



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**Revisión de los Contaminantes Emergentes de la
Segunda Lista de Observación de la UE**

Autor: Anna Marizzi del Olmo

Fecha: 30.06.2020

Tutor: Concepción González Huecas

Índice

1. Resumen y palabras clave	3
2. Introducción	3
3. Objetivos	5
4. Material y métodos	5
5. Resultados y discusión	5
5.1. Estrógenos: 17-alfa-etinilestradiol (EE2), 17-beta-estradiol (E2) y estrona (E1)	5
5.2. Antibióticos: macrólidos, amoxicilina y ciprofloxacino	8
5.3. Pesticidas	12
Neonicotinoides: imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam, clotianidina y azetamiprid	13
Metiocarb y Metaflumizona	15
6. Conclusiones	16
7. Bibliografía	17

1. Resumen y palabras clave

La introducción constante de contaminantes emergentes a las aguas superficiales disminuye la calidad del agua y preocupa por los posibles efectos adversos de estas sustancias sobre el medio ambiente y el ser humano. Con la segunda lista de observación publicada en la Decisión 2018/840/CE, la UE da un paso adelante en la regulación de estos compuestos. El objetivo de este trabajo es obtener una visión global de los contaminantes emergentes incluidos en dicha Decisión. Para ello se ha realizado una revisión bibliográfica. La liberación de esteroides a las aguas superficiales es alta y una vez en el medio ambiente se comportan como disruptores endocrinos comprometiendo la función y el comportamiento reproductivo de muchos organismos acuáticos. Los antibióticos eritromicina, claritromicina y azitromicina, amoxicilina y ciprofloxacino se usan en medicina veterinaria y humana y en el medio ambiente su comportamiento depende de sus propiedades fisicoquímicas. Modifican la diversidad de las comunidades bacterianas y promueven la resistencia a antibióticos en el medio ambiente. Los pesticidas neonicotinoides son muy móviles por el sistema acuático y aparte de su detección en las aguas superficiales, también se han encontrado en determinados alimentos. Los mamíferos no están exentos de efectos adversos y las abejas son los organismos no diana más afectados. La información sobre metaflumizona y metiocarb es escasa. Se concluye que la repercusión de los contaminantes emergentes incluidos en esta lista es indiscutible. Aun así destaca la falta de conocimiento respecto a los metaflumizona y metiocarb.

Palabras clave: segunda lista de observación, UE, contaminantes emergentes, esteroides, antibióticos, pesticidas.

2. Introducción

“El agua no es un bien comercial como los demás, sino un patrimonio que hay que proteger, defender y tratar como tal” (Directiva 2000/60/CE marco de aguas). En la Unión Europea (UE) se demanda un agua limpia y segura, por lo que alcanzar un buen estado químico de las aguas superficiales europeas es un tema prioritario. Sin embargo, en las últimas décadas la detección de sustancias químicas de origen antropogénico o natural a concentraciones traza en el agua superficial, subterránea y de bebida ha aumentado la preocupación de la comunidad científica (Barbosa et al., 2016) y cuestionado el concepto de calidad del agua. Sustancias químicas que carecen de regulación y que cumplen uno de los siguientes requisitos son consideradas contaminantes emergentes (CE): i) compuestos de introducción reciente al medio ambiente, ii) compuestos cuya presencia en el medio ambiente era conocida, pero no sus efectos negativos para el ser humano/medio ambiente y iii) compuestos que por los avances de las técnicas analíticas solo han podido ser detectados recientemente en el medio acuático (Sousa et al., 2018).

La presencia de CE en las aguas superficiales es alarmante por los siguientes motivos. En primer lugar, el agua es un recurso natural de vital importancia para todos los organismos, que además posibilita el desempeño de muchas actividades humanas. Debido a que este recurso tan valioso se está viendo comprometido por la crisis mundial del agua, mantener su calidad resulta aún más importante (Sousa et., 2018). Además, se desconocen los posibles efectos negativos de los CE sobre la salud humana y los ecosistemas y se teme

que puedan producir un desequilibrio ecológico (Elizalde-Velázquez et al., 2016). Por último, una vez en el agua superficial estas sustancias se pueden diseminar posteriormente a los sedimentos, el suelo, las aguas subterráneas y el medio marino, ya que existe una interconexión entre los distintos medios (Taheran et al., 2018).

Dentro de los CE se encuentran compuestos indispensables en la sociedad del siglo XXI como: productos de cuidado personal, fármacos, pesticidas y surfactantes (Taheran et al., 2018) y además, de uso cotidiano en la industria, ambientes urbanos, hospitales así como en la ganadería, agricultura y acuicultura (Sousa et al., 2018). A través de las aguas residuales industriales, efluentes urbanos y de hospitales, aguas de escorrentía procedentes de la ganadería, la agricultura o la acuicultura y, por último, lixiviados de vertederos, los CE se introducen en las aguas superficiales, subterráneas, el medio marino y el suelo. También pueden ser detectados en el agua de consumo (Barbosa et al., 2016). Las estaciones depuradoras de agua residual (EDAR) convencionales son una de las entradas más importantes de CE al medio acuático (Sousa et al., 2018). Resultan útiles a la hora de eliminar materia orgánica antes de devolver el agua al medio ambiente, en cambio, no han sido diseñadas para eliminar sustancias no biodegradables como los CE. La heterogeneidad de la estructura y las propiedades fisicoquímicas de los CE son otro obstáculo que dificulta una eliminación eficiente en las EDAR (Barbosa et al., 2016).

Una vez en las aguas superficiales, los CE se detectan normalmente en concentraciones de entre ng/L y mcg/L, lo que puede dar a pensar a que por tratarse de concentraciones bajas no constituyen un problema. No obstante, debido a su introducción constante e incontrolada al medio ambiente, estos compuestos son “pseudo-persistentes”; pueden inducir toxicidad crónica (Taheran et al., 2018) y en consecuencia sí que suponen un riesgo tanto para la salud de organismos individuales (sobre todo los acuáticos) como para la salud de los ecosistemas en su totalidad y la del ser humano (Sousa et al., 2018).

La incapacidad de eliminar los CE y prevenir su liberación al medio ambiente indica que nuestro sistema de tratamiento de aguas es lineal, es decir, una vez agotada la vida útil del agua, se devuelve al medio ambiente sin considerar los posibles efectos secundarios de los CE. Sin embargo, un uso responsable y sostenible de este recurso requiere la implementación de un sistema del agua circular/cerrado. Para conseguir este propósito es importante la identificación de tecnologías adicionales eficientes para eliminar y controlar con éxito los CE de las aguas residuales en EDAR. Otra herramienta fundamental es crear una legislación en torno a los CE (Taheran et al., 2018).

En la UE los contaminantes químicos en las aguas superficiales se regulan mediante las Directivas 2000/60/CE, 2008/105/CE y 2013/39/CE. De esta manera se ha conseguido crear una lista de sustancias prioritarias (SP) y normas de calidad ambiental (NCA) para la UE con la finalidad de proteger a los compartimentos acuáticos y la salud humana. Los SP son (entre los contaminantes encontrados en el agua) sustancias de “riesgo significativo” para el medio acuático con NCA establecidas y que además tienen que ser monitorizadas por los estados miembros en las aguas superficiales. Si las SP exceden a los NCA, el estado químico de las aguas europeas no es bueno. Recientemente, en 2015, la UE publicó a través de la Decisión 2015/495/CE una primera lista de observación de 10 sustancias/grupos de sustancias que más adelante quedó derogada por la Decisión 2018/840/CE. Las sustancias

publicadas en estas dos listas son tóxicas y de riesgo significativo para el medio acuático, pero a diferencia con las SP no están reguladas y los datos de seguimiento son insuficientes, por lo que el riesgo real se desconoce y no se han establecido NCA.

La segunda lista de observación de 2018 incluye a los siguientes CE, que deben ser monitorizados en los países de la UE para recolectar datos para su posible inclusión en la lista de SP:

- 3 estrógenos: 17-alfa-etinilestradiol (EE2), 17-beta-estradiol (E2) y estrona (E1),
- 3 grupos de antibióticos (ATB): amoxicilina, ciprofloxacino y antibióticos macrólidos (eritromicina, claritromicina, azitromicina)
- 3 familias de pesticidas: 5 neonicotinoides (imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam, clotianidina y azetamiprid), metaflumizona y metiocarb.

3. Objetivos

Para obtener una visión completa sobre los compuestos/grupos de compuestos de la segunda lista de observación incluidos en la Decisión 2018/840/CE de la UE, en este trabajo se pretende:

1. aportar información sobre las características, aparición y comportamiento de cada CE en el medio ambiente, así como
2. hacer hincapié en el impacto en el medio ambiente y las mejores técnicas para eliminar el CE en cuestión.

4. Material y métodos

La elaboración de este trabajo bibliográfico se ha basado en la búsqueda y estudio de artículos científicos y documentos electrónicos, así como de material bibliográfico de apoyo relacionado con el tema aquí tratado. Se ha recurrido a bases de datos tales como Science Direct, BUcea, Scopus y Google Scholar. La búsqueda incluyó publicaciones mundiales a partir de 2015, considerando el nombre del contaminante emergente o grupo de contaminantes en cuestión y al menos una de las siguientes palabras clave: toxicidad, medio ambiente, aguas superficiales, contaminación emergente, degradación o eliminación. Además, se ha recogido información de diferentes libros y artículos de revista validados y publicados. También, se ha consultado documentación de las siguientes páginas web relacionadas con el tema elegido: la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Agencia Europea de Medio Ambiente (AEMA) y la plataforma EUR-Lex.

5. Resultados y discusión

5.1. Estrógenos: 17-alfa-etinilestradiol (EE2), 17-beta-estradiol (E2) y estrona (E1)

Caracterización del compuesto

17-alfa-etinilestradiol (EE2), 17-beta-estradiol (E2) y estrona (E1) son tres hormonas esteroideas femeninas con alta actividad biológica (Barbosa et al., 2016). Además de tratarse

de moléculas hidrófobas y ácidos débiles (Adeel et al., 2017), comparten el mismo mecanismo de acción; se unen al receptor de estrógenos alfa y beta localizado en el núcleo. Los estrógenos son importantes para el correcto desarrollo del sistema reproductivo y la programación del comportamiento en la edad adulta, así como para la determinación del sexo en peces, anfibios y reptiles (Bhandari et al., 2015).

E2 se encarga de regular el ciclo menstrual y del crecimiento de órganos (Yu et al., 2019) y es junto a E1 un estrógeno natural sintetizado por el cuerpo humano (Adeel et al., 2017). En cambio, EE2 es de origen sintético producido a partir de la hormona natural estradiol (Almeida et al., 2020), que se emplea sobre todo como anticonceptivo (Adeel et al., 2017). En comparación con E1 y E2, EE2 es la más vendida a nivel mundial, tiene mayor potencia estrogénica (Bhandari et al., 2015) y la menor solubilidad (Adeel et al., 2017).

Comportamiento en el medio ambiente

La descarga al medio ambiente de estos 3 estrógenos es muy alta. La mayor fuente de contaminación de los esteroides naturales es la industria ganadera; la liberación de estrógenos por el ganado es de 83 000 kg/año. Los estrógenos se emplean para promover el crecimiento del ganado, que los elimina sobre todo a través de las heces y la orina. Después de un posible tratamiento se utilizan para fertilizar los campos. Tanto el agua residual como el estiércol que produce esta industria muestran concentraciones de mg/L de E1 y E2 (Adeel et al., 2017). Otra fuente importante de los tres estrógenos, pero sobre todo de EE2, es el agua y el lodo de las depuradas municipales, ya que durante la depuración no se consigue la eliminación total de estos CE (Kabir et al., 2015). Se estima que la liberación de EE2 al medio ambiente por su uso como anticonceptivo es de 700 kg/año (Adeel et al., 2017).

Las tres hormonas se han detectado sobre todo cerca de efluentes de EDAR, en el agua subterránea y las aguas superficiales a concentraciones de ng/L (Barbosa et al., 2016). EE2 también está presente en el medio marino en el mismo rango de concentración (Almeida et al., 2020). E1 es el estrógeno natural más abundante y ubicuo en aguas (Yu et al., 2019).

Debido a su naturaleza hidrófoba y su alto coeficiente Kow es posible que una parte de estos CE sean adsorbidos a sólidos en suspensión y por tanto atenuados de manera natural (Yu et al., 2019). Además, las hormonas naturales E1 y E2 se degradan rápidamente: tienen una vida media corta sobre todo bajo condiciones aeróbicas y en el medio acuático E2 y EE2 pueden sufrir fotocatalisis y fotólisis (Adeel et al., 2017). Sin embargo, EE2 destaca por su alta estabilidad química, por lo que en términos generales su vida media es mayor que la de los estrógenos naturales y se convierte en un CE persistente en el medio ambiente (Almeida et al., 2020).

Los 3 estrógenos también pueden ser biodegradados y transformados por bacterias: EE2 solamente puede ser convertido a E1 (Adeel et al., 2017), mientras que los estrógenos naturales comparten rutas de transformación, pueden ser conjugados con grupos sulfato o glucurónido para formar moléculas inactivas incapaces de unirse al receptor de estrógenos o ser mineralizados (Yu et al., 2019). Asimismo se ha demostrado que los bivalvos son capaces de esterificar E2 y EE2 produciendo una molécula más estable (Almeida et al., 2020).

Por su alta lipofilia EE2 se puede bioacumular en muchos organismos (Almeida et al., 2020). Se ha detectado tanto en el músculo como en el plasma de peces expuestos a agua depurada municipal (Kabir et al., 2015). Además, junto con E2 se acumula en organismos bivalvos de laboratorio y salvajes en concentraciones de ng/L. Los bivalvos absorben y retienen estos CE de manera rápida; aun no estando presentes en el agua que les rodea, estos CE se detectan en bivalvos (Almeida et al., 2020). No se ha encontrado bibliografía respecto a la bioacumulación de E1.

Impacto en el medio ambiente

Desde un punto de vista toxicológico los esteroides forman parte de los disruptores endocrinos: son sustancias químicas que interfieren en el normal funcionamiento del sistema endocrino actuando como antagonistas, imitando a o interrumpiendo la síntesis de la hormona natural o de su receptor. Por tanto, los disruptores endocrinos pueden crear desequilibrios en: el mantenimiento de la homeostasis, la reproducción, el desarrollo y en el comportamiento (Kabir et al., 2015).

Para medir los efectos disruptores que pueden provocar los estrógenos en los organismos se pueden establecer: parámetros fisiológicos o de comportamiento al igual que parámetros moleculares y epigenéticos. Los receptores de estrógenos ER-alfa y ER-beta son los únicos receptores esteroideos que se han conservado en vertebrados e invertebrados. La unión de ligandos a estos receptores activa señalizaciones no genómicas y la transcripción a través de rutas de señalización genómica. Este mecanismo común en vertebrados e invertebrados explica la capacidad disruptora de estos compuestos sobre estas dos clases animales (Cuvillier-Hot y Lenoir, 2020).

En el ser humano, EE2 se ha correlacionado con un mayor riesgo de padecer cáncer de mama y de cérvix (Bhandari et al., 2015), mientras que sus efectos sobre el comportamiento, función y desarrollo reproductivo en otros organismos están más estudiados.

En especies vertebradas acuáticas se ve alterada sobre todo la función y el comportamiento reproductivo (Almeida et al., 2020). En peces macho, EE2 es responsable de la feminización de estos tras exposición crónica y altera tanto el material genético como el sistema inmune (Barbosa et al., 2016). En anfibios, EE2 induce (a concentraciones muy bajas de ng/L) en la fase larval de varias especies de ranas a la feminización o bien a la reversión del sexo. El desequilibrio del ratio sexual inclinado al sexo femenino es grave, ya que puede contribuir a una disminución significativa de algunas especies de anfibios. No obstante, puede servir como bioindicador para medir la exposición de los anfibios a este disruptor endocrino. En anfibios, EE2 y E2 alteran al comportamiento sexual; en presencia de la hormona estradiol (E2) las ranas femeninas aumentan su atención sexual hacia los machos. En reptiles, la temperatura a la que se encuentran los huevos durante un tiempo específico determina el sexo del embrión. La exposición de huevos de aligátores a EE2 durante este periodo produce más embriones femeninos que masculinos. También se han observado efectos parecidos en tortugas expuestas a E2 (Bhandari et al., 2015).

En invertebrados acuáticos, EE2 puede modificar el ratio sexual, demorar la madurez sexual y fomentar la intersexualidad (Cuvillier-Hot y Lenoir, 2020). Se han observado

cambios en el metabolismo energético y en su función reproductiva en bivalvos (Almeida et al., 2020).

En cuanto a la expresión génica, microarrays demuestran que bajo influencia de EE2 aumenta la transcripción de genes específicos femeninos en hembras y machos, mientras que al mismo tiempo disminuye la de los genes específicos para el sexo masculino (Bhandari et al., 2015). Es el caso de la vitelogenina, hormona precursora principal de la proteína de la yema del huevo, cuya expresión aumenta tanto en vertebrados (pájaros, tortugas, ranas y peces) como en invertebrados (bivalvos) tras exposición a EE2 (Almeida et al., 2020). Por ello, esta hormona se considera un biomarcador para la exposición de organismos frente a disruptores endocrinos estrogénicos (Bhandari et al., 2015). También hay estudios que han demostrado que se producen modificaciones a nivel epigenético en presencia de EE2, pero no con E2 (Bhandari et al., 2015).

La PNEC (concentración prevista sin efecto) de EE2 en organismos acuáticos es de 0,1-0,5 ng/L (Almeida et al., 2020). Esta concentración tan baja se debe seguramente a la alta potencia y persistencia de este estrógeno. En el medio ambiente se han detectado concentraciones superiores de EE2 a esta PNEC, de manera que podrá causar toxicidad crónica fácilmente (Adeel et al., 2017). En cambio, E1 y E2 son estrógenos menos potentes; tienen que estar presentes a concentraciones más altas para causar un efecto negativo en los organismos acuáticos y parece ser que no afectan tanto a los organismos acuáticos como EE2 (Yu et al., 2019).

Eliminación del medio ambiente

En las EDAR convencionales hoy día solo se eliminan entre el 5 y 10% de los estrógenos (Bhandari et al., 2015) mediante la absorción a lodos y la biodegradación por microorganismos aerobios (Yu et al., 2019). Por ello, se necesitan tratamientos adicionales para poder eliminar estos CE por completo. Los tratamientos biológicos acoplados a procesos de membrana son efectivos para eliminar estrógenos (Barbosa et al., 2016); mediante el tratamiento con lodo activado se puede eliminar hasta un 90% los estrógenos presentes inicialmente (Bhandari et al., 2015). Los estrógenos naturales también pueden ser eliminados a través de la cloración, ozonación o luz UV (Yu et al., 2019) o mediante humedales artificiales con una tasa de eliminación del 100%.

La fitoremediación constituye otra posible vía de eliminación, pero al tratarse de un proceso más lento no se utiliza mucho. Se ha demostrado que dos especies de plantas de humedales *Scirpus validus* y *Populus deltoides nigra* pueden absorber los estrógenos a través de las raíces. La planta acumula el estrógeno en su vacuola y reduce así la concentración de estos CE en el suelo. Las algas también son importantes en la eliminación de los estrógenos del medio acuático (Adeel et al., 2017).

5.2. Antibióticos: macrólidos, amoxicilina y ciprofloxacino

Entre los años 2000 y 2015 el consumo de antibióticos en el mundo aumentó un 39%, aunque bien es cierto que en los últimos años a través de la concienciación sobre el problema de las resistencias a antibióticos los países de la UE han disminuido su consumo o este no ha aumentado (Kovalakova et al., 2020).

Estos compuestos con actividad biológica son capaces de matar (bacteriolíticos) o inhibir el crecimiento (bacteriostáticos) de microorganismos (Kovalakova et al., 2020) y desde su

descubrimiento la esperanza de vida ha aumentado significativamente al disminuir el número de muertes por infecciones bacterianas (Kumar et al., 2019).

Caracterización del compuesto

Los 3 grupos se utilizan tanto en medicina humana como veterinaria (Schafhauser et al., 2018; Elizalde-Velázquez et al., 2016; Janecko et al., 2016). Eritromicina, claritromicina y azitromicina son macrólidos de amplio espectro. En la medicina humana se prescriben sobre todo para tratar infecciones del tracto respiratorio alto y bajo e infecciones del tejido blando. El mecanismo de acción reside en la capacidad de estos compuesto de unirse a la subunidad 50S del ribosoma bacteriano para así bloquear la síntesis de proteínas (Schafhauser et al., 2018).

La amoxicilina pertenece a las penicilinas, grupo de ATB más prescrito tanto en Europa como en EE.UU. (Kovalakova et al, 2020). Es un antibiótico beta-lactámico semisintético de primera línea y de amplio espectro. Inhibe a la enzima PBP (necesaria para la síntesis de la pared bacteriana) provocando lisis celular. Aparte de su uso en la medicina, también se emplea para promover el crecimiento de animales (Elizalde-Velázquez et al., 2016).

El ciprofloxacino es una fluoroquinolona de amplio espectro. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de dos enzimas (DNA-girasa y DNA topoisomerasa IV), que son necesarias para la correcta replicación y transcripción del DNA. Estas enzimas cortan el DNA para reducir la tensión que sufre la doble hélice durante estos procesos y evitan así la ruptura de las cadenas. Ciprofloxacino bloquea este proceso, por lo que la replicación no tiene lugar y la célula muere (Janecko et al., 2016).

Comportamiento en el medio ambiente

Puesto que estos 3 grupos de ATB son usados tanto en medicina humana como veterinaria, las dos rutas mayoritarias de entrada son: el agua tratada por las EDAR de las áreas urbanas y en el ambiente rural las excreciones del ganado vacuno, ya que los ATB son eliminados en su forma original o tras sufrir un proceso de metabolización por el organismo a través de la orina y las heces (García et al., 2020). La mayor parte de la amoxicilina y el 5 % de la eritromicina se excreta en su forma original por la orina y las heces (Elizalde-Velázquez et al., 2016; Schafhauser et al., 2018).

En la UE se ha detectado la presencia de los eritromicina, azitromicina y claritromicina en España, Portugal, Eslovaquia e Italia en aguas residuales, aguas superficiales y subterráneas en el rango de ng/L, aunque también se puede encontrar en mcg/L en aguas residuales y subterráneas (Barbosa et al., 2016). La concentración de eritromicina también se ha estudiado en la UE en sedimentos, suelo y lodos de depurada y usados en enmiendas (Schafhauser et al., 2018). En el agua la eritromicina tiene una movilidad baja, se adsorbe a los sedimentos y sólidos en suspensión (Kovalakova et al, 2020) y su vida media es de 30 días. Los macrólidos pueden ser degradados por bacterias y por procesos fotoquímicos (Välitalo et al., 2017).

La amoxicilina se ha medido en efluentes urbanos, de hospitales y de EDAR en concentraciones de ng/L, siendo la concentración más alta en los efluentes de hospitales y urbanos al no haber sido tratados (Elizalde-Velázquez et al., 2016). Otra fuente importante

de la amoxicilina es el agua residual de las plantas de producción de este ATB pudiendo ser su concentración de mg/L (Meng et al., 2017). Aun siendo uno de los ATB más usados a nivel mundial, en comparación con otros antibióticos el conjunto de datos encontrados sobre su concentración y distribución en el medio ambiente es escasa (Kovalakova et al, 2020). La vida media en agua de amoxicilina es de 3 días (Välitalo et al., 2017), lo que se debe a su rápida degradación tanto por factores bióticos como abióticos. Al poseer un anillo beta-lactámico inestable, la molécula se rompe fácilmente por hidrólisis (Elizalde-Velázquez et al., 2016), proceso que se ve acelerado por la luz solar, el calor, pH extremos y solventes. Por tanto, la amoxicilina es un CE poco persistente (Kovalakova et al, 2020). Es más: se ha descrito una ruta de degradación completa para la amoxicilina en el medio acuoso por hidrólisis (Elizalde-Velázquez et al., 2016).

También se suele encontrar en los efluentes europeos al ciprofloxacino; se ha determinado a concentraciones de ng/L tanto en las aguas superficiales como en las aguas subterráneas (Kovalakova et al, 2020). La persistencia de ciprofloxacino en el medio ambiente es muy alta y destaca frente a la del resto de antibióticos (Kumar et al., 2019); su vida media en el agua es de 100 días. Esto se puede explicar gracias a las propiedades del compuesto: no se rompe por hidrólisis y dado que es un compuesto hidrófilo su movilidad por el sistema acuático es alta. También se puede unir a matrices sólidas como el suelo, sedimentos, masa fecal, lodos y enmiendas, por lo que una parte no estará disponible y su degradación se prolongará en el tiempo. Se crean reservorios de este CE en el medio ambiente capaces de ceder poco a poco cantidades de ciprofloxacino. Por otro lado, este ATB es muy sensible a la luz; sufre fotodegradación sobre todo en las capas más superficiales del agua con mayor contacto con la luz solar (Janecko et al., 2016).

Se ha demostrado que la eritromicina se acumula en concentraciones de mcg/kg tanto en moluscos como en camarones y en el músculo de peces (Schafhauser et al., 2018) y que la claritromicina se acumula en camarones (Yan et al., 2019). La amoxicilina se ha encontrado en el músculo de peces, que al ser consumidos por el ser humano puede provocar reacciones alérgicas a la amoxicilina o inducir la aparición de cepas resistentes a antibióticos (Elizalde-Velázquez et al., 2016). No se ha encontrado bibliografía relativa a la bioacumulación de ciprofloxacino.

Impacto en el medio ambiente

Una vez en el medio acuático los ATB pueden interaccionar con bacterias y organismos no diana como productores primarios y organismos descomponedores presentes a su alrededor. Al encontrarse en concentraciones de ng/L- mcg/L, no suelen inducir toxicidad aguda, pero si toxicidad crónica en los organismos acuáticos. Dado que esta exposición se extiende durante todo su ciclo vital puede afectar al comportamiento, al crecimiento y a la reproducción del organismo (Kovalakova et al., 2020).

En cuanto a la afectación de las bacterias, según Grenni et al. (2018) se distingue entre efectos directos e indirectos. Se clasifica como directo cualquier efecto causado por concentraciones de ATB mayores a la concentración mínima inhibitoria (CMI). En cambio, los efectos indirectos se producen a concentraciones menores a la CMI.

Tanto la amoxicilina como el ciprofloxacino tienen efectos directos sobre la comunidad bacteriana. Varios estudios han demostrado que la fluoroquinolona puede reducir la diversidad microbiana a concentraciones de mg/kg en el suelo y en el sedimento marino (mg/L). También puede inhibir parcialmente la desnitrificación en el suelo y favorecer el crecimiento de bacterias sulfato-reductoras en el sedimento marino, así como disminuir la actividad respiratoria de las comunidades bacterianas en humedales. Respecto a la amoxicilina se ha observado que en suelos tratados con estiércol con concentraciones de amoxicilina entre 10 y 100 mg/kg se producía un cambio en la composición bacteriana del mismo, ya que había modificaciones en las bandas DGGE que se utilizan para secuenciar el 16sRNA de las bacterias (Grenni et al 2018). Los efectos directos a largo plazo pueden alterar los sistemas acuáticos y los ciclos biogeoquímicos (Kovalakova et al., 2020) facilitando las floraciones de algas y ambientes anóxicos (Janecko et al., 2016).

Los efectos indirectos, que surgen cuando los ATB se encuentran a concentraciones subinhibitorias, pueden modificar la ecología microbiana, promover la aparición de resistencias y la biodegradación farmacéutica, por lo que son efectos propios de los tres grupos de antibióticos (Meng et al., 2017).

La selección de bacterias resistentes a antibióticos (ARB) que contienen genes de resistencia a antibióticos (ARG) es uno de los efectos más destacados y preocupantes de los antibióticos a nivel subinhibitorio en el medio ambiente (García et al., 2020). La resistencia de las bacterias a antibióticos ha aumentado en los últimos años y se debe al uso desproporcionado de estos fármacos. Esta resistencia puede tener efectos muy negativos para la salud tanto humana como animal, ya que limita el potencial curativo de los ATB (Kumar et al., 2019). Tanto las ARB como los ARG han sido clasificados por la OMS como una de las mayores preocupaciones de salud pública de este siglo.

Las EDAR son la principal fuente de creación de ARG y ARB, ya que el uso de lodo activado para tratar el agua residual contiene microorganismos, cuya exposición a concentraciones bajas de mezclas complejas de ATB es crónica. Esto provoca que los microorganismos estén expuestos a una presión de selección constante; se crea un microambiente ideal para la creación de ARB (García et al., 2020), que son capaces de sobrevivir bajo el estrés provocado por los ATB. Más adelante, las aguas residuales tratadas son vertidas a los ríos, en los que se ha demostrado que la presencia de ARB y ARG es mayor aguas abajo que aguas arriba. Debido a que a través de la transferencia horizontal de ARG se pueden crear nuevas ARB que a su vez transfieren los ARG verticalmente, la diseminación de ARG en el medio ambiente también se considera hoy día como un tipo de contaminación emergente (Sabri et al., 2020).

Los ATB también han demostrado tener efectos adversos sobre organismos que no son bacterias como algas, peces y zooplancton (Kumar et al., 2019). Tanto azitromicina como claritromicina alteran la frecuencia cardíaca en embriones del pez cebra. Esto puede deberse a que los macrólidos alargan el intervalo QT del corazón (Yan et al., 2019). Además, los macrólidos resultan tóxicos para *Daphnia* y sobre todo para algas verdes a concentraciones muy bajas, ya que inhiben muchos procesos relacionados con la fotosíntesis (Välitalo et al., 2017).

En cambio, la amoxicilina no afecta a las algas verdes; la concentración que se considera tóxica es mucho más alta que la que hasta ahora se ha medido en el medio acuático. Sin embargo, es junto a ciprofloxacino de los ATB más tóxicos para cianobacterias, ya que sus respectivas EC50 están en el bajo rango de mg/L (Välitalo et al., 2017). En

presencia de amoxicilina se ha descrito estrés oxidativo en cianobacterias (aumentan las enzimas oxidativas) (Elizalde-Velázquez et al., 2016).

Las fluoroquinolonas suelen ser más tóxicas para procariotas que para eucariotas (Kumar et al., 2019). Se ha demostrado que el ciprofloxacino inhibe el crecimiento de algas y que disminuye la concentración de clorofila. En la alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* induce estrés oxidativo, ya que se observó que a concentraciones entre 0,5 y 2,5 mg/L aumentan de manera significativa enzimas antioxidantes como peroxidasa lipídica, catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa (Janecko et al., 2016).

Eliminación del medio ambiente

La biodegradación de los macrólidos en EDAR es incompleta (Terzic et al., 2018): solo se consigue eliminar el 5% de la eritromicina (Kovalakova et al., 2020). El tratamiento biológico acoplado a osmosis inversa o a un biorreactor con membrana consigue eliminar más del 99% de los macrólidos (Barbosa et al., 2016). También se alcanzan buenas tasas de eliminación mediante el tratamiento de eritromicina, claritromicina y azitromicina con lodo activado enriquecido, aunque es importante investigar sobre la toxicidad de los productos de biotransformación (Terzic et al., 2018). Azitromicina se elimina por completo en humedales artificiales (Gorito et al., 2017).

Amoxicilina se puede eliminar con ratios mayores a 80% con la tecnología de oxidación avanzada Fenton y por oxidación fotocatalítica (100% de eliminación). Mediante ozonación se puede eliminar la amoxicilina de manera eficiente al igual que la eritromicina, claritromicina y el ciprofloxacino (Wang y Zhuan, 2020).

Para el ciprofloxacino un posible mecanismo para evitar su entrada al medio ambiente es someterlo a fotólisis, ya que las fluoroquinolonas son muy fotosensibles: Baena-Nogeras et al. (2017) demostraron que después de 24 h sometido a la luz, más del 98% del ciprofloxacino inicial desaparecía y el tiempo medio era de 227 min. Este antibiótico también se puede biodegradar por la alfa-proteobacteria *Labrys portucalensis* F11 (Grenni et al., 2018).

5.3. Pesticidas

Los pesticidas se usan para controlar organismos indeseados o que causan daño tanto en el campo como en la ciudad (Buszewski et al., 2019). Pueden ser sustancias naturales o sintéticas y hay varias maneras de clasificarlos, por ejemplo: según su clase química, su mecanismo de acción, su toxicidad, su organismo diana (insecticidas, herbicidas, fungicidas o biocidas) (Kim et al., 2017), su uso mayoritario o según su manera de aplicación (de contacto o sistémico) (Buszewski et al., 2019).

Estos compuestos se emplean deliberadamente en el medio ambiente para matar mediante su toxicidad a grupos particulares de organismos (maleza, hongos, insectos y roedores). Sin embargo, como se distribuyen por el medio ambiente, también pueden afectar a organismos no previstos, contaminar el medio acuático, el suelo y el aire así como bioacumularse/bioconcentrarse. El ser humano también puede estar expuesto a los pesticidas (Kim et al., 2017). Es importante que los pesticidas sean por un lado efectivos sobre los organismos diana y por otro lado seguros para los organismos que no lo son y que viven en el mismo ambiente en el que se emplean estas sustancias (Buszewski et al., 2019).

Neonicotinoides: imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam, clotianidina y azetamiprid

Caracterización del compuesto

Los neonicotinoides imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam, clotianidina y azetamiprid se usan para combatir a insectos del suelo e insectos chupadores que pueden atacar a los cultivos, por lo que se les clasifica como insecticidas (Buszewski et al., 2019). También tiene aplicación en veterinaria (Matsuda et al., 2020) y en piscifactorías (Abreu-Villaça y Levin, 2017)

Son agonistas del receptor nicotínico (nAChR), puesto que su estructura se asemeja a la de la nicotina. Su diseño químico hace que actúen más bien sobre nAChRs postsinápticos de insectos: estos son más sensibles a los neonicotinoides que los receptores nicotínicos de mamíferos y pájaros (entre otros) (Pietrzak et al., 2019). La unión de los neonicotinoides al nAChR en las sinapsis del SNC provoca un aumento en la frecuencia de despolarización en la membrana postsináptica, seguido por el bloqueo de la transmisión colinérgica en las sinapsis. Esto provoca la muerte del insecto (Matsuda et al., 2020).

Se trata de los insecticidas más vendidos actualmente (Pietrzak et al., 2019), en 2014 abarcaban más del 25 % del mercado global de insecticidas (Han et al., 2018). Esto está justificado por las siguientes ventajas: los neonicotinoides se aplican en dosis menores que otros insecticidas (Buszewski et al., 2019), son de amplio espectro e insecticidas sistémicos (Barbosa et al., 2016). En la UE el uso y la venta de clotianidina, tiametoxam e imidacloprid está restringido mediante el Reglamento de Ejecución nº485/2013.

Comportamiento en el medio ambiente

La fuente mayoritaria de los neonicotinoides es la agricultura. Por su alta solubilidad, se lixivian con el agua de escorrentía por el suelo hasta llegar a las aguas subterráneas (Barbosa et al., 2016). Se han encontrado en el medio acuático tanto en efluentes, aguas subterráneas y aguas superficiales en el rango bajo de mcg/L, siendo imidacloprid el neonicotinoide más estudiado. La concentración suele ser mayor en la parte del río después del efluente y con variabilidad durante el año, ya que estos insecticidas se usan más en la época del año en la que se siembra (Pietrzak et al., 2019).

Estos CE son muy solubles en agua (Barbosa et al., 2016), su adsorción al suelo es baja (su log Kow es bajo) (Pietrzak et al., 2019) y solo se absorbe entre un 2% y un 20% del neonicotinoide por la planta. Todas estas propiedades permiten a estos CE una entrada fácil al medio acuático (Pietrzak et al., 2020). Asimismo son más persistentes que otros tipos de pesticidas; estudios han demostrado que la mayoría de los neonicotinoides tienen una vida media en suelo de 3 años. En el agua no se hidrolizan fácilmente y son estables a un amplio rango de pH (Pietrzak et al., 2019). Esto facilita la exposición prolongada y los efectos tóxicos de estos pesticidas. Se ha estudiado también la biodegradación por separado de los 5 neonicotinoides por bacterias aeróbicas. Este proceso es bastante rápido, pero se desconoce su biodegradación bajo condiciones más complejas. En el suelo la hidrólisis es el proceso abiótico más importante para estos CE (Pietrzak et al., 2020).

Al tratarse de pesticidas sistémicos han sido diseñados para penetrar y bioacumularse en la planta hasta que un insecto se alimente de esta. Los neonicotinoides se aplican sobre todo

en semillas para garantizar su protección no solo durante el crecimiento de la misma, sino también durante todo el ciclo vital de la planta. Por ello, estos CE se distribuyen en las hojas, flores, el néctar y polen de la planta así como en el agua secretada por esta (Buszewski et al, 2019). También se acumulan en los alimentos: se han determinado en frutas, verduras (mcg/kg), en el pan de abeja en el rango de ng/g (Buszewski et al, 2019) y en la leche de vaca. Por tanto el ser humano está expuesto a estos CE a través de la cadena alimentaria, hecho que se confirma por la detección de neonicotinoides en la orina de niños y personas adultas no relacionadas con el campo (Han et al., 2018).

Impacto en el medio ambiente

Los neonicotinoides tienen muchos efectos indeseables al ser compuestos de amplio espectro que se han usado extensamente en las últimas décadas. Aunque los receptores de los insectos son más sensibles a este tipo de pesticidas, también tienen efectos tóxicos en vertebrados y otros invertebrados.

Se ha demostrado que metabolitos de estos CE (ejemplo: desnitro-imidacloprid) tienen más afinidad hacia los receptores nicotínicos de mamíferos, por lo que estos son más tóxicos para mamíferos que para la diana establecida en un principio (Pietrzak et al., 2019). Además, hay evidencia de que los neonicotinoides interactúan con los receptores nicotínicos de mamíferos (tanto de ratones como de peces cebras) sobre todo en la fase de desarrollo del SNC. Debido a que los cambios que se observan son irreversibles, los efectos no solo son notables durante la fase de desarrollo sino también más adelante (Abreu-Villaça y Levin, 2017). Parece haber una asociación positiva entre la exposición crónica a neonicotinoides y síntomas neurológicos o situaciones adversas en el desarrollo (Pietrzak et al., 2019). En experimentos in vitro se ha demostrado que imidacloprid puede activar el subtipo $\alpha 4\beta 2$ del receptor nicotínico humano implicado en enfermedades como el Alzheimer, Parkinson, esquizofrenia y depresión y que en general los neonicotinoides son absorbidos por la membrana intestinal humana (Buszewski et al, 2019).

Asimismo estos 5 CE son muy tóxicos para artrópodos acuáticos (Barbosa et al., 2016) y pueden reducir la población de estos organismos, ya que interfieren con el sistema reproductivo e inmune. Los artrópodos terrestres como las abejas también se ven muy afectados (Buszewski et al., 2019). Los neonicotinoides están en el néctar y en el polen de las flores, lo que posibilita su ingestión por los animales que se alimentan de estas partes de las plantas como pájaros o polinizadores (abejas) (Matsuda et al., 2020). Es más, en cuerpos de abejas muertas se han encontrado estos pesticidas confirmando que este proceso ocurre (Buszewski et al, 2019). Aunque las dosis ingeridas pueden ser letales, normalmente son subletales; las abejas muestran síntomas de envenenamiento por los neonicotinoides y se observan convulsiones, temblores y movimientos incontrolados. Como consecuencia las abejas mueren antes de lo normal y se ha observado una disminución en las colonias de abejas en constante contacto con neonicotinoides. Además, bajo influencia de clotianidina y imidacloprid se observaron irregularidades en el comportamiento de las abejas obreras que salen a volar para recoger néctar (Buszewski et al, 2019).

Aparte de los efectos tóxicos descritos anteriormente, el uso masivo, frecuente e intenso a lo largo del tiempo de neonicotinoides ha provocado que ciertas especies de insectos hayan desarrollado resistencias a distintos niveles. De esta manera los insectos son capaces de tolerar mayores dosis de estos CE (Buszewski et al, 2019). Por un lado, hay evidencia del

desarrollo de una resistencia metabólica en las enzimas pertenecientes a la familia CYP6 de fase 1 y en las enzimas glutatión-transferasa y galactosiltransferasa de fase 2. El segundo mecanismo de resistencia es la mutación del propio receptor nicotínico, fenómeno observado tanto en estudios controlados en el laboratorio como estudios de campo. Debido a estas mutaciones, la sensibilidad del receptor nicotínico frente a estos insecticidas disminuye, por lo que el efecto de los neonicotinoides disminuye al igual que su poder insecticida (Matsuda et al., 2020).

Eliminación del medio ambiente

Se ha estudiado la eliminación de los neonicotinoides mediante las técnicas de oxidación avanzada (Barbosa et al., 2016); imidacloprid se degrada totalmente mediante la reacción de Fenton. Además, resulta útil el acoplamiento de dos o más técnicas de oxidación avanzada para acortar el tiempo de tratamiento y aumentar el ratio de mineralización. En este caso, el neonicotinoide más oxidable es tiametoxam y el más recalcitrante acetamiprid (González et al., 2020). La zeolita, un tipo de silicato, también es útil para eliminar imidacloprid por procesos de adsorción (Marican y Durán-Lara, 2018). Los humedales artificiales también se han estudiado para la eliminación de imidacloprid mostrando tasas de eliminación mayores al 70% (Gorito et al., 2017).

Metiocarb y Metaflumizona

Caracterización del compuesto

El metiocarb es un derivado del ácido carbámico y su estructura química es un N-metil-carbamato, que inhibe de manera reversible a la acetilcolinesterasa en el SNC (Abreu-Villaça y Levin, 2017). Se usa tanto en insectos como en ácaros, moluscos y para repeler a pájaros de árboles frutales (Barbosa et al., 2016). Desde el 2014 está prohibido su uso en moluscos en la UE (Pietrzak et al., 2019).

La metaflumizona pertenece a los insecticidas semicarbazonas de nueva generación y se usa sobre todo para controlar la peste de Lepidópteros. Su mecanismo de acción se basa en el bloqueo en el SNC de canales de sodio voltaje-dependientes en estado inactivado de insectos, lo que provoca el bloqueo de la actividad nerviosa y por consiguiente parálisis (Pietrzak et al., 2019). Aunque no se utilizan tanto como los neonicotinoides, la UE es de las regiones en las que más se emplean estos dos CE (Pietrzak et al., 2019).

Comportamiento en el medio ambiente

Estos dos compuestos se introducen al medio acuático sobre todo por su uso en la agricultura. Metiocarb se ha detectado en el agua de lluvia y en el agua subterránea en concentraciones de mcg/L (Pietrzak et al., 2019). La concentración de metiocarb en el medio ambiente normalmente es baja (Barbosa et al., 2016) y en la UE solo hay datos de monitorización sobre la concentración de este CE en 5 países miembros (Pietrzak et al., 2019). No se han encontrado datos relativos a la concentración de metaflumizona en aguas, pero sí se ha medido su concentración en el suelo y en la comida (Pietrzak et al., 2019).

Metiocarb y metaflumizona son poco solubles en agua y de difícil biodegradación, aunque en agua la hidrólisis de metiocarb se ve favorecida por pH básicos y la de

metaflumizona por pH ácidos (Pietrzak et al., 2019). No se han encontrado datos sobre la bioacumulación de estos dos CE.

Impacto en el medio ambiente

Metiocarb causa neurotoxicidad en organismos no diana, aunque por su unión reversible a la enzima acetilcolinesterasa el síndrome de intoxicación aguda suele ser menos severo (Abreu-Villaca y Levin, 2017). Aun así, se considera que en ratones la exposición por vía oral es muy tóxica. No hay evidencia de efectos genotóxicos y mutagénicos en humanos, por lo que en este aspecto se clasifica al igual que la metaflumizona como no dañino para el ser humano (Pietrzak et al., 2019). En ratas metiocarb tiene tanto actividad antiandrogénica como afinidad por los receptores estrogénicos alfa y beta (actividad estrogénica) (Tange et al., 2016). Asimismo son tóxicas para organismos acuáticos sulfóxido de metiocarb y metiocarb sulfona, que se crean por la ruptura de metiocarb en el agua, (Pietrzak et al., 2019).

La metaflumizona ha demostrado ser de bajo riesgo para organismos no diana, al no ser ni mutagénico ni genotóxico ni neurotóxico. Asimismo, su toxicidad aguda en ratones tras exposición oral, dérmica e inhalatoria es baja. Por ello este pesticida se clasifica como no dañino para el ser humano (Pietrzak et al., 2019).

Eliminación del medio ambiente

Metiocarb se une fuertemente a la zeolita (su ratio de adsorción es muy alta), por lo que este silicato puede resultar útil para eliminar este CE del agua (Marican y Durán-Lara, 2018). También se eliminó eficazmente mediante la ozonación, aunque los metabolitos producidos durante el proceso resultaron ser igual o más tóxicos que el compuesto original (Cruz-Alcalde et al., 2017).

Metaflumizona puede ser eliminado a través de fotooxidación (Garrido et., 2019), no obstante, destaca la escasez de estudios sobre la eliminación de a metaflumizona en general.

6. Conclusiones

- 1) Los CE incluidos en la segunda lista de observación son muy heterogéneos con respecto a sus propiedades fisicoquímicas y su impacto en el medio ambiente. El denominador común es su detección en el agua/suelo y su indiscutible repercusión sobre los organismos. Las sustancias más preocupantes de esta lista de observación son: EE2, por su persistencia y alto potencial estrogénico, los ATB en su conjunto por su repercusión sobre la ecología bacteriana y otros organismos así como por la potenciación de ARB y ARG en el medio ambiente con las consecuencias sobre la salud humana y, por último, los neonicotinoides por su alta movilidad por el sistema acuático e introducción a la cadena alimentaria.
- 2) En comparación con los estrógenos, ATB y neonicotinoides destaca la escasez de datos de metiocarb y aún más de metaflumizona en todos los aspectos tratados en esta revisión. Por ello se insta a seguir investigando sobre estos dos CE.
- 3) Para los estrógenos y antibióticos hay muchas opciones de eliminación disponibles, que hasta ahora se han investigado por separado. Aparte de investigar más sobre

posibles tratamientos para cada compuesto, se debería investigar las mezclas de CE para acercarse más a la realidad de las EDAR.

- 4) Se requiere de una colaboración inminente entre la comunidad científica y la administración para regular pronto estos y otros CE y así prevenir y reducir, en la medida de lo posible, cambios ecológicos causados por estas sustancias.

7. Bibliografía

1. Abreu-Villaça, Y., Levin, E. D. (2017). Developmental neurotoxicity of succeeding generations of insecticides. *Environment International*, 99, 55–77.
2. Adeel, M., Song, X., Wang, Y., Francis, D., Yang, Y. (2017). Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review. *Environment International*, 99, 107-119.
3. Almeida, Â., Silva, M. G., Soares, A. M. V. M., Freitas, R., (2020). Concentrations levels and effects of 17alpha-Ethinylestradiol in freshwater and marine waters and bivalves: A review. *Environmental Research*, 185, 109316.
4. Baena-Nogeras, R. M., Gonzalez-Mazo, E., Lara-Martin, P. A., (2017). Photolysis of Antibiotics under simulated Sunlight Irradiation: Identification of Photoproducts by High-Resolution Mass Spectrometry. *Environmental Science and Technology*, 51, 3148-3156.
5. Barbosa, M. O., Moreira, N. F. F., Ribeiro, A. R., Pereira, M. F. R., Silva, A. M. T., (2016). Occurrence and removal of organic micropollutants: an overview of the Watch List of EU Decision 2015/495. *Water Research*, 94, 257- 279.
6. Bhandari, R. K., Deem, S. L., Holliday, D. K., Jandegian. C. M., Kassotis, C. D., Nagel, S. C., Tillitt, D. E., vom Saal, F. S., Rosenfeld, C, S.. (2015). Effects of the environmental estrogenic contaminants bisphenol A and 17alfa-ethinyl estradiol on sexual development and adult behaviors in aquatic wildlife species. *General and Comparative Endocrinology*, 214, 195-219.
7. Buszewski, B., Bukowska, M., Ligor, M., Stanezcko-Baranowska, I., (2019). A holistic study of neonicotinoids neuroactive insecticides-properties, application, occurrence and analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 34723-34740.
8. Commission Implementing Regulation (EU) (2013). No 485/2013 of 24 May 2013 amending Implementing Regulation (EU) No 540/2011, as regards the conditions of approval of the active substances clothianidin, thiamethoxam and imidacloprid, and prohibiting the use and sale of seeds treated with plant protection products containing those active substances. Disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:02013R0485-20181219&from=ES>
9. Cruz-Alcalde, A., Sans, C., Esplugas, S. (2017). Exploring ozonation as treatment alternative for methiocarb and formed transformation products abatement. *Chemosphere*, 186, 725-732.
10. Cuvillier-Hot, V., Leanoir, A. (2020). Invertebrates facing environmental contamination by endocrine disruptors: Novel evidence and recent insights. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 504, 1107-1112.
11. Decision (2015). 495/2015/EU of 20 March 2015 establishing a watch list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council, *Official Journal of the European Union*, 78, 40–42.

12. Decision (2018). 2018/840/EU of 5 June 2018 establishing a watch list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council and repealing Commission Implementing Decision (EU) 2015/495, *Official Journal of the European Union*, 141, 9-12.
13. Directive (2000). 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official Journal of the European Union*, 327, 1-72.
14. Directive (2008). 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council. *Official Journal of the European Union*, 348, 84-97.
15. Directive (2013). 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. *Official Journal of the European Union*, 226, 1-17.
16. Elizade-Velázquez, A., Gómez-Oliván, L., Galar-Martínez, M., Islas-Flores, H., Dublán-García, O., San Juan-Reyes, N. (2016). Amoxicillin in the Aquatic Environment, Its Fate and Environmental Risk. *Environmental Health Risk – Hazardous Factors to Living Species*, 248-267.
17. García, J., García-Galán, M.J., Day, J.W., Boopathy, R., White, J.R., Wallace, S., Hunter, R.G. (2020). A review of emerging organic contaminants (EOCs), antibiotic resistant bacteria (ARB), and antibiotic resistance genes (ARGs) in the environment: Increasing removal with wetlands and reducing environmental impacts. *Bioresource Technology*, 307, 123228
18. Garrido, I., Pastor-Belda, M., Campillo, N., Viñas, P., Yañez, M. J., Vel, N., Navarro, S., Fenoll, J. (2019). Photooxidation of insecticide residues by ZnO and TiO₂ coated magnetic nanoparticles under natural sunlight. *Photobiology A: Chemistry*, 372, 245-25.
19. González, T., Dominguez, J. R., Correia, S. (2020). Neonicotinoids removal by associated binary, tertiary and quaternary advanced oxidation processes: Synergistic effects, kinetics and mineralization. *Journal of Environmental Management*, 261, 110156.
20. Gorito A. M., Ribeiro A. R., Almeida C. M. R., Silva A. M. (2017). A review on the application of constructed wetlands for the removal of priority substances and contaminants of emerging concern listed in recently launched EU legislation. *Environmental pollution*, 227, 428-443.
21. Grenni, P., Ancona, V., Caracciolo, A. B. (2018). Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. *Microchemical Journal*, 136, 25-39.
22. Han, W., Tian, Y., Shen, X. (2018). Human exposure to neonicotinoid insecticides and the evaluation of their potential toxicity: An overview. *Chemosphere*, 192, 59-65.
23. Janecko, N., Pokludova, L., Blahova, J., Svoboda, Z., Literak, I. (2016). Implications of fluoroquinolone contamination for the aquatic environment-a review. *Environmental Toxicology and chemistry*, 35, 2647-2656.

24. Kabir, E. R., Rahman, M. S., Rahman, I. (2015). A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40, 241-258.
25. Kim, K. H., Kabir, E., Jahan, S. A. (2017). Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the Total Environment*, 575, 525-535.
26. 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*, 251, 126351.
27. Kumar, M., Jaiswal, S., Kaur Sodhi, K., Shree, P., Kumar Singh, D., Kumar Agrawal, P., Shukla, P. (2018). Antibiotics bioremediation: Perspectives on its ecotoxicity and resistance. *Environment International*, 124, 448-461.
28. Marican, A., Durán-Lara, E. F. (2018). A review on pesticides removal through different processes. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 2051-2064.
29. Matsuda, K., Ihara, M., Sattelle, D. B. (2020). Neonicotinoids Insecticides: Molecular Targets, Resistance and Toxicity. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 60, 241-255.
30. Meng, L., Li, X., Wang, X., Ma, K., Liu, G., Zhang, J. (2017). Amoxicillin effects on functional microbial community and spread of antibiotic resistance genes in amoxicillin manufacture wastewater treatment system. *Journal of Environmental Sciences*, 61, 110-117.
31. Pietrzak, D., Kania, J., Kmiecik, E., Malina, G., Wator, K. (2020). Fate of selected neonicotinoid insecticides in soil-water systems: current state of art and knowledge gaps. *Chemosphere*, 255, 1269-1281.
32. Pietrzak, D., Kania, J., Malina, G., Kmiecik, E., Wator, K. (2019). Pesticides from the EU first and Second Watch List in the Water Environment. *Clean- Soil, Air, Water*, 47, 1-13.
33. Sabri, N. A., Schmitt, H., Van der Zaan. B., Gerritsen, H. W., Zuidema, T., Rijnaarts, H. H. M., Langenhoff, A. A. M. (2020). Prevalence of antibiotic resistance genes in a wastewater affluent-receiving river in the Netherlands. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8, 1-11.
34. Schafhauser, B. H., Kristofco, L. A., Ribas de Oliveira, C. M., Brooks, B. W., (2018). Global review and analysis of erythromycin in the environment: Occurrence, bioaccumulation and antibiotic resistance hazards. *Environmental Pollution*, 238, 440-451.
35. Sousa, J. C. G., Ribeiro, A. R., Barbosa, M. O., Pereira, M. F. R., Silva, A. M. T. (2018). A review on environmental monitoring of water organic pollutants identified by EU guidelines. *Journal of Hazardous Materials*, 344, 146-162.
36. Taheran, M., Naghdi, M., Brar, S. K., Verma, M., Surampalli, R. Y. (2018). Emerging contaminants: Here today, there tomorrow! *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 10, 122-126.
37. Tange, S., Fujimoto, N., Uramaru, N., Wong, F. F., Sugihara, K., Ohta, S., Kitamura, S., (2016). In vitro metabolism of methiocarb and carbarly in rats and its effect on their estrogenic and antiandrogenic activities. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 41, 289-297.
38. Väliälto, P., Kruglova, A., Mikola, A., Vahala, R. (2017). Toxicological impacts of antibiotics on aquatic micro-organisms: A mini-review. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 220, 558-568.

39. Wang, J., Zhuan, R. (2020). Degradation of antibiotics by advanced oxidation processes: an overview *Science of the Total Environment*, 701, 135023.
40. World Health Organization (2018). *WHO Report on Surveillance of Antibiotic Consumption 2016-2018 Early Implementation*, ISBN 978-92-4-151488-0. Geneva.
41. Yan, Z., Huang, X., Xie, Y., Song, M., Zhu, K., Ding, S. (2019). Macrolides induce severe cardiotoxicity and developmental toxicity in zebrafish embryos. *Science of the Total Environment*, 649, 1414-1421.
42. Yu, W., Du, B., Yang, L., Zhang, Z., Yang, C., Yuan, S., Zhang, M. (2019). Occurrence, sorption, and transformation of free and conjugated natural steroid estrogens in the environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 9443-9468.