



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Implicaciones ambientales de la contaminación de sistemas acuáticos por productos farmacológicos: la amenaza de los antibióticos

Alumno: María Herrera García

Julio, 2020



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

IMPLICACIONES AMBIENTALES DE LA CONTAMINACIÓN DE SISTEMAS ACUÁTICOS POR PRODUCTOS FARMACOLÓGICOS: LA AMENAZA DE LOS ANTIBIÓTICOS

Alumno: María Herrera García

Jaén, Julio de 2020

Fdo.

ÍNDICE

1. RESUMEN / ABSTRACT.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1. Productos farmacéuticos.....	3
2.1.1. <i>Antibióticos.....</i>	4
2.1.1.1. <i>Uso de los antibióticos.....</i>	5
2.1.1.2. <i>Vías de entrada en el medio.....</i>	5
2.1.1.3. <i>Degradación.....</i>	7
2.1.2. <i>Resistencia a antibióticos.....</i>	8
2.1.2.1. <i>Genes de resistencia a antibióticos.....</i>	9
2.1.3. <i>Contaminación de sistemas acuáticos por antibióticos.....</i>	10
2.2. Hipótesis.....	13
2.3. Objetivos.....	13
2.3.1. <i>Objetivo general.....</i>	13
2.3.2. <i>Objetivos específicos.....</i>	13
3. METODOLOGÍA.....	14
3.1. Formulación de las preguntas de búsqueda.....	14
3.2. Elección de los lugares de búsqueda.....	15
3.3. Definición de los criterios de búsqueda.....	16
3.4. Confección de las cadenas de búsqueda.....	16
3.5. Creación de límites o filtros adicionales.....	16
4. RESULTADOS.....	18
5. DISCUSIÓN.....	31
6. CONCLUSIONES.....	36
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

1. RESUMEN / ABSTRACT

En los últimos años, la contaminación de los sistemas acuáticos por productos farmacológicos ha aumentado considerablemente, especialmente respecto a la cantidad de antibióticos detectados. Este aumento, asociado a actividades antrópicas, se ha convertido en una grave amenaza para los sistemas acuáticos y las comunidades biológicas que habitan en ellos. Paralelamente este problema global repercute en la salud de los humanos ya que no es posible la eliminación de los metabolitos en las estaciones depuradoras, y se genera un proceso de resistencia bacteriana. Como resultado se está produciendo una propagación de los genes resistentes en los ecosistemas. Por todo ello, es importante conocer la magnitud del problema, los riesgos de sus efectos y la extensión de sus daños, con el propósito de idear unas estrategias de prevención y mitigación acertadas. En el presente trabajo, se ha realizado una revisión bibliográfica del problema anteriormente descrito en los últimos diez años. La metodología de revisión sistemática y los criterios de búsqueda escogidos han sido utilizados para seleccionar 16 documentos científicos, de los cuales recopilamos la información mediante síntesis narrativa recabando datos cruciales para nuestra revisión. Gracias a ello, se ha observado que la mayoría de ellos están centrados en los entornos donde se pueden localizar los genes de resistencia a antibióticos y los efectos causados al medio acuático, aunque también hay algunos estudios centrados en estrategias de recuperación y mitigación de la presencia de estos microcontaminantes. Sin embargo, la información existente sobre la repercusión sobre la salud humana aún es muy escasa. Finalmente, el presente trabajo pone de manifiesto la existencia de evidencias científicas del problema estudiado, así como, de la falta de medidas efectivas para mitigarlo.

Palabras clave: resistencia de antibióticos, sistemas acuáticos, estaciones depuradoras, contaminación por medicamentos

ABSTRACT

In recent years, the pollution of aquatic systems by pharmacological products has increased significantly, specifically the amount of antibiotics detected. This increase, associated with anthropic activities, has become a serious threat to aquatic systems and the biological communities that inhabit them. At the same time, this global problem has an impact on human health since it is not possible to extract the metabolites in the treatment plants, and a process of bacterial resistance is generated. As a result, a spread of resistant genes is occurring in ecosystems. For all this, it is important to know the magnitude of the problem, the risks of its effects and the extent of its damage, in order to devise sound prevention and mitigation strategies. In the present work, a bibliographic review of the problem previously described in the last ten years was made. Systematic review methodology and the chosen search criteria have been used to select 16 scientific documents, from which we compiled the information through narrative synthesis, collecting crucial data for our review. Most of them are focused on environments where they can study antibiotic resistance genes and the effects caused to the aquatic environment, although there are also some studies focused on recovery strategies and mitigation of the micro-contaminants presence. However, the existing information on the impact on human health due to the presence of antibiotics in aquatic systems is still very scarce. Finally, the present work shows the existence of scientific evidence of the studied problem, as well as the lack of measures to avoid to mitigate it.

Keywords: antibiotics resistance, aquatic systems, sewage treatment plants, and pharmaceuticals pollution

2. ANTECEDENTES

2.1. Productos farmacéuticos

Los productos farmacéuticos son indispensables para el mantenimiento de la salud pública y la calidad de vida (Barra Caracciolo *et al.*, 2015). Son sustancias que se usan para la prevención, diagnóstico o el tratamiento de una enfermedad, además de para corregir o modificar las funciones del organismo. Miles de compuestos activos están actualmente en uso en grandes cantidades para tratar o prevenir enfermedades (Monteiro & Boxall, 2010).

La reciente detección de productos farmacéuticos en sistemas terrestres y acuáticos ha generado una importante preocupación normativa y científica (Cardoso *et al.*, 2014).

La mayoría de los ingredientes farmacéuticos activos (APIs) se someten a una reabsorción y metabolismo incompleto en el cuerpo humano y, por lo tanto, entran en las aguas residuales crudas como compuestos activos o como metabolitos (Jelic *et al.*, 2012). Estos residuos farmacéuticos forman mezclas de multicomponentes en las aguas residuales municipales, los cuales son insuficientemente eliminados durante el camino a través de la estación depuradora (Kronacher & Hogueve, 2002).

La salud humana puede estar en riesgo debido al consumo a largo plazo de agua potable que contenga trazas de farmacéuticos (Monteiro & Boxall, 2010), debido a que la infraestructura de nuestras estaciones depuradoras no son adecuadas a la hora de enfrentar los cambios en la contaminación del agua (Sharma *et al.*, 2016).

Los antibióticos, son los farmacéuticos de consumo más frecuente, son ampliamente utilizados para el cuidado tanto de la salud humana como de la animal (Li *et al.*, 2018). Sin embargo, los residuos de antibióticos y sus metabolitos activos que se descargan a través de la red de saneamiento, aún poseen actividad antibacteriana lo que podría dar lugar a efectos adversos incluyendo la contaminación de los alimentos y el agua potable, riesgos para la salud humana y el ganado, así como el desarrollo de resistencia que ejerce una presión selectiva sobre la comunidad microbiana (Ding *et al.*, 2020). En este sentido, se ha puesto de manifiesto que el incremento de la aparición de enfermedades emergentes está relacionado, entre otros, por el

incremento de la resistencia frente a antibióticos de los microorganismos (UNEP, 2016).

2.1.1. Antibióticos

Un antibiótico en sentido amplio es un agente quimioterapéutico que inhibe o abole el crecimiento de microorganismos como bacterias, hongos o protozoos (Kümmerer, 2009a).

Otros términos que son normalmente usados son quimioterapéutico o antimicrobiano, sin embargo, éstos no son sinónimos; ya que, por ejemplo, los antimicrobianos pueden ser efectivos contra virus. La expresión “quimioterapéutico” se refiere a compuestos usados en el tratamiento de enfermedades en las cuales se matan células, específicamente microorganismos o células cancerosas (Kümmerer, 2009a).

Desde el comienzo de la era de los antibióticos en la primera mitad del siglo XX, los antibióticos y los genes de resistencia a los mismos han sido introducidos o se han extendido a casi todos los ecosistemas de la tierra (Berkner *et al.*, 2014).

Los antibióticos se clasifican según el tipo de organismo contra el que están activos, la mayoría son utilizados para tratar infecciones bacterianas e incluyen sustancias de la penicilina, tetraciclina, macrólidos y clases de quinolonas y sulfamida (Monteiro & Boxall, 2010).

Los primeros antibióticos eran de origen natural, por ejemplo, las penicilinas producidas por hongos o estreptomocinas procedentes de bacterias. Actualmente, se obtienen por síntesis química o por la modificación química de compuestos de origen natural (Kümmerer, 2009a).

En contraste con las propiedades y los efectos deseados debidos a la aplicación terapéutica de antibióticos, dichas propiedades, a veces, son inconvenientes tanto para los organismos diana como los no diana presentes en el medio ambiente (Kümmerer, 2009a).

2.1.1.1. *Uso de los antibióticos*

Los antibióticos se usan tanto en medicina humana como veterinaria, como también en acuicultura, con el propósito de prevenir o tratar infecciones causadas por microorganismos.

Las principales fuentes de compuestos farmacéuticos en el medio acuático son debidas a: su excreción después del uso, el uso incorrecto de medicamentos nuevos y, aunque en menor alcance, por los vertidos durante la producción (Jones *et al.*, 2004). Las áreas con una densidad de población elevada y/o grandes poblaciones de granjas son, sin duda, las más preocupantes.

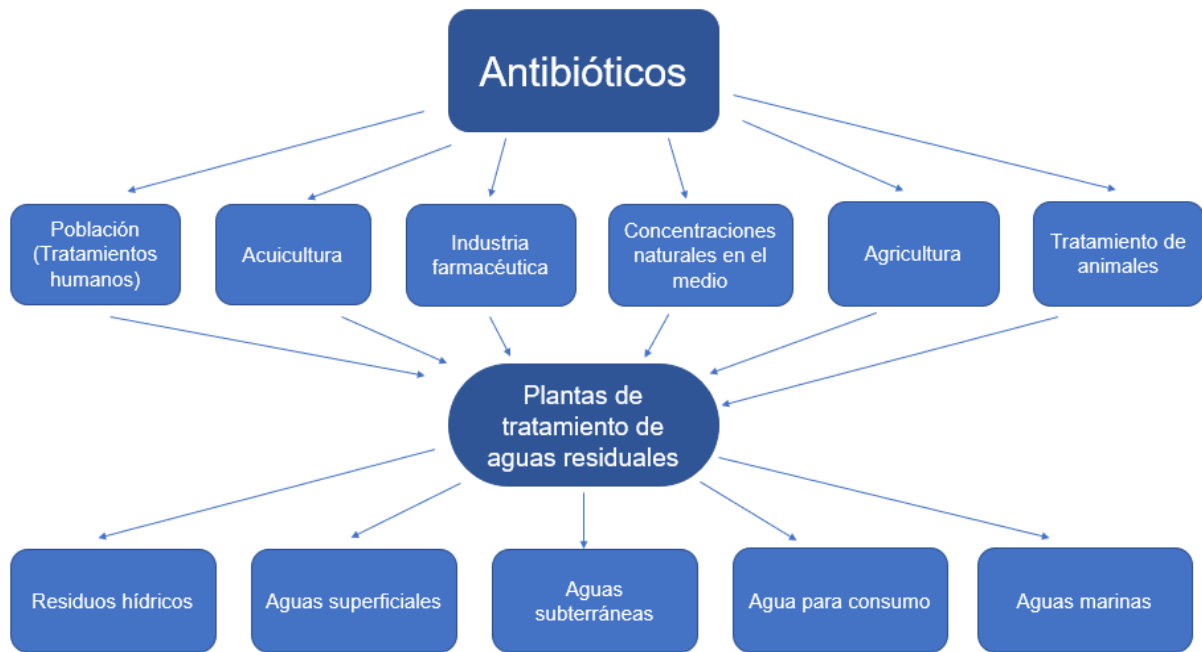
Otra cara de este problema es la exposición a la mezcla de químicos. Algunos componentes que no tienen ningún riesgo por sí mismos pueden contribuir incrementando la toxicidad de otros compuestos (Galbraith *et al.*, 2004).

Después de realizar su acción, el fármaco debe ser metabolizado a una sustancia más hidrófila para su excreción. Si un medicamento sigue siendo lipofílico, será de nuevo reabsorbido y permanecerá en el organismo durante un periodo de tiempo más largo (Galbraith *et al.*, 2004).

2.1.1.2. *Vías de entrada en el medio*

Desde la introducción de los antibióticos en la medicina en la década de 1940, se han convertido en el centro de la medicina moderna; su papel se ha ampliado desde el tratamiento de infecciones graves hasta la prevención de infecciones en pacientes que han recibido una intervención quirúrgica y protegiendo a las personas con un sistema inmunológico comprometido o contra el cáncer (Pazda *et al.*, 2019).

En el siguiente esquema vemos detallado el proceso de entrada y prevalencia de los antibióticos y su respectiva resistencia en el medio ambiente, con la intervención de las estaciones depuradoras de aguas potables.



Esquema 1. Vías de la diseminación de bacterias resistentes a los antibióticos y genes de resistencia en el medio ambiente (Modificado de (Pazda *et al.*, 2019).

La consecuencia principal de su alto consumo, métodos incorrectos de eliminación de los medicamentos o la excreción por humanos y animales es la penetración de los antibióticos, sus metabolitos y productos de transformación en aguas residuales hospitalarias y municipales. En el medio ambiente, los antibióticos no sólo son contaminantes químicos que pueden ejercer efectos tóxicos. Sino que son capaces de causar presión selectiva (Pazda *et al.*, 2019). Este fenómeno consiste en la eliminación de microorganismos sensibles a los antibióticos, mientras que hay una supervivencia de individuos resistentes, cuyas características les permiten superar los efectos adversos de los mismos (Birošová *et al.*, 2014).

Respecto a su uso en agricultura, los antibióticos se han utilizado para controlar ciertas enfermedades bacterianas de frutas, verduras y plantas ornamentales; hoy día, el antibiótico que más se usa en plantas es la estreptomycin (Kümmerer, 2009a).

Según la FAO, el término acuicultura significa la cría de organismos acuáticos, comprendidos peces, moluscos, crustáceos y plantas. La cría supone la intervención humana para incrementar la producción; por ejemplo: concentrar poblaciones de peces, alimentarlos o protegerlos de los depredadores. En acuicultura, los antibióticos

se han utilizado principalmente con un propósito terapéutico y como agentes profilácticos (Serrano, 2005).

Además, tenemos que tener en cuenta la cuestión de las concentraciones naturales que hay en el medio ambiente de antibióticos producidos por bacterias del suelo, ya que es un punto importante a la hora de la evaluación del riesgo que éstos poseen (Kümmerer, 2009a).

Posteriormente, tanto los antibióticos como sus metabolitos excretados pasan a las plantas de tratamiento de aguas residuales donde van a ser tratadas; sin embargo, incluso siguiendo los tres tratamientos – químicos, biológicos y mecánicos – no es suficiente para eliminar todos los residuos farmacéuticos (Berkner *et al.*, 2014).

Las fracciones que no han sido metabolizadas son excretadas en forma de compuestos activos; mirando estos compuestos podemos decir que aproximadamente el 70% de los antibióticos consumidos son excretados sin cambios metabólicos (Kümmerer & Henninger, 2003). Finalmente, son diseminados y pueden contribuir a un aumento de la concentración total de antibióticos de los residuos hídricos, aguas superficiales, aguas subterráneas, agua potable y sistemas acuáticos tanto de agua dulce como salada.

2.1.1.3. Degradación

La eliminación de los compuestos orgánicos en el medioambiente es el resultado de diferentes procesos; dichos procesos pueden ser bióticos (biodegradación por bacterias u hongos) o abióticos (sorción, hidrólisis, fotólisis, oxidación y reducción) (Kümmerer, 2009a).

En los procesos de tratamiento abiótico, se utilizan ozono, el reactivo de Fenton y la combinación de varios oxidantes; y se ha informado ampliamente de su eficacia para degradar antibióticos (Kong *et al.*, 2015).

Sin embargo, en las aguas residuales que contienen antibióticos, la diversidad de éstos requiere un método de pretratamiento para eliminar múltiples antibióticos y así poder ser tratados con hidrólisis debido a que este tratamiento posee un estrecho rango de eficacia (Yi *et al.*, 2016).

La radiación UV, sin la adición de productos químicos nocivos junto a productos de desinfección mínimos se ha identificado como un método de desinfección potencial (Lian *et al.*, 2015). La fotólisis UV ha sido recomendada como un sustituto de aditivos químicos en el tratamiento de las aguas residuales contra una amplia gama de contaminantes ambientales, especialmente para el control de la contaminación por antibióticos (Ding *et al.*, 2020).

Generalmente, la luz UV solar simulada, participará en la descomposición del antibiótico y en la eliminación de la actividad antibacteriana de aguas superficiales en el medioambiente, esto ha sido certificado por algunos investigadores (Ding *et al.*, 2020). Esto aumenta la perspectiva de la aplicación de la fotólisis UV sobre la descomposición de los antibióticos en los diferentes sistemas acuáticos (Timm *et al.*, 2019).

2.1.2. Resistencia a antibióticos

Podemos definir la resistencia a los antibióticos como la capacidad de las bacterias para sobrevivir, e incluso prosperar, en presencia de éstos; dicha resistencia está codificada en segmentos de ADN llamados genes de resistencia a los antibióticos (ARG) (Pruden, 2014).

El continuo uso excesivo de los antibióticos y su liberación en el entorno es preocupante porque da como consecuencia el desarrollo de genes resistentes a antibióticos en bacterias y provoca una disminución en el efecto de éstos como tratamiento en humanos y en patógenos de animales (Nnadozie & Odume, 2019).

Respecto a la dinámica del desarrollo de la resistencia a los antibióticos es esencial distinguir entre (al menos) tres niveles, nombrando; en primer lugar, dónde se encontraba el mecanismo de resistencia original, en segundo lugar, dónde se originaron las bacterias patógenas resistentes de importancia para las infecciones humanas y animales; y en tercer lugar, dónde se enriquecieron y transmitieron estos patógenos resistentes (Andersson & Hughes, 2012).

Además, hay que tener en cuenta que el mecanismo de resistencia podría haber sido originado por el uso de antibióticos en bacterias ambientales no patógenas, pruebas recientes apoyan firmemente la noción de que muchos tipos de mecanismos de

resistencia y bacterias resistentes estaban presentes mucho antes de que la producción, el uso y la propagación de los antibióticos se expandieran rápidamente en la segunda mitad del siglo XX (Dcosta *et al.*, 2011).

2.1.2.1. Genes de resistencia a antibióticos

Los genes de resistencia a antibióticos localizados en patógenos humanos, como, por ejemplo, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (Enright, 2003) se han convertido en notorios ya que confunden las técnicas usadas para tratar determinadas enfermedades (Allen *et al.*, 2010).

Particularmente, observamos que la resistencia se encuentra después de la introducción de un nuevo antibiótico para uso clínico (Enright, 2003), esto lo podemos ver en la siguiente tabla:

Antibiótico	Año de despliegue	Inicio de la resistencia
Sulfonamidas	Década de 1930	Década de 1940
Penicilina	1943	1946
Estreptomina	1943	1959
Cloranfenicol	1947	1959
Tetraciclina	1948	1953
Eritromicina	1952	1988
Vancomicina	1956	1988
Meticilina	1960	1961
Ampicilina	1961	1973
Cefalosporinas	Década de 1960	Finales de 1960

Tabla 1. Diferencia entre la introducción de un nuevo antibiótico y el inicio de la resistencia (Pruden, 2014).

La presencia de elementos de resistencia a antibióticos en bacterias patógenas se hace más problemática debido a la prevalencia de la transferencia horizontal de genes, proceso por el cual las bacterias adquieren genes del ambiente y pasan a ser resistentes (Thomas & Nielsen, 2005).

Muchos de los genes de resistencia a antibióticos conocidos se encuentran en transposones, integrones o plásmidos, que pueden ser movilizados y transferidos a otras bacterias de la misma o diferente especie (Allen *et al.*, 2010).

La genómica avanzada ha permitido la rápida identificación de mutaciones del gen de resistencia en las poblaciones de bacterias susceptibles. Estas tecnologías son imperativas para descifrar los mecanismos de resistencia y ofrecen la oportunidad de comprender mutaciones que son clínicamente relevantes (Sharma *et al.*, 2016).

Hay que tener en cuenta que, la supervivencia microbiana puede persistir después del tratamiento con antibióticos incluso en ausencia de mutación genética. Esto se ha denominado tolerancia colectiva a los antibióticos (Meredith *et al.*, 2015) que implica que las concentraciones inferiores a los niveles terapéuticos pueden desempeñar un papel en la selección de la resistencia y su posterior transferencia genética en ciertas bacterias, además, la exposición de las bacterias a concentraciones subterapéuticas puede aumentar la velocidad a la que las cepas resistentes de bacterias son seleccionados (Kummerer, 2003).

Las bacterias resistentes pueden ser seleccionadas en los residuos de hospitales, aguas residuales municipales, proceso de digestión anaeróbica o en el suelo. Estas bacterias resistentes se excretan y van a diferentes compartimentos ambientales (Kummerer, 2003).

Además, en algunas regiones el agua procedente de las aguas residuales se utiliza para la irrigación y el lodo sirve como fertilizante, esta práctica permite que las bacterias resistentes entren directamente en la cadena alimenticia (Kummerer, 2003).

2.1.3. Contaminación de sistemas acuáticos por antibióticos

Los ecosistemas de agua dulce están entre los ambientes naturales que son susceptibles de una posible contaminación con antibióticos que se liberan a través de diferentes fuentes, como vertidos procedentes de la agricultura, de aguas residuales y de la degradación de granjas cercanas (Nhadozie & Odume, 2019).

Las mediciones realizadas durante la última década muestran que la concentración de antibióticos procedentes de aguas residuales municipales, hospitales, estaciones depuradoras, aguas superficiales y aguas subterráneas están en su mayoría en el

mismo rango de concentración (Kümmerer, 2009a), por tanto, estos sistemas naturales están contaminados.

Como ya hemos mencionado antes, los antibióticos y los determinantes de la resistencia a los antibióticos son un fenómeno natural y han estado presentes en el medio ambiente mucho antes de que los humanos descubrieran y comenzaran a usar los antibióticos (Berkner *et al.*, 2014).

Con todo este conocimiento en nuestras manos, un control importante para reducir la tasa de aparición de resistencia podría ser la reducción de la contaminación de antibióticos en los residuos de agua, lodo, estiércol, ... Además de los programas de control clínico que tienen como objetivo reducir el uso de antibióticos en la población humana y en protocolos veterinarios. Es posible que sea más eficiente prevenir la aparición inicial de patógenos resistentes, en lugar de *a posteriori* tratar de controlar su enriquecimiento y propagación en la comunidad mediante el uso restrictivo de antibióticos (Andersson & Hughes, 2012).

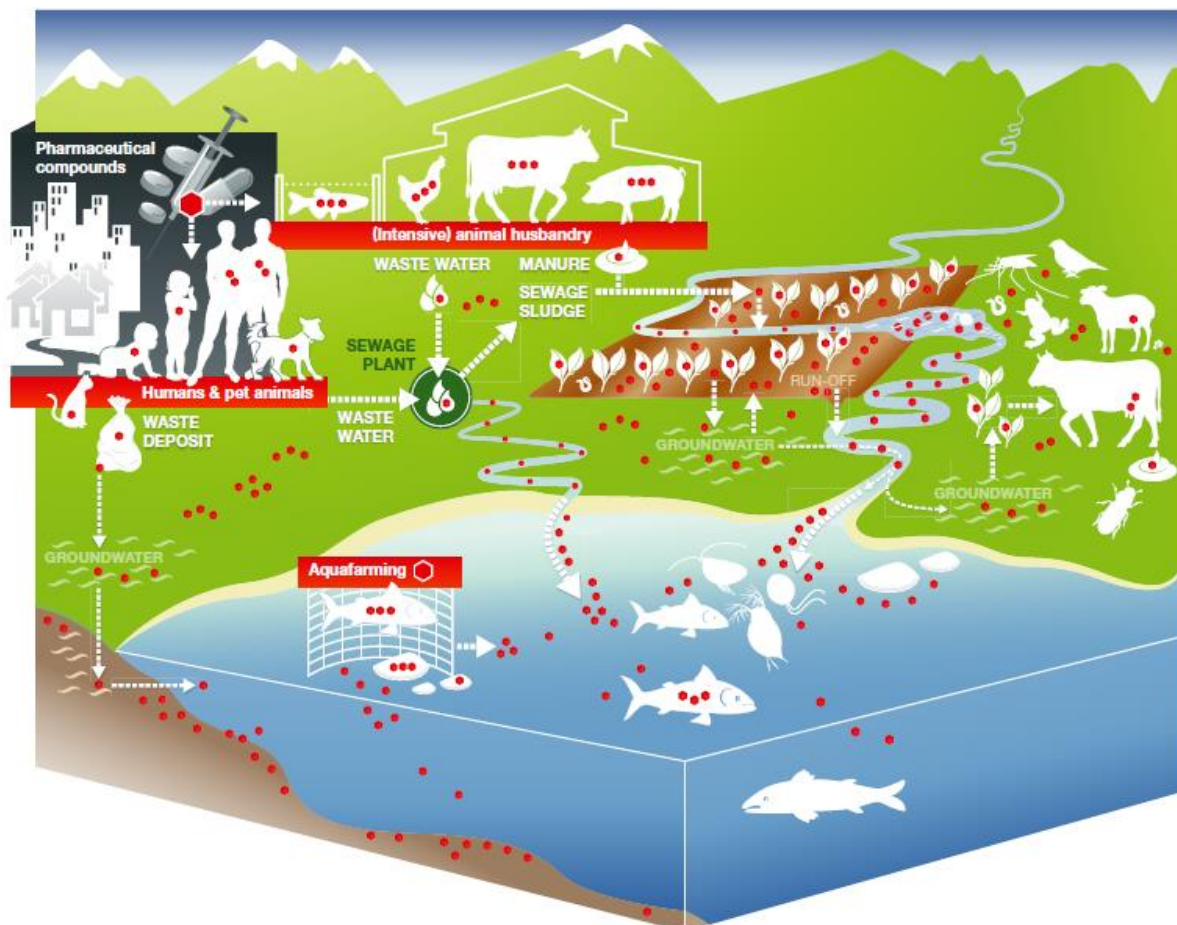


Figura 1. Vía de entrada de los antibióticos para uso humano y veterinario en el medio ambiente (Berkner *et al.*, 2014)

Tal y como vemos en la figura 1, comenzamos con la aplicación de agentes antibióticos en la medicina humana y veterinaria en la esquina superior izquierda, esto conlleva a la propagación de los residuos de antibióticos en el ecosistema y lo representamos con una red de vías de exposición, y vemos los residuos de antibióticos representados como puntos rojos en los distintos ambientes (Berkner *et al.*, 2014).

Los residuos de antibióticos pueden fluir entre diferentes compartimentos y ambientes; creando situaciones en las que pueden surgir bacterias resistentes las cuales se extienden entre los huéspedes y los diferentes ambientes. Un ejemplo, pueden ser los hospitales que representan importantes focos de evolución de la resistencia debido al alto uso (per cápita) de antibióticos y la alta densidad de población los cuales facilitan la propagación de bacterias resistentes (Andersson & Hughes, 2012).

La responsabilidad de los hospitales en la dispersión de bacterias resistentes es más que probable en algunos tipos de patógenos pero respecto a la presión selectiva total afirmada a nivel mundial debido a las influencias antropogénicas, el uso hospitalario de antibióticos representa sólo un pequeño porcentaje del volumen total usado y es concebible que las presiones selectivas más débiles presentes en otros ambientes son igualmente importantes como cultivos para la aparición de resistencia (Baquero *et al.*, 2008).

2.2. Hipótesis

Desde que comenzó la era de los antibióticos en la primera mitad del siglo XX, la contaminación por estos productos farmacéuticos se ha extendido tanto a sistemas terrestres como acuáticos, y suponen una grave amenaza para la salud humana tras detectarse diversos compuestos activos que entran en la cadena trófica. Se ha estimado que casi cien mil toneladas de sustancias farmacológicamente activas llegan a los sistemas acuáticos, dichos compuestos no pueden ser degradados en las estaciones depuradoras de aguas residuales ya que no están preparadas para este tipo de contaminación. Lo que puede llevar a una alteración de los sistemas acuáticos y a provocar efectos sobre la salud humana. Aunque, la comunidad científica lleva estudiando esta situación décadas, hay un menor conocimiento de esta problemática por parte de la sociedad, con acceso limitado a la información muy dispersa en distintas y varias fuentes de datos. La revisión de la bibliografía científica publicada a nivel tanto nacional como internacional a día de hoy nos proporcionará evidencias para respaldar las afirmaciones comentadas con anterioridad y permitirá resumir la información existente.

2.3. Objetivos

2.3.1. Objetivo general

- Seleccionar bibliografía que ponga en evidencia el efecto de los antibióticos en ecosistemas acuáticos debido a actividades antropogénicas.

2.3.2. Objetivos específicos

- Identificar los efectos sobre los ecosistemas acuáticos afectados por la presencia de antibióticos
- Describir las repercusiones en la salud humana de la presencia de antibióticos en sistemas acuáticos
- Identificar los entornos más proclives a la aparición de genes de resistencia en bacterias
- Identificar las estrategias de prevención y eliminación presentadas en la bibliografía seleccionada.

3. METODOLOGÍA

Cuando hablamos de un trabajo de fin de grado de revisión bibliográfica, hay que tener en cuenta que consiste en buscar, recopilar y analizar datos, tanto de carácter cuantitativo como cualitativo. Estos datos proceden de otras investigaciones que se han realizado con anterioridad y, pretende integrar conocimientos preexistentes e intentar dar un nuevo punto de vista.

Según la Colaboración de Cochrane, los elementos fundamentales de una revisión sistemática son, por este orden, un conjunto de objetivos claramente establecidos, con unos criterios de elegibilidad previamente establecidos, con una metodología explícita y reproducible, una búsqueda que permita identificar todos los estudios que cumplan los criterios previamente expuestos y, por último, una síntesis de las características y los resultados de los estudios incluidos (Higgins & Green, 2011).

Además, desde el punto de vista de los objetivos de este TFG, supone la aproximación a una situación relevante desde el punto de vista de la salud de los individuos, familias y/o comunidades (Pino & Martínez, 2016).

Con todo ello, una de las principales tareas que debemos llevar a cabo es la búsqueda sistemática de documentos científicos relacionados con nuestro tema. Nuestra búsqueda debe ser amplia para así poder abarcar tanto fuentes nacionales como internacionales, además debe estar bien planificada mediante el diseño de una búsqueda estructurada para poder satisfacer la identificación de los aspectos relevantes a nuestro estudio.

Para poder llevar a cabo todo lo que hemos expuesto anteriormente, el presente trabajo de fin de grado sigue las instrucciones ofrecidas por Rafael del Pino Casado y José Ramón Martínez Riera en su libro "Manual para la elaboración y defensa de un trabajo de fin de grado en ciencias de la salud" (Pino & Martínez, 2016) y que son aplicables a los trabajos de fin de grado de otras áreas de conocimiento.

3.1. Formulación de las preguntas de búsqueda

Generalmente, partimos de un problema de investigación, el cual consiste en una laguna sobre un determinado aspecto dentro de un área de conocimiento. Del problema de investigación surgen el propósito de la revisión (Pino & Martínez, 2016).

Polit y Beck definen el propósito de un estudio de investigación como un enunciado que establece la dirección o finalidad general del estudio (Polit & Beck, 2008).

La construcción de las preguntas de búsqueda aporta más claridad para dirigir la estrategia de búsqueda hacia el propósito tratado, dichas preguntas son la base sobre la que se definen la estrategia y los términos de la búsqueda (Pino & Martínez, 2016).

Por lo que, si en nuestro trabajo queremos averiguar qué es lo que sucede con la contaminación de sistemas acuáticos por antibióticos, cuáles son los efectos sobre dichos ecosistemas, cuáles son efectos en la salud humana y los entornos más proclives para que se dé la aparición de los genes de resistencia y cuáles son las distintas estrategias de prevención que poseemos. Nuestra pregunta y estrategia de búsqueda estará dirigida por estos objetivos.

Nuestra pregunta de búsqueda es: ¿Existe información suficiente, con evidencia científica, que describa el efecto de los antibióticos en los ecosistemas acuáticos y su repercusión en la salud humana?

3.2. Elección de los lugares de búsqueda

En segundo lugar, hay que elegir los lugares de búsqueda apropiados para consultar la información necesaria, y para ello hay que elegir fuentes que tengan información actual y de interés en nuestro trabajo (Pino & Martínez, 2016).

Debemos mencionar que la búsqueda bibliográfica en un TFG de revisión de la literatura deber estar planificada, justificada para que la podamos explicar con claridad, y ser suficientemente amplia. Estas condiciones se cumplen con el diseño previo de una estrategia adecuada de búsqueda (Pino & Martínez, 2016).

Para poder llevar a cabo una búsqueda eficiente, vamos a emplear la base de datos "Scopus", debido a que está compuesta de varias disciplinas científicas y esto nos facilita la búsqueda con una mayor rapidez y comodidad, de un gran volumen de artículos científicos, publicados en todo el mundo. Esta base de datos tiene varias ventajas, como la facilidad de navegación, incluye el 100% de lo que está indexado en MEDLINE y otras bases de datos, facilita el acceso a los documentos citados y está abierto a Internet, entre otros (De Granda-Orive *et al.*, 2011).

3.3. Definición de los criterios de búsqueda

En tercer lugar, necesitamos definir los criterios de búsqueda pertinentes para poder clasificar y ver si la información que hemos recabado es útil para nuestro TFG, esto lo vamos a realizar mediante los criterios de inclusión o exclusión. Estos criterios detallan las características que deben tener los artículos de investigación para ser incluidos en la revisión bibliográfica (Pino & Martínez, 2016).

3.4. Confección de las cadenas de búsqueda

En cuarto lugar, necesitamos realizar cadenas de búsqueda adecuadas para encontrar la mayor cantidad de información útil para nuestro estudio, para ello debemos combinar términos de búsqueda y operadores lógicos para que las preguntas de búsqueda de búsqueda se traduzcan correctamente. Por un lado, tenemos los términos de búsqueda, son palabras semejantes a las palabras clave y con ellos podemos hacer un tipo de búsqueda en la cual los términos que se ingresan representan el concepto que queremos encontrar en los artículos de investigación, además de ajustarse al perfil del proceso de búsqueda, y, por otro lado, tenemos los operadores booleanos lógicos (“and”, “not”, “or”), que son nexos lógicos entre los términos de búsqueda, los cuales explican la relación entre los conceptos de búsqueda.

Las cadenas de búsqueda pueden incorporar símbolos para facilitar la investigación, como las comillas que sirven para buscar una concordancia exacta desde una palabra hasta una frase completa, los asteriscos hacen coincidir cualquier número de caracteres, es decir, sirven para comprender palabras de idéntica raíz y los paréntesis hacen coincidir los caracteres que están incluidos dentro de ellos.

En nuestro caso, la estructura se compone de [“aquatic system” and pollution and drugs].

3.5. Creación de límites o filtros adicionales

En quinto y último lugar, es necesario crear unos límites o filtros adicionales para sintetizar, aún más, toda la información que hemos obtenido, para ellos nos podemos

basar, por ejemplo, en el tipo de revista científica que vamos a leer, el área de estudio, la fecha de publicación o la disponibilidad del artículo (Pino & Martínez, 2016).

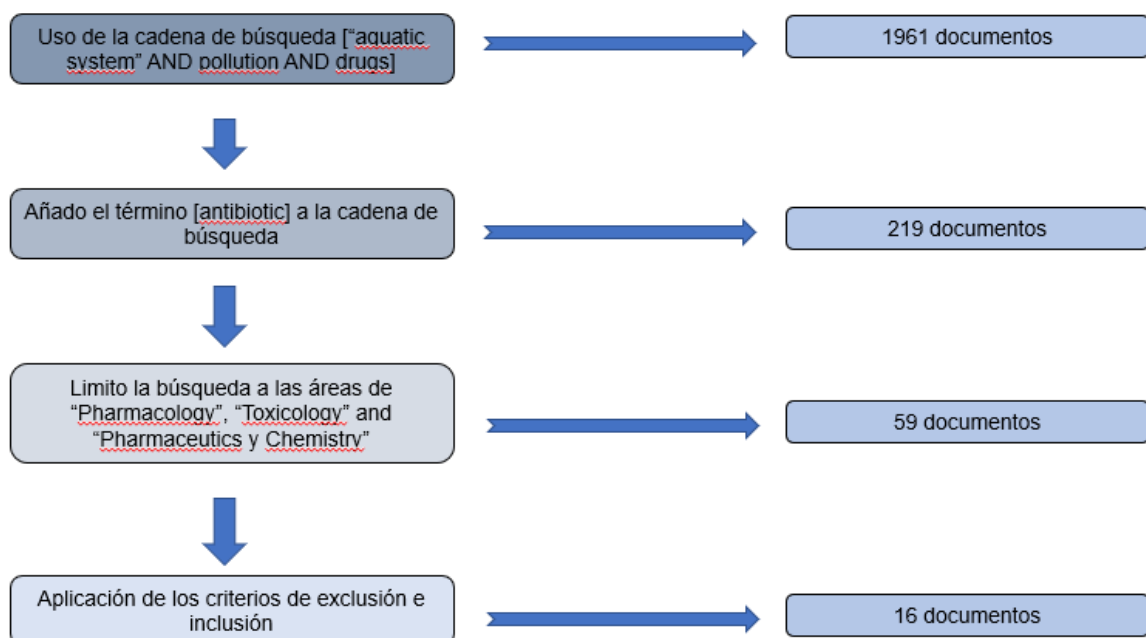
En nuestro caso, admitimos artículos de investigación publicados en lengua inglesa, y, estimamos pertinente agregar el término “antibiotic”, al proceso de búsqueda ejecutado gracias a la estructura que hemos compuesto en el paso anterior para concretar aún más la búsqueda. Además, admitimos artículos pertenecientes a las áreas de Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics y Chemistry, para terminar de acotar la búsqueda.

Para refinar la selección, se recomienda realizar la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión a cada estudio conforme con el siguiente orden de preferencia, en primer lugar, examinamos el título, sino es suficiente para tomar una decisión, seguimos con la revisión del resumen, y si todo esto es insuficiente, revisamos el texto completo (Pino & Martínez, 2016). En nuestro caso, se aceptan artículos referentes a la contaminación de distintos sistemas acuáticos por antibióticos mientras que excluimos los que estudian la acción de otros compuestos farmacéuticos o iones, en entornos marinos y costeros. Además, aceptamos los artículos pertinentes a las soluciones y peculiaridades de esta contaminación, así como de su amenaza para la salud humana. Por último, aceptamos los artículos sobre tecnologías alternativas de control de agua.

4. RESULTADOS

A la hora de realizar un trabajo de fin de grado de revisión bibliográfica, lo más ventajoso es documentar el proceso de búsqueda para poder tener un número de investigaciones científicas significativo respecto a nuestro tema. Tras seleccionar y evaluar los distintos tipos de documentos científicos, procedemos a realizar un resumen de cada uno de ellos, el cual nos va a permitir sintetizar, comparar y extraer conclusiones.

En consecuencia, los pasos que hemos seguido en la metodología de búsqueda anteriormente explicada y llevada a cabo en nuestro trabajo, los resultados que hemos obtenido se explican a continuación:



Esquema 2. Diagrama de flujo básico de la selección de los estudios empleados en esta revisión

Al aplicar los criterios de inclusión y exclusión, hemos descartado 41 documentos, de los cuales 18 fueron revisados y excluidos solo a partir del título y los 25 restantes a partir del resumen y la introducción.

En definitiva, dieciséis son los documentos científicos revisados para resolver la hipótesis propuesta y alcanzar los objetivos establecidos en el trabajo.

Entre estos documentos, tenemos revisiones y artículos científicos publicados entre 2009 y 2020, cuyas proporciones se muestran en los siguientes gráficos:

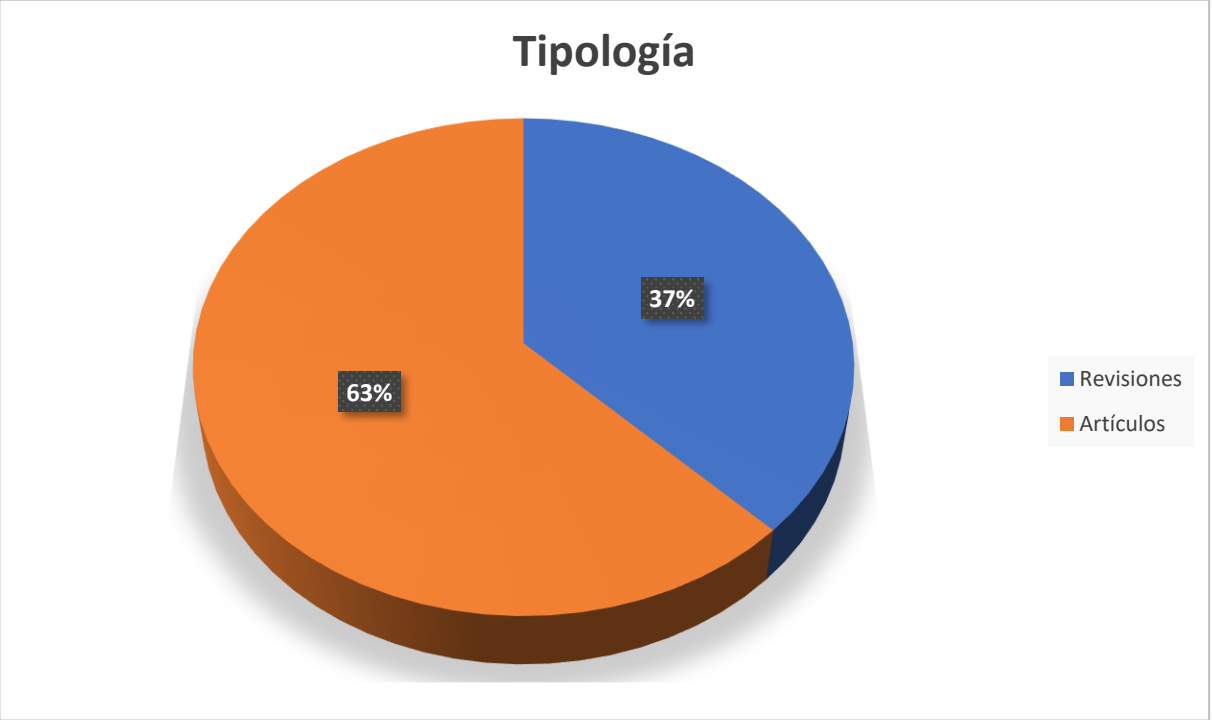


Gráfico 1. Proporción de la tipología de los documentos científicos



Gráfico 2. Año de publicación de los documentos científicos

A continuación, se expone la información más relevante de los documentos científicos anteriores de forma resumida, la cual es analizada mediante síntesis narrativa (Pino & Martínez, 2016):

- Khan *et al.*, (2020), exponen que hay trazas de contaminantes orgánicos detectados en el medio ambiente a los que hay que ponerle especial atención debido a que son dañinos tanto para los humanos como para el ambiente. Dicho esto, explican una serie de técnicas para poder tratar los productos farmacéuticos procedentes de aguas residuales hospitalarias, especialmente los antibióticos, ya que son unos compuestos muy difíciles de manipular con tratamientos convencionales. Además, dan a conocer que los tratamientos individuales son menos efectivos que una combinación de procesos, y comparan diferentes estrategias adoptadas por diferentes países y su eficacia.
- Lu & Lu, (2019), ponen de manifiesto que en las granjas utilizan una gran cantidad de antibióticos, en consecuencia, el estiércol generado posee un alto porcentaje de genes de resistencia a antibióticos (ARG). En estudios anteriores muestran que el tiempo, la temperatura, entre otros factores son clave a la hora de digerir los ARG. De este modo, combinan la fórmula físico-química de la transferencia de metales pesados en el estiércol para optimizar los factores clave. Consecuentemente, comprueban que, el efecto sinérgico de los tratamientos aplicados ha dado resultado con grandes cambios en los niveles de antibióticos, además de modificar las comunidades bacterianas de las muestras.
- Evariste *et al.*, (2019), explican los efectos sobre las comunidades microbianas intestinales debidos a la exposición de especies de agua dulce a diferentes clases de contaminantes (por ejemplo, pesticidas, farmacéuticos, metales pesados, ...). Con ello, nos proporcionan una visión global de los datos disponibles de estudios de la microbiota intestinal aplicados a la ecotoxicología marina, los estudios recopilados se basan en la secuenciación del ARNr 16S para determinar los efectos generados por la contaminación antropogénica en el microbioma intestinal de distintos organismos relevantes.
- Nnadozie & Odume, (2019), consideran que los ambientes de agua dulce están entre los entornos naturales más susceptibles de sufrir una contaminación por antibióticos, por consiguiente, estos ecosistemas se han convertido en focos

de la transferencia horizontal de genes de resistencia a antibióticos. De esta manera, investigan tanto la abundancia y la prevalencia de estos genes, como los efectos de la degradación y la dilución en el destino de las bacterias resistentes a antibióticos, así como su posible transmisión a humanos.

- Pazda *et al.*, (2019), realizan una revisión de los principales genes de resistencia a antibióticos derivados de antibióticos betalactámicos, macrólidos, quinolonas, tetraciclinas, sulfonamidas y trimetropim, detectados en el afluyente, vertido y en el fango activo de estaciones depuradoras de aguas residuales en diferentes países. Además, realizan una comparación entre los tratamientos convencionales y las tecnologías alternativas, como los biorreactores de membrana siendo este último una alternativa prometedora al tratamiento con fango activo.
- Marti *et al.*, (2018), analizan la abundancia de cuatro genes de resistencia a antibióticos y su relativa composición en la comunidad bacteriana de tres especies de peces de agua dulce procedentes de dos reservorios con distintos niveles de contaminación antropogénica. También se recogieron muestras de agua y sedimentos para determinar el nivel de contaminación por antibióticos en el ambiente circundante. Consecuentemente, comprueban la presencia de estos cuatro genes en las muestras de mucosa intestinal de estos peces mediante una qPCR, además de cuantificar el ARNr 16S para confirmar la presencia de ADN bacteriano en todas las muestras. Finalmente, determinaron una alta contaminación de eritromicina y claritromicina, en agua y sedimentos respectivamente.
- Proia *et al.*, (2018), estudian la resistencia a antibióticos en el río Sena debido a las actividades agrícolas en su fase inicial y la urbanización en la última etapa del mismo mediante la recolección de cuatro muestras durante un año. Con ello, quieren demostrar que tras la liberación de aguas residuales al río se produce un incremento de la presencia de *Escherichia coli*, reflejado en la comunidad bacteriana perteneciente al río y en su propio resistoma.
- Schafhauser *et al.*, (2018), explican que la eritromicina fue el primer antibiótico usado clínicamente para tratar las infecciones en humanos, con el tiempo se ha introducido en el ambiente por las heces y la orina de los humanos en forma de metabolitos que no han podido ser degradados. De esta manera, revisan las

concentraciones de eritromicina en diferentes sistemas acuáticos en todo el mundo y sus daños a la biota, tanto terrestre como acuática.

- Watts *et al.*, (2017), consideran que las granjas acuícolas se han convertido en focos de genes de resistencia antimicrobiana donde ocurre recombinación genética significativa, que puede moldear la evolución de los futuros perfiles de resistencia. Además, inciden en que el uso prolongado de antibióticos en acuicultura puede incrementar la presión selectiva de las poblaciones bacterianas. Por consiguiente, explican que hay una transferencia de genes de resistencia mayor en los sistemas acuícolas abiertos, en comparación con los cerrados, los cuales controlan mejor los distintos parámetros ya que no se ven afectados por el medio exterior, aunque puede ocurrir que los antibióticos se acumulen en el sistema.
- Menz *et al.*, (2017), analizan los efectos de una mezcla de farmacéuticos localizada en el efluente de una estación de tratamiento de aguas en Europa en estudios anteriores. Con ello, diseñaron una mezcla sintética de múltiples componentes (18 APIs) de acuerdo con los datos comunicados por Andreozzi *et al.*, (2003). Probaron la toxicidad de la muestra para las comunidades microbianas de la estación de tratamiento y para especies de bacterias seleccionadas (*Pseudomonas putida* y *Vibrio fischeri*). Consecuentemente, tanto las comunidades microbianas de la estación como las seleccionadas sufrieron una inhibición de su crecimiento o un impacto directo en su metabolismo causado por antibióticos ya que la presencia de otros farmacéuticos es prácticamente insignificante.
- Wang *et al.*, (2017), investigan la correlación entre los diferentes pasos en el tratamiento de las aguas residuales y la estructura de las comunidades bacterianas para averiguar donde se eliminan los antibióticos y los genes de resistencia a los mismos, así como el papel de los elementos genéticos móviles en la transferencia de la resistencia. De esta manera, ven que la eliminación de los antibióticos es efectiva, ocurre en diferentes pasos y su eficacia varía según el tipo de antibiótico, pero es ineficaz a la hora de eliminar bacterias y los determinantes de la resistencia. También, confirman cambios significativos en las comunidades bacterianas durante los procesos de tratamiento de las aguas, y, por último, comprueban la importancia de los integrones para la difusión de la resistencia en ambientes acuáticos.

- Proia *et al.*, (2016), analizan la incidencia de los genes de resistencia a antibióticos (ARGs) en los tapetes microbianos de un río pequeño de la cuenca del mediterráneo contaminado por cuatro plantas de tratamiento de aguas residuales, inciden en que cuanto mayor sea el porcentaje de agua de la planta mayores serán los efectos observados en los ríos. En consecuencia, comprobaron gracias a análisis estadísticos, que hay una gran presencia de ARGs usualmente en concentraciones superiores en los tapetes microbianos situados aguas abajo en comparación con los de río arriba.
- Barra Caracciolo *et al.*, (2015), estudian como los productos farmacéuticos pueden alterar las poblaciones microbianas naturales del medio que habitan, y la velocidad a la que son eliminados ya que depende de la presencia de microorganismos capaces de degradarlos. Para ello, realizan una revisión de estudios sobre los efectos sobre las comunidades microbianas de los antibióticos, biocidas y otros farmacéuticos (ibuprofeno, paracetamol, ...), ya que son los compuestos que se encuentran con mayor frecuencia como contaminantes ambientales.
- Andersson & Hughes, (2012), estudian la evolución de la resistencia a los antibióticos en concentraciones subletales, además de identificar donde se seleccionan las bacterias resistentes y cuáles son los mecanismos de resistencia más frecuentes en estas concentraciones mínimas de antibióticos. Para ello, realizaron pruebas de tres antibióticos diferentes en el laboratorio donde midieron todos los parámetros.
- Kümmerer, (2009a, 2009b), realiza una revisión bibliográfica del conocimiento existente sobre los antibióticos dividido en dos partes. La primera parte de la revisión está centrada en la entrada, el destino, la ocurrencia y los efectos de estos productos farmacéuticos en el medio acuático, mientras que la segunda parte trata sobre la resistencia en distintos sistemas acuáticos causada por estos fármacos.

A continuación, de manera resumida se muestra en la siguiente tabla qué objetivos podemos conseguir basándonos en los resultados que hemos obtenido en nuestra búsqueda bibliográfica:

Objetivos Autores	Efectos en sistemas acuáticos	Efectos en la salud de las personas	Entornos donde localizar los genes de resistencia	Recomiendan estrategias de recuperación / eliminación de antibióticos
Khan <i>et al.</i> , (2020)				
Lu & Lu, (2019)				
Evariste <i>et al.</i> , (2019)				
Nnadozie & Odume, (2019)				
Pazda <i>et al.</i> , (2019)				
Marti <i>et al.</i> , (2018)				
Proia <i>et al.</i> , (2018)				
Schafhauser <i>et al.</i> , (2018)				
Watts <i>et al.</i> , (2017)				
Menz <i>et al.</i> , (2017)				
Wang <i>et al.</i> , (2017)				
Proia <i>et al.</i> , (2016)				
Barra Caracciolo <i>et al.</i> , (2015)				
Andersson & Hughes, (2012)				
Kümmerer, (2009a, 2009b)				

Tabla 2. Resumen del contenido de los artículos para respaldar nuestros objetivos

En la tabla 3, podemos ver de manera resumida una lista de información a destacar de cada uno de los documentos científicos y, a la vez, comprobamos nuestros objetivos:

<p>Efectos en los sistemas acuáticos</p>	<ul style="list-style-type: none"> - La microbiota intestinal de peces cebra varía al exponerlos a diferentes contaminantes, siendo significativo el descenso de las proteobacterias, mientras que las poblaciones de firmicutes y bacteroidetes tienen varios patrones de respuesta (Evariste <i>et al.</i>, 2019). - Se analizó el moco intestinal de tres especies de agua dulce, la carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>) recogida en el río Foix, mientras que el barbo de Graells (<i>Luciobarbus graellsii</i>) y la trucha común (<i>Salmo trutta</i>) fueron extraídas de la Llosa del Cavall; y se determinó que las comunidades bacterianas de las tres especies variaban considerablemente debido a que los antibióticos predominantes en ambos ríos son diferentes. En el río Foix fueron la eritromicina y la sulfametoxazol, en tanto que, en la Llosa del Cavall predomina el ciprofloxacino (Marti <i>et al.</i>, 2018). - La concentración de ARGs en el río Sena, se ve afectada por la incorporación de afluentes de estaciones depuradoras, así como, de residuos de uso doméstico; además, de ser mayores que las cuantificadas en otros estudios y se mantienen a lo largo de 8 km (Proia <i>et al.</i>, 2018). - Se revisaron las concentraciones de eritromicina en toda la literatura disponible sobre su concentración, desde los ecosistemas epicontinentales hasta en las aguas marinas, incluyendo el agua potable y se determinó que la mayor concentración de este antibiótico se halló en un río urbano en Taiwán que recibe diariamente efluentes de la industria farmacéutica, hospitales y de vertidos domésticos (Schafhauser <i>et al.</i>, 2018). - El 70-80% de los antibióticos que se le vierten en los sistemas acuícolas como alimentación para los peces son excretados al agua, dicho material puede seleccionar bacterias resistentes, si
--	--

hablamos de un sistema acuícola abierto esta resistencia se puede transferir a los demás habitantes del medio; en cambio los sistemas acuícolas cerrados aíslan sus procesos del resto del ambiente y controlan los parámetros interiores para que los peces se desarrollen aunque puede ocurrir un proceso de acumulación de antibióticos que persiste en el tiempo (Watts *et al.*, 2017)

- Tanto la inhibición del crecimiento en las comunidades microbianas procedentes de la estación depuradora como de *Pseudomonas putida* y *Vibrio fisheri* se deben a las altas concentraciones de fluoroquinolonas donde destacan el ofloxacino y el ciprofloxacino (Menz *et al.*, 2017).

- Hay un incremento en las concentraciones de nutrientes justo después de la descarga de los efluentes procedentes de las estaciones depuradoras tanto en ríos pequeños como en ríos grandes, este cambio en la hidrología y en la química del agua se ve reflejado en las propiedades estructurales de las comunidades bentónicas (Proia *et al.*, 2016).

- Las sulfonamidas y las tetraciclinas puede afectar a los microorganismos del suelo y a las actividades enzimáticas y están muy diseminados por el medio ambiente; en cambio, la tilosina perteneciente al grupo de los macrólidos, puede disiparse rápidamente en suelos que contienen una alta concentración de mezcla de antibióticos y ser de los primeros en degradarse (Barra Caracciolo *et al.*, 2015).

- La sensibilidad de las algas a los antibióticos varía ampliamente, por ejemplo, si hacemos un test de toxicidad a *Selenastrum capricornutum* vemos que es menos sensible a los antibióticos que otras microalgas como *Microcystis aeruginosa*. Esto es un problema debido a que las algas son la base de la cadena trófica, entonces cualquier cambio mínimo en la población de algas puede afectar al balance de todo el sistema acuático (Kümmerer, 2009a).

<p>Efectos en la salud humana</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Los humanos pueden adquirir la resistencia a los antibióticos tanto directamente procedente de agua potable contaminada por bacterias resistentes, así como en áreas recreativas (ríos, lagos, ...), donde las bacterias pueden entrar, transferir los genes de resistencia a la microbiota del huésped (Nnadozie & Odume, 2019). - Uno de los mayores inconvenientes de la entrada al medio acuático de antibióticos es el enriquecimiento y la propagación de la resistencia de manera que comprometa al uso de medicamentos importantes para la salud humana y animal (Barra Caracciolo <i>et al.</i>, 2015).
<p>Localización de los genes en bacterias</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Detectan 158 genes de resistencia a antibióticos en el estiércol procedente de granjas de cerdos, debido a la alimentación de los mismos con alimentos que contienen una alta cantidad de antibióticos (Lu & Lu, 2019). - Los sistemas acuáticos de agua dulce son los que tienen más bacterias resistentes, en especial, los ríos (>98%), seguidos por los lagos (>77%). Esto indica que estos sistemas son potentes reservorios de la resistencia (Nnadozie & Odume, 2019). - Se ha observado que las especies bacterianas resistentes detectadas en estaciones depuradoras pertenecen a los indicadores comunes por contaminación fecal (<i>Escherichia coli</i>). En la misma línea, detectaron cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina y <i>Enterococcus spp</i> resistente a la vancomicina (Pazda <i>et al.</i>, 2019). - La liberación de bacterias fecales, principalmente <i>Escherichia Coli</i>, puede cumplir un papel a la hora de incrementar el número de bacterias heterotróficas resistentes a los antibióticos aunque su capacidad de transferir la resistencia no se ha podido demostrar, además se han encontrado niveles

elevados de tetraciclina correlacionados positivamente con sus ARGs correspondientes (Proia *et al.*, 2018).

- Actualmente, entre el 30% y el 70% de la biomasa de peces termina como residuos, que se pueden reciclar como alimento, esto supone un problema debido a las preocupaciones sobre la transmisión de bacterias resistentes, así como la bioacumulación de antibióticos y la transmisión entre especies patógenas (Watts *et al.*, 2017).

- En las muestras de agua recolectadas se identificaron genes de resistencia para ocho antibióticos (quinolonas, cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina, aminoglucósidos, sulfonamidas, betalactámicos y carbapenem), así como integrones, estos últimos ayudan que los ARGs se integren en el genoma de su hospedador. La presencia de estos genes indica la prevalencia de casi todas las clases de antibióticos en los sistemas acuáticos y demuestra el verdadero problema de este tipo de contaminación (Wang *et al.*, 2017).

- La concentración de ARGs detectados en el cauce del río va variando dependiendo de la zona en la que se extrae la muestra a analizar, y la mayor medida se realizó aguas abajo, cabe destacar, que si recogemos muestras del nacimiento del río donde todavía no hay contaminación encontramos niveles bajos pero detectables de ARGs producidos de manera natural por el medio ambiente (Proia *et al.*, 2016).

- Por un lado, las bacterias resistentes son seleccionadas en los humanos / animales tratados con antibióticos donde alcanzan concentraciones superiores a la Concentración Inhibitoria Mínima (MIC). Esto es cierto solo para algunos tipos de infecciones, por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis* encontramos casos en que los bacilos son seleccionados de novo, *Escherichia coli* o *Salmonella*

	<p><i>enterica</i> son resistentes a las fluoroquinolonas por un mecanismo parecido. Por otro lado, hay resistencias mediadas por plásmidos (representan la mayor proporción de todos los mecanismos), donde el paciente o bien puede estar infectado con las bacterias susceptibles y no desarrollar la resistencia o estar infectado con la cepa resistente y el antibiótico, por consiguiente, el tratamiento causa un enriquecimiento del mutante y se desarrolla la resistencia (Andersson & Hughes, 2012).</p> <p>- La relación entre la presencia de antimicrobianos y el desarrollo de bacterias resistentes así como su transferencia a concentraciones bajas no ha sido establecida aún, el conocimiento de las concentraciones mínimas inhibitorias de los antimicrobianos es escaso, especialmente cuando hablamos de resistencia; aunque hay pruebas de que la resistencia está presente en los ambientes naturales y que hay intercambio entre bacterias aisladas de diferentes hábitats, las cuales comparten un conjunto común de determinantes de resistencia fácilmente intercambiables (Kümmerer, 2009b).</p>
Recomendaciones	<p>- Utilizar combinaciones de tratamientos para reducir al máximo la concentración de fármacos en las estaciones depuradoras de agua, por ejemplo, adicionar carbón activo, emplear lodos activados por biofilms, utilizar biofiltros compuestos por biofilms tanto fijos como con un lecho móvil, son algunas opciones prometedoras a la hora de la eliminación de estos microcontaminantes (Khan <i>et al.</i>, 2020).</p> <p>- Métodos más eficientes para tratar las aguas residuales procedentes de hospitales, industrias y de origen doméstico. Reducir el uso de antibióticos en las granjas pueden disminuir la presión selectiva así como proporcionar una salud animal sostenible (Nnadozie & Odume, 2019).</p> <p>- Los biorreactores de membrana pueden eliminar más de un 99% de las partículas sólidas en suspensión, evitando que dichas partículas puedan formar aglomerados con las bacterias y</p>

	<p>proporcionarles así protección. Además, se pueden combinar con luz ultravioleta y procesos de fotocatalisis para incrementar el efecto bactericida y mejorar la eliminación de los genes de resistencia (Pazda <i>et al.</i>, 2019).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Los tratamientos convencionales de aguas residuales eliminan casi el 100% de los niveles de ciprofloxacino, eritromicina y sulfametoxazol, mientras que las cefalexina solo se elimina en un 44% durante estos procesos (Wang <i>et al.</i>, 2017). - El uso de antibióticos para el fomento del crecimiento representa una parte sustancial del uso total de los mismos, su prohibición reduciría drásticamente el consumo global y, por ende, la presión selectiva. La liberación de antibióticos en el agua a través de la orina se podría evitar o inactivar estos farmacéuticos río debajo de su sitio de liberación. Esto último es fácilmente alcanzable con un tratamiento de ozono en las estaciones depuradoras, además de que, con este tratamiento todos los tipos de agentes causantes de patologías infecciosas son eficientemente inactivados (Andersson & Hughes, 2012). - Si nos fijamos en el ciclo de vida de los productos farmacéuticos, tenemos tres ámbitos de actividad donde se puede actuar para implementar soluciones a este problema: desarrollo de los farmacéuticos (desarrollo de los APIs), manejo de los antibióticos (cambios en los métodos de preinscripción, utilización y eliminación) y control técnico de las emisiones en las zonas urbanas de gestión del agua (Kümmerer, 2009b).
--	--

Tabla 3. Información disponible con la cual constatamos nuestros objetivos

5. DISCUSIÓN

Los documentos científicos revisados para este trabajo de fin de grado, tanto artículos científicos como revisiones bibliográficas, son actuales y tienen un alcance nacional e internacional, de modo que, podríamos decir que la metodología trazada y empleada a la hora de realizar este trabajo es precisa y completa. De manera que, nos ha permitido identificar aspectos clave, los cuales guardan referencia a nuestras preguntas de búsqueda, y con todo ello hemos podido contestar a las mismas, verificar nuestra hipótesis y conseguir los objetivos marcados anteriormente, de igual modo, ha ayudado a plantear la identificación de aspectos relevantes, con los cuales, seguir otras líneas de investigación.

Después de realizar un análisis y síntesis de la bibliografía científica utilizada, podemos afirmar que la intensificación de las actividades antropogénicas ha incrementado las concentraciones de bacterias resistentes a los antibióticos así como sus respectivos genes (Marti *et al.*, 2018; Proia *et al.*, 2016), de forma similar, el uso de los antibióticos de manera indiscriminada conlleva una liberación de los mismos en los ambientes acuáticos y puede tener consecuencias en las comunidades bacterianas autóctonas, sobre todo en ecosistemas de agua dulce (Proia *et al.*, 2018). Si prestamos atención a los consorcios microbianos gastrointestinales de peces de agua dulce, vemos que una de sus principales funciones, es mejorar la protección del individuo en respuesta de los diferentes contaminantes medioambientales, en cambio, si prestamos atención a los metabolitos generados, pueden modular las vías toxicológicas y generar una mayor respuesta en el organismo anfitrión (Evariste *et al.*, 2019). En referencia a lo expuesto anteriormente, no es una sorpresa que los peces bajo una producción intensiva son tratados con antibióticos, usados como agentes profilácticos y como promotores del crecimiento (Marti *et al.*, 2018), estas prácticas incrementan la densidad de población, así como la contaminación de los nutrientes, lo que nos lleva a una mala calidad del agua, todo este conjunto de actos conllevan a una mayor probabilidad de brotes de agentes patógenos, por ende, la acuicultura ha sido designada como uno de los principales focos de genes de resistencia a antibióticos (Watts *et al.*, 2017).

La mayoría de los sistemas acuáticos epicontinentales tienen una contaminación por estaciones depuradoras de agua, las cuales no tienen la maquinaria necesaria para

eliminar por completo estos microcontaminantes. Al realizar un análisis del agua procedente de ríos contaminados, podemos ver como hay una concentración considerable de bacterias del género *Enterobacter* (localizadas en el tracto digestivo de humanos y animales), como pasa en la superficie del agua del río Sena (Proia *et al.*, 2018). Además, debemos tener en cuenta que la sensibilidad de a los antibióticos de los organismos, varía dependiendo del tipo de antibiótico a los que son expuestos. Como organismos principales del medio acuático, cabe destacar, las microalgas presentes en estos ecosistemas, estos fármacos pueden causar toxicidad e interferir en el metabolismo de estas algas, lo que nos causa un problema mayor, ya que, las algas son la base de la cadena alimentaria, por lo que un descenso en su población puede causar un desbalance de todo el sistema acuático (Kümmerer, 2009a).

En definitiva, aunque haya una pequeña cantidad de antibióticos en el medio sintetizada de manera natural, comprobamos que la mayor parte de los contaminantes entra en el medio debido a las actividades antrópicas y, en general, por la mala gestión de las estaciones depuradoras de agua. Actualmente, se han vuelto un componente habitual de los sistemas acuáticos, contaminando desde algas hasta peces, dentro de los cuales puede ocurrir la transferencia de los genes, y así transmitir la resistencia a los humanos, aunque este escenario no está muy comprobado.

Sin embargo, el conocimiento sobre la transmisión de las bacterias resistentes a los antibióticos desde el ambiente a los humanos es muy escasa. Se consideran diferentes escenarios, como, por ejemplo, el uso de ríos y lagos como áreas recreativas (Nnadozie & Odume, 2019) o en el agua potable que llega a nuestros hogares (Kümmerer, 2009b). Por todo ello, los gobiernos están ahora considerando la resistencia a los antibióticos como un problema prioritario de salud pública, debido a que se pueden ver comprometidos muchos medicamentos esenciales para preservar la salud (Barra Caracciolo *et al.*, 2015).

La resistencia a los antibióticos constituye una gran amenaza para la salud pública y debería ser reconocida como tal en la actualidad, en consecuencia, la Unión Europea recomienda prudencia a la hora de utilizar los antibióticos (Barra Caracciolo *et al.*, 2015).

De esta forma, podemos asegurar que existe una laguna de información en referencia a los efectos que causa la contaminación por antibióticos en la salud de las personas.

Mejorar el conocimiento que tiene la mayoría de la población del uso adecuado de los medicamentos y del efecto que puede tener un exceso en el uso de los mismos en los ecosistemas debería ser una prioridad para los responsables de Salud Pública. Además, deberían realizarse más investigaciones en este ámbito para poder entender mejor el impacto que tendrá la resistencia a los antibióticos a nivel mundial.

Cuando realizamos análisis de los distintos entornos en los cuales podemos identificar antibióticos, determinamos la presencia de bacterias resistentes y genes de resistencia a los mismos, los cuales por sí solos son más peligrosos para el ambiente que los antibióticos (Lu & Lu, 2019).

Estos genes pueden ser identificados en diferentes entornos, como, por ejemplo, en granjas de cerdos y dentro de las mismas hasta 158 tipos distintos (Lu & Lu, 2019), otro punto a tener en cuenta, es el uso del 30-70% de los peces como alimento para otros peces y crustáceos lo que puede llevar a una aglomeración de estos genes en los sistemas acuícolas (Watts *et al.*, 2017), aunque como bien sabemos la principal fuente de contaminación son las estaciones depuradoras de agua donde se han identificado cepas resistentes de *Escherichia coli* aumentando el número de bacterias heterótrofas resistentes (Pazda *et al.*, 2019; Proia *et al.*, 2018).

Haciendo referencia a lo expuesto anteriormente, comprobamos que 70-95% de los sistemas epicontinentales son potenciales reservorios de la resistencia (Nnadozie & Odume, 2019), además se pueden identificar hasta 8 tipos de antibióticos distintos de una sola muestra de agua lo que nos indica la presencia del 90% de las clases de antibióticos en el medio, así como la presencia de integrones (Wang *et al.*, 2017), de ahí que se tenga constancia de que las concentraciones oscilan a lo largo del cauce de un río siendo superiores al final del mismo (Proia *et al.*, 2016).

Es necesario incidir en que si se alcanzan concentraciones superiores a la Concentración Mínima Inhibitoria reconocemos patógenos capaces de ser seleccionados *de novo*, por ejemplo, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* o *Mycobacterium tuberculosis* lo que los vuelve resistentes. En la misma línea, los plásmidos representan la mayor proporción de mecanismos de adquisición de la resistencia, donde el tratamiento causa un enriquecimiento del patógeno desarrollando la resistencia (Andersson & Hughes, 2012).

Es conveniente especificar que la resistencia a los antibióticos es un fenómeno sorprendente pero no es nuevo, ya hemos mencionado que la resistencia es un proceso conservado a nivel evolutivo, por lo que, en prácticamente cualquier parte donde realicemos una investigación vamos a identificar niveles mínimos. No obstante, sigue siendo preocupante porque se está generando niveles superiores y acelerando a un ritmo en el que las herramientas disponibles para tratar el agua son insuficientes e ineficientes en esa tarea (Kümmerer, 2009b).

Cabe destacar, que las investigaciones relacionadas con la presencia de resistencia han aumentado en los últimos 10 años. Gracias a las nuevas investigaciones y datos recopilados se está empezando a comprender la magnitud del problema, aunque aún quedan muchos vacíos de información, como cuáles son las concentraciones mínimas para cada tipo de antibiótico, estos datos ayudarían a evitar el abuso por parte de la población de estos medicamentos, pudiendo así retrasar la aparición de la resistencia.

Como hemos podido comprobar, los tratamientos convencionales son insuficientes a la hora de eliminar algunos tipos de antibióticos. Wang *et al.*, (2017), comprobó la eficacia de las estaciones depuradoras y determinó que pueden eliminar casi el 100% de ciprofloxacino, eritromicina y sulfametoxazol, en cambio, la cefalexina solo es eliminado en un 44%, cada uno de ellos pertenece a una clase de antibióticos, por lo que, no podemos afirmar que la eliminación dependa del grupo en el que está integrado.

Actualmente, se están utilizando combinaciones de tratamientos, como adicionar carbón activado, emplear lodos activos con biofilms y el uso de estos como filtros son algunos de los proyectos que se están valorando (Khan *et al.*, 2020). Los biorreactores de membrana pueden eliminar más del 99% de las partículas sólidas, pudiendo evitar así las aglomeraciones descritas con anterioridad, además si lo combinamos con luz ultravioleta y fotocátalisis aumentan el efecto bactericida (Pazda *et al.*, 2019). En la misma línea, los metabolitos de antibióticos identificados en la orina pueden ser inactivados con un tratamiento con ozono (Andersson & Hughes, 2012).

Todas estas opciones se usan para tratar agua procedente de hospitales, industrias (sobre todo la farmacéutica) y de origen doméstico (Nnadozie & Odume, 2019). La reducción en el uso de los mismos, puede disminuir la presión selectiva, así como

proporcionar una salud animal sostenible debido a que la principal utilidad es como promotor del crecimiento (Andersson & Hughes, 2012; Nnadozie & Odume, 2019).

Con lo cual, para poder disminuir la presencia de estos contaminantes en el medio se deberían implementar soluciones, a la hora de desarrollar nuevos productos farmacéuticos, el manejo de los mismos e implementar un control más exhaustivo de las emisiones (Kümmerer, 2009b).

Después de todo, no es posible realizar un análisis completo de los riesgos ambientales con los datos disponibles. Aunque hemos visto muchos destinos tanto para los antibióticos como para sus genes de resistencia, la realidad es que hay un vacío de información sobre su verdadero destino y la concentración de estos farmacéuticos, así como de los efectos que pueden causar los genes de resistencia. La disponibilidad de estos datos es relevante a la hora de evaluar los riesgos e implementar programas de gestión (Kümmerer, 2009b).

En definitiva, es imprescindible abordar nuevas investigaciones sobre nuevas tecnologías de recuperación o eliminación tanto de los antibióticos como de los genes de resistencia del entorno, así como incentivar proyectos que demuestren cuáles son los verdaderos efectos que tienen sobre los ecosistemas y sobre la salud humana.

Como observación personal creo que, el mayor obstáculo que podemos encontrar en la lucha contra la resistencia a los antibióticos es la falta de información dada a la población, así como la no participación en la promoción de un mejor conocimiento del problema por parte de los gobiernos, o en su defecto organizaciones como la OMS, que deberían ser los primeros en alertar de las complicaciones que pueden tener en la salud a corto plazo, ya que cuando empiecen a considerarlos como una cuestión prioritaria quizá ya sea demasiado tarde.

6. CONCLUSIONES

1. Los antibióticos, como otros productos farmacéuticos, se han vuelto indispensables a la hora de preservar la salud humana y animal. Como consecuencia, se está produciendo una contaminación por los mismos en todo el mundo en los distintos sistemas acuáticos, por ende, está afectando a los animales que habitan estos ecosistemas. Además, las repercusiones se acentúan por su fácil transporte y difusión a través de los ecosistemas y la difícil eliminación de estos contaminantes.

2. Hay distintas vías por las cuales las personas pueden contaminarse con antibióticos y organismos resistentes, a través del agua potable o directamente de los ríos y/o lagos contaminados, que a día de hoy se están investigando, debido a que la resistencia aún no se ha considerado como un problema real de salud pública. Es necesario incidir en que los antibióticos ingeridos inconscientemente podrían causar una desregulación de la microbiota intestinal de los humanos, causando un mal funcionamiento de las principales funciones fisiológicas como sería la absorción de nutrientes, además tenemos en cuenta, la íntima relación que posee con el correcto funcionamiento del sistema inmunológico, consecuentemente, esto podría llevar a problemas más graves, ya que muchas enfermedades infecciosas no podrían ser prevenidas, pudiendo llegar a suceder un colapso en el sistema de salud y causando más muertes.

3. Como hemos visto, la resistencia es un proceso conservado en el tiempo, aunque en los últimos años la presencia de bacterias resistentes, se ha determinado en una amplia variedad de entornos. En su mayor proporción, se generan en las estaciones depuradoras de agua desde donde pasan a los distintos ambientes acuáticos, en los cuales ocurre la transferencia horizontal de genes en grandes cantidades, afectando a los organismos autóctonos. Por todo ello, se ve a los sistemas epicontinentales como los reservorios principales de la resistencia y la investigación en este campo debe ser incentivada para una mejor comprensión de las consecuencias tanto en términos de salud humana como de salud ambiental.

4. Actualmente se han ido desarrollando distintos tratamientos para mitigar su dispersión e intentar eliminarlos directamente. Hemos comprobado que en general, el uso conjunto de tratamientos es más efectivo que los tratamientos individuales convencionales, así como, que cada clase de antibiótico puede responder de distinta

manera a un mismo tratamiento. A pesar de las distintas estrategias, todavía faltan nuevas tecnologías para poder controlar la diseminación y evitar su entrada masiva a la naturaleza. Esta es una línea de investigación e innovación de tecnología que los organismos responsables de salud pública deberían promover.

7. BIBLIOGRAFÍA

Allen, H. K., Donato, J., Wang, H. H., Cloud-Hansen, K. A., Davies, J., & Handelsman, J. (2010). Call of the wild: Antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews Microbiology*, 8(4), 251–259. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2312>

Andersson, D. I., & Hughes, D. (2012). Evolution of antibiotic resistance at non-lethal drug concentrations. *Drug Resistance Updates*, 15(3), 162–172. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2012.03.005>

Andreozzi, R., Marotta, R., & Paxéus, N. (2003). Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere*, 50(10), 1319–1330. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00769-5](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00769-5)

Baquero, F., Martínez, J. L., & Cantón, R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(3), 260–265. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.05.006>

Barra Caracciolo, A., Topp, E., & Grenni, P. (2015). Pharmaceuticals in the environment: Biodegradation and effects on natural microbial communities. A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 106, 25–36. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.11.040>

Berkner, S., Konradi, S., & Schönfeld, J. (2014). Antibiotic resistance and the environment—there and back again. *EMBO Reports*, 15(7), 740–744. <https://doi.org/10.15252/embr.201438978>

Birošová, L., Mackuľak, T., Bodík, I., Ryba, J., Škubák, J., & Grabic, R. (2014). Pilot study of seasonal occurrence and distribution of antibiotics and drug resistant bacteria in wastewater treatment plants in Slovakia. *Science of the Total Environment*, 490, 440–444. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.030>

Cardoso, O., Porcher, J. M., & Sanchez, W. (2014). Factory-discharged pharmaceuticals could be a relevant source of aquatic environment contamination: Review of evidence and need for knowledge. *Chemosphere*, 115(1), 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.02.004>

Dcosta, V. M., King, C. E., Kalan, L., Morar, M., Sung, W. W. L., Schwarz, C., Froese,

D., Zazula, G., Calmels, F., Debruyne, R., Golding, G. B., Poinar, H. N., & Wright, G. D. (2011). Antibiotic resistance is ancient. *Nature*, 477(7365), 457–461. <https://doi.org/10.1038/nature10388>

De Granda-Orive, J. I., Alonso-Arroyo, A., & Roig-Vázquez, F. (2011). ¿ Qué base de datos debemos emplear para nuestros análisis bibliográficos? Web of Science versus SCOPUS. *Archivos de Bronconeumología*, 47(4), 213-213.

Del Pino, R., & Martínez, J. R. (2016). Manual para la elaboración y defensa del trabajo de fin de grado en ciencias de la salud. *Madrid: Editorial Elsevier*.

Ding, Y., Jiang, W., Liang, B., Han, J., Cheng, H., Haider, M. R., Wang, H., Liu, W., Liu, S., & Wang, A. (2020). UV photolysis as an efficient pretreatment method for antibiotics decomposition and their antibacterial activity elimination. *Journal of Hazardous Materials*, 392(October 2019), 122321. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122321>

Enright, M. C. (2003). The evolution of a resistant pathogen - The case of MRSA. *Current Opinion in Pharmacology*, 3(5), 474–479. [https://doi.org/10.1016/S1471-4892\(03\)00109-7](https://doi.org/10.1016/S1471-4892(03)00109-7)

Evariste, L., Barret, M., Mottier, A., Mouchet, F., Gauthier, L., & Pinelli, E. (2019). Gut microbiota of aquatic organisms: A key endpoint for ecotoxicological studies. *Environmental Pollution*, 248, 989–999. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.02.101>

Galbraith A, Bullock S, Manias S, Hunt B, Richards A (2004) Pharmacokinetics: absorption and distribution. In: *Fundamentals of Pharmacology: A Text for Nurses and Health Professionals*, 4th Ed. Pearson Education Limited, Essex, England, pp 109–114.

Higgins, J. [Ed], & Green, S. [Ed]. (2011). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* [Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones, in Spanish]. *The Cochrane Collaboration, March*, 1–639. www.cochrane-handbook.org

Jelić, A., Gros, M., Petrović, M., Ginebreda, A., & Barceló, D. (2012). Occurrence and elimination of pharmaceuticals during conventional wastewater treatment. In *Emerging and priority pollutants in rivers* (pp. 1-23). Springer, Berlin, Heidelberg.

https://doi.org/10.1007/978-3-642-25722-3_1

Jones, O.A.H. Voulvoulis, N. Lester, J. N. (2004). Potential Ecological and Human Health Risks Associated With the Presence of Pharmaceutically Active Compounds in the Aquatic Environment. *Critical Reviews in Toxicology*, 34(4), 335–350.

Khan, N. A., Khan, S. U., Ahmed, S., Farooqi, I. H., Yousefi, M., Mohammadi, A. A., & Changani, F. (2020). Recent trends in disposal and treatment technologies of emerging-pollutants- A critical review. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 122. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115744>

Kong, D., Liang, B., Yun, H., Cheng, H., Ma, J., Cui, M., Wang, A., & Ren, N. (2015). Cathodic degradation of antibiotics: Characterization and pathway analysis. *Water Research*, 72, 281–292. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.01.025>

Kronacher, C., & Hogueve, F. (2002). Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters*, 131(3), 5–17. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.1936.tb00094.x>

Kümmerer, K. Henninger, A. (2003). Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent. *Clinical Microbiology and Infection*, 9(12), 1203–1214. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2003.00739.x>

Kummerer, K. (2003). Significance of antibiotics in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(1), 5–7. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg293>

Kümmerer, K. (2009a). Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part I. *Chemosphere*, 75(4), 417–434. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>

Kümmerer, K. (2009b). Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part II. *Chemosphere*, 75(4), 435–441. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.12.006>

Li, S., Shi, W., Liu, W., Li, H., Zhang, W., Hu, J., Ke, Y., Sun, W., & Ni, J. (2018). A duodecennial national synthesis of antibiotics in China's major rivers and seas (2005–2016). *Science of the Total Environment*, 615, 906–917. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.328>

Lian, J., Qiang, Z., Li, M., Bolton, J. R., & Qu, J. (2015). UV photolysis kinetics of

sulfonamides in aqueous solution based on optimized fluence quantification. *Water Research*, 75, 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.02.026>

Lu, X. M., & Lu, P. Z. (2019). Synergistic effects of key parameters on the fate of antibiotic resistance genes during swine manure composting. *Environmental Pollution*, 252, 1277–1287. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.073>

Marti, E., Huerta, B., Rodríguez-Mozaz, S., Barceló, D., Marcé, R., & Balcázar, J. L. (2018). Abundance of antibiotic resistance genes and bacterial community composition in wild freshwater fish species. *Chemosphere*, 196, 115–119. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.108>

Menz, J., Baginska, E., Arrhenius, Å., Haiß, A., Backhaus, T., & Kümmerer, K. (2017). Antimicrobial activity of pharmaceutical cocktails in sewage treatment plant effluent – An experimental and predictive approach to mixture risk assessment. *Environmental Pollution*, 231, 1507–1517. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.009>

Meredith, H. R., Srimani, J. K., Lee, A. J., Lopatkin, A. J., & You, L. (2015). *dynamics and intervention*. 11(February), 182–188. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1754>

Monteiro, C. S., & Boxall, A. (2010). *Occurrence and Fate of Human Pharmaceuticals in the Environment* (Vol. 202, Issue January 2010). <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1157-5>

Nnadozie, C. F., & Odume, O. N. (2019). Freshwater environments as reservoirs of antibiotic resistant bacteria and their role in the dissemination of antibiotic resistance genes. *Environmental Pollution*, 254, 113067. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113067>

Pazda, M., Kumirska, J., Stepnowski, P., & Mulkiewicz, E. (2019). Antibiotic resistance genes identified in wastewater treatment plant systems – A review. *Science of the Total Environment*, 697, 134023. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134023>

Polit, D. F., & Beck, C. T. (2008). *Nursing research: Generating and assessing evidence for nursing practice*. Lippincott Williams & Wilkins

Proia, L., Anzil, A., Subirats, J., Borrego, C., Farrè, M., Llorca, M., Balcázar, J. L., &

Servais, P. (2018). Antibiotic resistance along an urban river impacted by treated wastewaters. *Science of the Total Environment*, 628–629, 453–466. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.083>

Proia, L., Von Schiller, D., Sànchez-Melsió, A., Sabater, S., Borrego, C. M., Rodríguez-Mozaz, S., & Balcázar, J. L. (2016). Occurrence and persistence of antibiotic resistance genes in river biofilms after wastewater inputs in small rivers. *Environmental Pollution*, 210, 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.11.035>

Pruden, A. (2014). Balancing water sustainability and public health goals in the face of growing concerns about antibiotic resistance. *Environmental Science and Technology*, 48(1), 5–14. <https://doi.org/10.1021/es403883p>

Schaffhauser, B. H., Kristofco, L. A., de Oliveira, C. M. R., & Brooks, B. W. (2018). Global review and analysis of erythromycin in the environment: Occurrence, bioaccumulation and antibiotic resistance hazards. *Environmental Pollution*, 238, 440–451. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.03.052>

Serrano, P.H., 2005. Responsible use of antibiotics in aquaculture. Fisheries Technical Paper 469, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome.

Sharma, V. K., Johnson, N., Cizmas, L., McDonald, T. J., & Kim, H. (2016). A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes. *Chemosphere*, 150, 702–714. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.084>

Thomas, C. M., & Nielsen, K. M. (2005). Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 3(9), 711–721. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1234>

Timm, A., Borowska, E., Majewsky, M., Merel, S., Zwiener, C., Bräse, S., & Horn, H. (2019). Photolysis of four β -lactam antibiotics under simulated environmental conditions: Degradation, transformation products and antibacterial activity. *Science of the Total Environment*, 651, 1605–1612. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.248>

UNEP (2016). UNEP Frontiers 2016 Report: Emerging Issues of Environmental

Concern. United Nations Environment Programme, Nairobi.

Wang, M., Shen, W., Yan, L., Wang, X. H., & Xu, H. (2017). Stepwise impact of urban wastewater treatment on the bacterial community structure, antibiotic contents, and prevalence of antimicrobial resistance. *Environmental Pollution*, 231, 1578–1585. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.055>

Watts, J. E. M., Schreier, H. J., Lanska, L., & Hale, M. S. (2017). The rising tide of antimicrobial resistance in aquaculture: Sources, sinks and solutions. *Marine Drugs*, 15(6), 1–16. <https://doi.org/10.3390/md15060158>

Yi, Q., Gao, Y., Zhang, H., Zhang, H., Zhang, Y., & Yang, M. (2016). Establishment of a pretreatment method for tetracycline production wastewater using enhanced hydrolysis. *Chemical Engineering Journal*, 300, 139–145. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.04.120>