal entre los valores promedio de eliminación para cada antibiótico en los diferentes tipos de EDAR estudiadas, con el objetivo de buscar posibles correlaciones entre los tipos de EDAR. Para ello, se contrastaron dichas correlaciones mediante pruebas paramétricas y no paramétricas. Se tuvo en cuenta una correlación significativa a nivel de 0.05, bilateral, incluyendo un nivel de 0.01, bilateral, en caso de que lo permitiese. El programa empleado fue el SPSS Statistic V. 21 (IBM 2020).

Para realizar la evaluación del riesgo ecotoxicológico que pueda provocar la presencia de estos antibióticos en los efluentes de las EDAR (toxicidad aguda), primero se calculó la concentración límite a la que no se espera observar ningún efecto negativo sobre diferentes organismos acuáticos (PNEC- *Predicted No-Effect Concentration*):

$$PNEC = \frac{LC_{50} \text{ o } EC_{50}}{FA}$$

Donde la concentración letal 50 (LC_{50}) es la concentración de una sustancia en el agua que causa la muerte en el 50 % de la población analizada (vamos a emplear las concentraciones registradas para peces y daphnias). La concentración efectiva media 50 (CE_{50}) es la cantidad de una sustancia que se espera que produzca un cierto efecto en el 50 % de los organismos (en este caso se emplearán las algas verdes) de una población dada, bajo un conjunto específico de condiciones ambientales. Ambos valores son un indicador de la toxicidad de un compuesto para el medio ambiente y son extraídos de la aplicación *Ecological Structure Activity Relationship 2.0* (ECOSAR 2020) (Tabla 2). Esta aplicación usa datos obtenidos en estudios estandarizados sobre diversas especies acuáticas representativas de 3 niveles tróficos (peces, invertebrados acuáticos y plantas acuáticas). Para los datos de peces de agua dulce, las especies incluyen con frecuencia pez luna azul (*Le-*

promis macrochirus), carpa común (*Cyprinus carpio*), pececillo de cabeza gorda (*Pimephales promelas*), guppy (*Poecilia reticulata*), trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), killis rojo (*Oryzias latipes*), o pez cebra (*Brachydanio rerio*). Para los invertebrados de agua dulce, las especies con frecuencia incluyen *Daphnia magna* o *Daphnia pulex*. Mientras que, para las algas de agua dulce, las especies con frecuencia incluyen *Desmodesmus subspicatus* o *Pseudokirchneriella subcapitata*.

Los factores de análisis (FA) se utilizan para abordar las diferencias entre los datos de laboratorio y las condiciones naturales, teniendo en cuenta las diferencias entre los individuos de una misma especie y también las diferencias entre especies. En este caso tomamos el máximo valor que se emplea en este tipo de estudios (1000). Este es el valor más conservador que se puede tomar siguiendo el principio de precaución del que se hablaba anteriormente.

Una vez que contamos con el valor del PNEC se procede a realizar el cálculo del factor de riesgo ecotoxicológico (RQ). Con él que se valora si la concentración máxima de los diferentes antibióticos (MEC- *Maximum Environmental Concentrations*) que encontramos en los efluentes de las EDAR podrían llegar a resultar peligrosas para los diferentes grupos tróficos analizados (peces, daphnias y algas):

$$RQ = \frac{MEC}{PNEC}$$

El riesgo ecotoxicológico se evaluó de acuerdo con la clasificación empleada por Mendoza et al. (2015), donde para valores de RQ entre 0.1 y 1, no existe riesgo ambiental o es insignificante; valores de RQ entre 1 y 10 se puede esperar un riesgo moderado, mientras que valores de RQ superiores a 10 indican un alto riesgo ecológico.

Resultados y discusión

Análisis de los antibióticos en las EDAR

Como se ha descrito con anterioridad, las EDAR suponen una excelente fuente de información en cuanto al estado de salud de la población. Por medio del análisis de sus aguas, se pueden obtener datos por ejemplo del consumo real de antibióticos, ya que reflejan dicha información de forma fiable cuando los datos de ventas son difíciles de obtener (Coutu et al. 2013). A los influentes de las EDAR llegan la mayoría de antibióticos que tomamos, ya que muchos de ellos son metabolizados solo parcialmente por lo que son excretados de forma biliar o renal como el compuesto principal.

Con el objetivo de estudiar con mayor detalle la presencia de los antibióticos en los influentes y efluentes de las EDAR, se realizó un cálculo de la frecuencia de detección de los antibióticos en las mismas (Tabla 3). De todos los compuestos analizados en este estudio, los que fueron encontrados con mayor frecuencia en los influentes fueron el macrólido azitromicina y las quinolonas ciprofloxacina y ofloxacino, que se detectaron en todas las muestras. Cuando se analizaron los efluentes, se observó que el antibiótico que se encontró con mayor frecuencia fue otra vez la azitromicina (100 %). Mientras que esta vez, los antibióticos ciprofloxacina y eritromicina ocupaban el segundo y tercer puesto.

Las concentraciones de las diferentes familias de antibióticos obtenidas tanto en los influentes como en los efluentes de las EDAR se muestran en la figura 3. Como puede observarse, existe cierta dispersión en los datos obtenidos. Este es un comportamiento bastante normal para este tipo de contaminantes y que puede ser debido a las diferentes épocas del año en las que se han realizado las campañas de muestreo, así como los hábitos de consumo de anti-

bióticos en las poblaciones donde se encuentran localizadas las EDAR. Para algunos de los antibióticos, principalmente para los macrólidos (Fig. 3a), hay varios valores atípicos que son bastante superiores al resto. En el caso de los influentes, estos valores pertenecen a las EDAR 1 y 7, en los que se observa que llegan concentraciones muy altas de azitromicina y claritromicina. No obstante, los valores de claritromicina de la EDAR 1 son inferiores a los encontrados en otros influentes, donde se han llegado a encontrar concentraciones de hasta 7515 ng L⁻¹ (Faleye et al. 2019). Para la quinolona norfloxacino (Fig. 3b), encontramos valores atípicos en la EDAR 2.

Al calcular las medianas de las concentraciones obtenidas para cada uno de los antibióticos (Tabla 3), se puede observar que, en los influentes, las mayores concentraciones medias se obtuvieron para los macrólidos, claritromicina y azitromicina (3052 y 2310 ng L⁻¹, respectivamente). Seguidos por ofloxacino de la familia de las quinolonas (1833 ng L⁻¹). Estos datos concuerdan con los que se encuentran en la bibliografía (Szymańska et al. 2019) para otras zonas de Europa, donde se han obtenido valores (mediana) de azitromicina de 1480 ng L⁻¹ y de claritromicina de 953 ng L⁻¹. En el caso de norfloxacino encontramos valores similares en un estudio realizado por Faleye et al. (2019), donde obtuvo unas concentraciones de 33.8 a 130 ng L⁻¹.

Tras los diversos tratamientos que se realizan en las EDAR (AP, DE, A2O, MBR), se obtienen los efluentes que, en el caso de la Región de Murcia, como en el caso de muchas otras regiones mediterráneas con gran escasez de agua, pueden ser vertidos a un cauce receptor para mantener su nivel ecológico como es el caso del río Segura o pueden ser también aprovechados para su reutilización en el riego de los cultivos. En ambos casos se requieren efluentes de una gran calidad, por lo que se realiza un gran es-

Tabla 3. Frecuencias de detección (%) y mediana de las concentraciones (ng L⁻¹) de los antibióticos estudiados en los efluentes e influentes y su eliminación (%) en las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR).

Table 3. Detection frequencies (%) and studied antibiotics median concentrations (ng L⁻¹) in the effluents and influents and their elimination (%) in the Wastewater Treatment Plants (WWTPs).

Familia	Antibiótico	Influente		Efluente		Eliminación
		Detec.	Mediana	Detec.	Mediana	
Macrólidos	Azitromicina	100	1340	100	725	52.8
	Claritromicina	64.3	275	28.6	30.0	83.6
	Eritromicina	47.1	20.0	66.7	20.0	44.1
	Roxitromicina	n.d.	-	n.d.	-	-
Quinolonas	Ácido nalidíxico	n.d.	-	n.d.	-	-
	Ácido oxolínico	n.d.	-	n.d.	-	-
	Ciprofloxacina	100	390	69.2	200	63.6
	Enrofloxacin	n.d.	-	n.d.	-	-
	Flumequina	n.d.	-	n.d.	-	-
	Norfloxacino	41.7	45.0	16.7	30.0	51.4
	Ofloxacino	100	2100	50.0	205	83.5
Pefloxacino	n.d.	-	n.d.	-	-	
Sulfonamidas- Diaminopirimidina	Sulfametoxazol	75.0	170	64.3	115	35.8
	Sulfatiazol	n.d.	-	n.d.	-	-
	Trimetoprima	77.8	30.0	50.0	10.0	-4.21
Tetraciclinas	Tetraciclina	22.2	190	n.d.	-	-
	Doxiciclina	n.d.	-	n.d.	-	-

n.d.: no detectado

n.d.: no detected

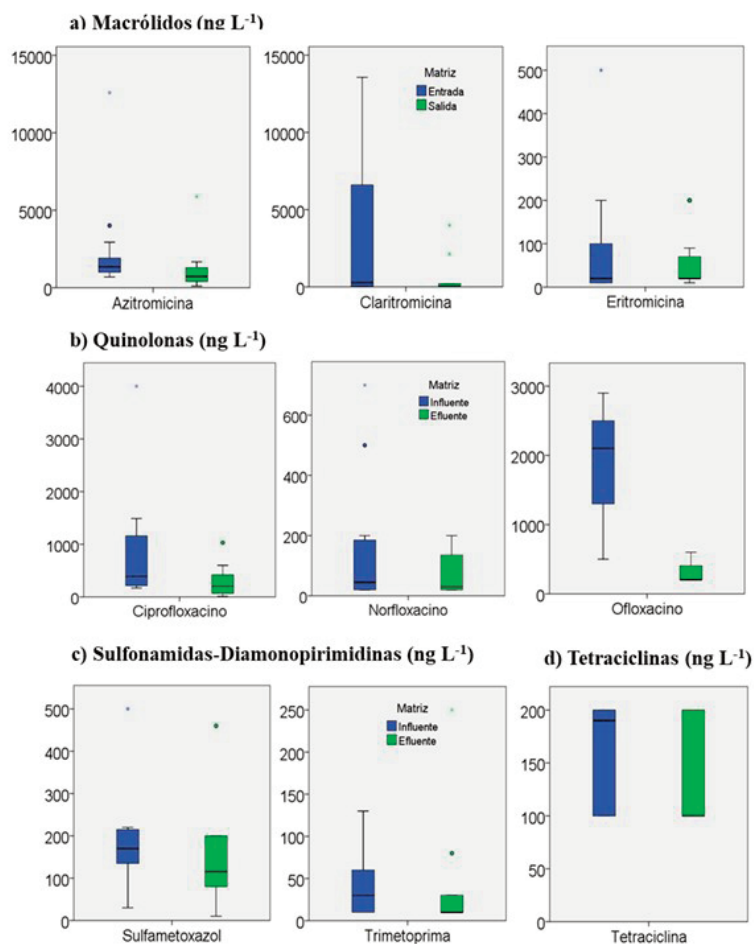


Figura 3. Diagrama de cajas de las concentraciones de los antibióticos agrupados por: a) Macrólidos, b) Quinolonas, c) Sulfonamidas-Diaminopirimidinas, d) Tetraciclinas en los influentes y efluentes de las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR). Las cajas representan el 50 % central de los valores, las líneas negras más gruesas en el interior de las cajas representan la mediana, las rallas verticales reflejan los valores máximo y mínimo, y los asteriscos indican valores atípicos.

Figure 3. Box plot of antibiotics concentrations grouped by: a) Macrolides, b) Quinolones, c) Sulfamides, d) Tetracyclines in influents and effluents of Wastewater Treatment Plants (WWTPs). The boxes represent the middle 50% of the values, the thickest black lines inside the boxes represent the median, the vertical stripes reflect the maximum and minimum values, and the asterisks indicate outliers.

fuerzo por parte de las EDAR para conseguirlo. En las muestras de aguas recogidas en los efluentes de las EDAR, también observamos valores atípicos para los macrólidos (Fig. 3a) azitromicina en la EDAR 9 y para claritromicina en la EDAR 1. No obstante, al calcular las medianas (Tabla 3), se puede comprobar como estos datos también concuerdan con los que se encuentran en la bibliografía (Szymańska et al. 2019) para otras zonas de Europa, donde se han obtenido valores (mediana) de azitromicina de 930 ng L⁻¹ y de claritromicina de 400 ng L⁻¹.

Una vez liberado el antibiótico a las masas de agua, factores como sus propiedades fisicoquímicas, su concentración, su interacción con otro tipo de contaminantes, la actividad y comunidad microbiana presentes, la exposición a la luz solar, el pH, la temperatura y el grado de oxigenación entre otros factores, pueden influir en su mayor o menor degradación. A nivel general, se ha observado que antibióticos como las penicilinas se degradan más fácilmente, mientras que fluoroquinolonas, macrólidos y tetraciclinas no se degradan tanto y persisten largo tiempo en el medio ambiente (Grenni et al. 2018). Por este motivo, parece que este tipo de antibióticos son más fáciles de encontrar en las diferentes masas de agua, e incluso en aguas superficiales. Por ejemplo, en algunos lagos de China (Li et al. 2019), se pueden encontrar concentraciones de antibióticos como eritromicina, sulfametoxazol, ofloxacino y roxitromicina de hasta 1139, 657, 106 y 23.5 ng L⁻¹, respectivamente. Esas cantidades, aunque son del mismo orden de magnitud que los efluentes de las EDAR de la Región, son bastante altas, ya que hay que tener en cuenta que se trata de aguas superficiales. Es por ello por lo que,

la Unión Europea incluyó algunos antibióticos como eritromicina, claritromicina y azitromicina en una lista de compuestos para su observación en las aguas en el año 2015 (Decisión de Ejecución (UE) 2015/495 de la Comisión (Europa 2015), actualmente derogada). Mientras que otros como amoxicilina y ciprofloxacino fueron incorporados posteriormente en la lista de observación (Decisión de Ejecución (UE) 2018/840 de la Comisión (Europa 2018), también derogada) y se mantienen en la lista de observación más reciente (Decisión de ejecución (UE) 2020/1161 de la Comisión (Europa 2020)), que ha añadido además sulfametoxazol y trimetoprima.

En este trabajo, además, se analizaron los tipos de EDAR en función de su tratamiento principal (AP, DE, A2O modificado o MBR) con el objetivo de discernir si algún tratamiento presentaba más ventajas que otro a la hora de conseguir eliminar en mayor medida los antibióticos que se encontraban en sus aguas. Sin embargo, no se pudo constatar ninguna diferencia significativa en cuanto a las concentraciones obtenidas en los efluentes. El orden de mayor a menor eliminación de antibióticos en función del sistema de tratamiento empleado fue el siguiente: DE>AP>MBR>A2O modificado. Mientras que, si observamos la eliminación de las familias de antibióticos, se obtuvo una mayor eliminación para las quinolonas>macrólidos>sulfonamidas>tetraciclinas. Analizando los antibióticos por separado, las mayores tasas de eliminación que se produjeron dentro de las EDAR fueron para claritromicina, ofloxacino y ciprofloxacino (83.6, 83.5 y 63.6 %, respectivamente). El antibiótico azitromicina, se eliminó en un 52.8 %, indicando que no se degrada fácilmente dentro de las EDAR.

Análisis del riesgo ecotoxicológico en los efluentes de las EDAR

La evaluación del riesgo ecotoxicológico indica y evalúa el grado de peligrosidad que pueda estar asociado con la presencia de determinadas sustancias o combinaciones de sustancias y/o al desarrollo de una determinada actividad que puedan estar influyendo negativamente sobre el medio ambiente. Al realizar los cálculos del riesgo ecotoxicológico que podrían producir los antibióticos encontrados en los efluentes, se observó que, de todos los antibióticos presentes en las aguas de los efluentes (Fig. 4), azitromicina y claritromicina fueron los únicos que indicaban un riesgo moderado ($1 < RQ < 10$) para los grupos tróficos empleados en la evaluación y lo hacían únicamente para 2 de las 11 EDAR analizadas. Como puede observarse en la figura, los mayores riesgos se producen para las algas verdes, seguidas de las daphnias. En el caso de los peces, se puede observar que son menos susceptibles a la presencia de estos compuestos en las aguas, ya que solo indicaban un riesgo bajo para ambos antibióticos.

En el caso de la azitromicina se obtuvo un riesgo bajo para algas y daphnias en otras 6 EDAR, mientras que para claritromicina se observó un riesgo bajo para las algas en otras 3 EDAR. Estos estudios indican la posibilidad de alcanzar puntualmente concentraciones en los efluentes que supongan un riesgo ecológico moderado y/o bajo para esos dos antibióticos, por lo que se deberían de realizar más estudios para evaluar de forma más precisa qué puede estar ocurriendo en esos efluentes. En el caso del riesgo ecotoxicológico producido por azitromicina, el efluente es vertido al dominio público (EDAR 9). Mientras que, en el producido por claritromicina, los efluentes se utilizan para riego agrícola (EDAR 1). Por tanto, parece que es en la EDAR 9 donde se deberían realizar los mayores esfuerzos para tratar de disminuir las concentraciones de esos dos antibióticos. Principalmente es necesario tratar de disminuir el empleo de estos dos antibióticos en la Región de Murcia, o al menos en las zonas donde se ha detectado que implican un mayor riesgo para el medio ambiente, ya que se observa que tienen un comportamiento bastante recalcitrante y son difíciles de eliminar en las EDAR. Para el resto de los antibióticos analizados no se ha observado ningún riesgo ecotoxicológico (Fig. 4).

A la hora de priorizar las medidas a tomar contra el empleo de unos antibióticos u otros, se deben de observar las diferencias entre las muestras y las regiones analizadas, ya que se observa un gran contraste entre las mismas. Por ejemplo, en un estudio sobre riesgo ecotoxicológico realizado en efluentes de EDAR de diferentes países de la EU (Rodríguez-Mozaz et al. 2020). Se observó que antibióticos como cefalexina, azitromicina y ciprofloxacina podían representar ocasionalmente riesgos moderados para el medio ambiente, especialmente en Portugal, España, Chipre y Alemania. Mientras que en zonas como China, donde se han medido concentraciones altas de algunos antibióticos en aguas superficiales, autores como Zhang et al. (2013), han observado como antibióticos como sulfametoxazol, eritromicina y claritromicina estaban presentes en la mayoría de las muestras recogidas en aguas costeras de China, presentando un riesgo ecotoxicológico medio o bajo. Sin embargo, para Wang et al. (2017) fueron antibióticos como tetraciclina, oxitetraciclina, sulfadiazina y ciprofloxacina los que presentaron riesgos medio altos para algas en un lago de China. En un estudio más actual realizado por Bu et al. (2020) en aguas superficiales chinas, se observó que los antibióticos macrólidos, eritromicina, azitromicina y claritromicina fueron identificados como los más prioritarios, ya que sus valores de riesgo ecotoxicológico fueron mayores de 10 (15.8-25.7). Mientras que otros como trimetoprima roxitromicina fueron considerados como que tenían un riesgo moderado y las tetraciclinas (oxitetraciclina y tetraciclina) con riesgo bajo. Por tanto, parece necesario realizar más analíticas de modo que en cada zona se conozca mejor qué compuestos son los que pueden estar alterando los ecosistemas.

Conclusiones

En este trabajo se ha pretendido hacer un estudio preliminar sobre la presencia de antibióticos en las EDAR del sureste de España. Se ha observado que, de todos los antibióticos que han sido analizados, solo algunos de ellos estaban presentes tanto en los influentes como en los efluentes. Siendo, claritromicina, azitromicina y ofloxacino los que se encontraban en mayores concentraciones en los influentes analizados. Mientras que, en los efluentes, los que se encontraron en mayores concentraciones fueron azitromicina, claritromicina y ciprofloxacina.

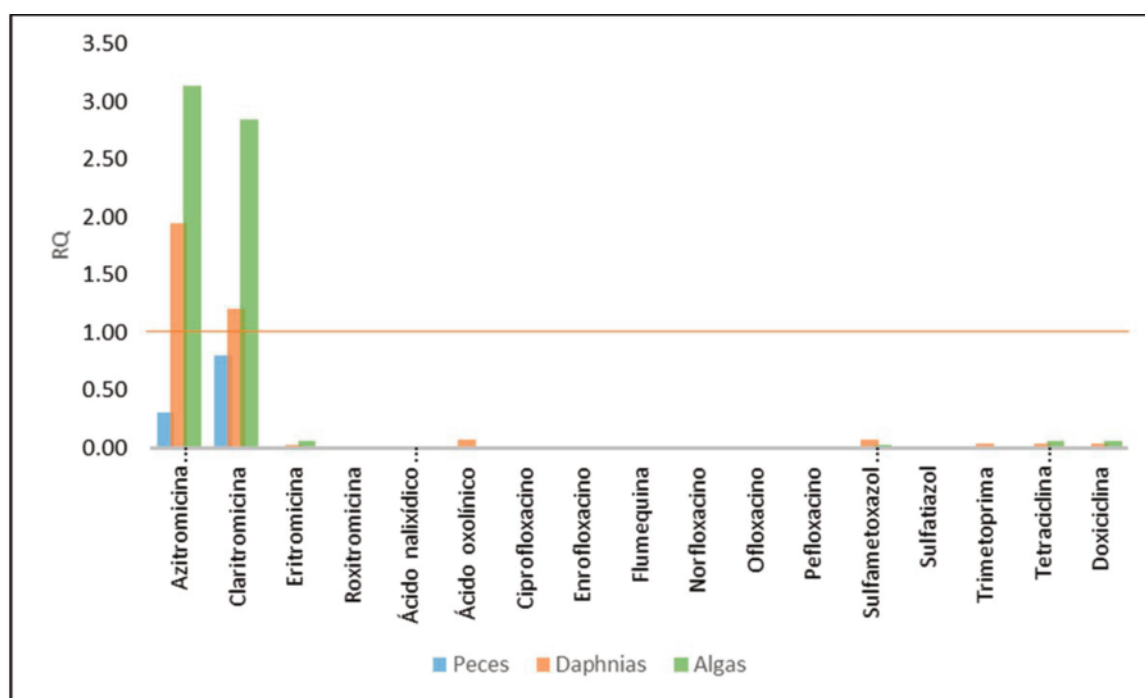


Figura 4. Análisis del riesgo ecotoxicológico de los antibióticos objeto de estudio en los efluentes de las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR). La línea naranja establece el umbral a partir del cual se considera que los antibióticos pueden producir riesgo ecotoxicológico.

Figure 4. Analysis of the antibiotics ecotoxicological risk in the Wastewater Treatment Plants (WWTPs) effluents. The orange line establishes the threshold from which it is considered that antibiotics can produce ecotoxicological risk.

Con las analíticas disponibles no se pudo establecer si alguno de los tratamientos que se realizaban dentro de las EDAR podían eliminar de forma más efectiva este tipo de contaminantes. Son muchos los factores operacionales que afectan a esa mayor o menor eliminación, por lo que sería primordial realizar un mayor número de analíticas.

En cuanto a la existencia de un riesgo ecotoxicológico, se observa que, en dos de los efluentes analizados, existe un riesgo moderado para los organismos testados, principalmente algas y daphnias, debido a los antibióticos claritromicina y azitromicina. Uno de esos efluentes es vertido en el río Segura, por lo que sería prioritario realizar un mayor esfuerzo para atajar esta contaminación. Aunque en los últimos años por parte de la Administración se está tratando de limitar el empleo de los antibióticos, aún es necesario ejercer un mayor control sobre el mismo, de modo que se trate de reducir la presión ejercida sobre el medio acuático y los organismos que habitan en él.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer la ayuda prestada por la estudiante Inmaculada Rico en la introducción del manuscrito. Trabajos desarrollados dentro del Contrato de Investigación y Desarrollo entre ESAMUR y la Universidad Católica San Antonio.

Referencias

- AEMPS 2019. Comienza la recogida de datos de ventas de medicamentos veterinarios de 2018 para el proyecto ESVAC-ES. [Nota informativa]. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Madrid, España. Disponible en: https://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/industria/2019/docs/NI-MVET_1-2019-proyecto-ESVAC-ES.pdf?x45096
- Barceló, D., López, M.J. 2008. Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. En: *Jornadas de presentación de resultados: el estado ecológico de las masas de agua. Panel científico-técnico de seguimiento de la política de aguas*, Sevilla, España. Disponible en: https://fnca.eu/phocadownload/P.CIENTIFICO/inf_contaminacion.pdf
- Bu, Q., Cao, Y., Yu, G., He, X., Zhang, H., Sun, J., et al. 2020. Identifying targets of potential concern by a screening level ecological risk assessment of human use pharmaceuticals in China. *Chemosphere* 246:125818.
- Coutu, S., Rossi, L., Barry, D.A., Rudaz, S., Vernaz, N. 2013. Temporal variability of antibiotics fluxes in wastewater and contribution from hospitals. *PLoS One* 8(1):e53592.
- ECOSAR 2020. Ecological Structure Activity Relationships (ECOSAR) Predictive Model V2.0. [Software]. United States Environmental Protection Agency. Washington, DC, Estados Unidos. [Usado 20 mayo 2020]. Disponible en: <https://www.epa.gov/tsc-screening-tools/ecological-structure-activity-relationships-ecosar-predictive-model>
- Europa 2015. Decisión de Ejecución (UE) 2015/495 de la Comisión, de 20 de marzo, por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas, de conformidad con la Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo. [Decisión derogada]. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. C(2015) 1756, de 24 de abril de 2015, L 78/40.
- Europa 2018. Decisión de Ejecución (UE) 2018/840 de la Comisión, de 5 de junio, por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas, de conformidad con la Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo. [Decisión derogada]. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. C(2018) 3362, de 7 de junio de 2018, L 141/9.
- Europa 2020. Decisión de ejecución (UE) 2020/1161 de la Comisión, de 4 de agosto, por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas, de conformidad con la Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. C(2020) 5205, de 6 de agosto de 2020, L 257/32.
- Faleye, A.C., Adegoke, A.A., Ramluckan, K., Fick, J., Bux, F., Stenström, T.A. 2019. Concentration and reduction of antibiotic residues in selected wastewater treatment plants and receiving waterbodies in Durban, South Africa. *Science of The Total Environment* 678:10-20.
- FAO 2020. *Antimicrobial Resistance*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. [Consultado abril de 2020]. Disponible en: <http://www.fao.org/antimicrobial-resistance/background/what-is-it/en/>
- González-Pleiter, M., Cirés, S., Hurtado-Gallego, J., Leganés, F., Fernández-Piñas, F., Velázquez, D. 2019. Ecotoxicological assessment of antibiotics in freshwater using cyanobacteria. En: Mishra, A.K., Tiwari, D.N., Rai, A.N. (eds.), *Cyanobacteria*, pp. 399-417. Academic Press, India.
- González-Pleiter, M., Leganés, F., Fernández-Piñas, F. 2017. Intracellular free Ca²⁺ signals antibiotic exposure in cyanobacteria. *RSC advances* 7(56): 35385-35393.
- Grenni, P., Ancona, V., Caracciolo, A.B. 2018. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. *Microchemical Journal* 136:25-39.
- Huijbers, P.M., Flach, C.F., Larsson, D.J. 2019. A conceptual framework for the environmental surveillance of antibiotics and antibiotic resistance. *Environment international* 130: 104880.
- IBM 2020. *SPSS Statistic V21*. [software]. IBM Corporation Armonk. Nueva York, Estados Unidos. [Usado 20 mayo 2020]Disponible en: <https://www.ibm.com/support/pages/spss-statistics-210-available-download>
- JACRA 2017. ECDC/EFSA/EMA second joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals—Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis (JIACRA) Report. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), European Food Safety Authority (EFSA) y European Medicines Agency (EMA). *EFSA Journal* 15(7):4872, 135 pp.
- Kar, S., Roy, K. 2012. Risk assessment for ecotoxicity of pharmaceuticals—an emerging issue. *Expert opinion on drug safety* 11(2):235-274.
- Klein, E.Y., Van, B., Elena, T.P., Martínez, E.M., Pant, S., Gandra, S., et al. 2018. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115(15):E3463–E3470.
- Kovalakova, P., Cizmas, L., McDonald, T.J., Marsalek, B., Feng, M., Sharma, V.K. 2020. Occurrence and toxicity of antibiotics in the aquatic environment: A review. *Chemosphere* 126351.
- Kumar, M., Jaiswal, S., Sodhi, K.K., Shree, P., Singh, D.K., Agrawal, P.K., Shukla, P. 2019. Antibiotics bioremediation: Perspectives on its ecotoxicity and resistance. *Environment international* 124:448-461.
- Larsson, D.J. 2014. Antibiotics in the environment. *Upsala journal of medical sciences* 119(2):108-112.
- Li, L., Liu, D., Zhang, Q., Song, K., Zhou, X., Tang, Z., Zhou, X. 2019. Occurrence and ecological risk assessment of selected antibiotics in the freshwater lakes along the middle and lower reaches of Yangtze River Basin. *Journal of environmental management* 249:109396.
- Mendoza, A., Aceña, J., Pérez, S., De Alda, M.L., Barceló, D., Gil, A., Valcárcel, Y. 2015. Pharmaceuticals and iodinated contrast media in a hospital wastewater: a case study to analyse their presence and characterise their environmental risk and hazard. *Environmental Research* 140:225-241.
- Minguez, L., Pedelucq, J., Farcy, E., Ballandonne, C., Budzinski, H., Halm-Lemeille, M.P. 2016. Toxicities of 48 pharmaceuticals and their freshwater and marine environmental assessment in northwestern France. *Environmental Science and Pollution Research* 23(6):4992-5001.
- OHC 2019. *What is one health?*. [Consultado abril de 2020]. One Health Commission. Carolina del Norte, Estados Unidos. Disponible en: https://www.onehealthcommission.org/en/why_one_health/what_is_one_health/
- PRAN 2018. *Plan nacional frente a la resistencia a los antibióticos 2019-2021*. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Madrid, España. Disponible en: www.resistenciaantibioticos.es/es/system/files/field/files/pran_2019-2021_0.pdf?file=1&type=node&id=497&force=0
- Rasheed, T., Bilal, M., Nabeel, F., Adeel, M., Iqbal, H.M. 2019. Environmentally-related contaminants of high concern: potential sources and analytical modalities for detection, quantification, and treatment. *Environment international* 122:52-66.
- Rico, A., Vighi, M., Van den Brink, P.J., ter Horst, M., Macken, A., Lillicrap, A., et al. 2019. Use of models for the environmental risk assessment of veterinary medicines in European aquaculture: current situation and future perspectives. *Reviews in Aquaculture* 11(4):969-988.
- Rodríguez-Mozaz, S., Vaz-Moreira, I., Della Giustina, S.V., Llorca, M., Barceló, D., Schubert, S., et al. 2020. Antibiotic residues in final effluents of European wastewater treatment plants and their impact on the aquatic environment. *Environment International* 140:105733.

- Straub, J.O. 2016. Aquatic environmental risk assessment for human use of the old antibiotic sulfamethoxazole in Europe. *Environmental toxicology and chemistry* 35(4):767-779.
- Szymańska, U., Wierowski, M., Sołtyszewski, I., Kuzemko, J., Wierowska, G., Woźniak, M.K. 2019. Presence of antibiotics in the aquatic environment in Europe and their analytical monitoring: recent trends and perspectives. *Microchemical Journal* 147:729-740
- Van Boeckel, T.P., Glennon, E.E., Chen, D., Gilbert, M., Robinson, T.P., Grenfell, B.T., et al. 2017. Reducing antimicrobial use in food animals. *Science* 357(6358):1350-1352.
- Wang, Z., Du, Y., Yang, C., Liu, X., Zhang, J., Li, E., et al. 2017. Occurrence and ecological hazard assessment of selected antibiotics in the surface waters in and around Lake Honghu, China. *Science of The Total Environment* 609:1423-1432.
- WHO 2019. *No podemos esperar: Asegurar el futuro Contra las infecciones Farmacorresistentes*. Informe para el secretario general de las naciones unidas. Interagency Coordination Group on Antimicrobial Resistance. World-Health-Organisation. Disponible en: www.who.int/antimicrobial-resistance/interagency-coordination-group/IACG_final_report_ES.pdf?ua=1
- Zhang, R., Tang, J., Li, J., Zheng, Q., Liu, D., Chen, Y., et al. 2013. Antibiotics in the offshore waters of the Bohai Sea and the Yellow Sea in China: occurrence, distribution and ecological risks. *Environmental Pollution* 174:71-77