

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Ecotoxicidad aguda de dos marcas comerciales de enjuague bucal sobre alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris”. Ayacucho, 2016.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGA EN LA ESPECIALIDAD DE MICROBIOLOGÍA**

Presentado por la:

Bach. CORDOVA GUILLÉN, Deysi Carina

AYACUCHO – PERÚ

2016

Con amor a mis padres, a mi
hija y a mi esposo.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por constituir el *alma mater* de mi formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela de Formación Profesional de Biología, a la Especialidad de Microbiología y Plana Docente quienes contribuyeron a mi formación profesional.

Al Blgo. Edwin Portal Quicaña y a la Comisión Administradora del Parque Zoológico “La Totorilla”, por haberme brindado todas las facilidades para realizar mi trabajo de tesis.

A mi asesor, Dr. Carlos Emilio Carrasco Badajoz por su orientación académica, consejos sabios que han permitido la elaboración y finalización del presente trabajo de tesis.

A todas aquellas amistades que me brindaron su apoyo incondicional para que hoy esté finalizando el presente trabajo de tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Marco conceptual	10
2.2.1. Toxicidad	10
2.2.2. Toxicidad aguda	10
2.2.4. Concentración letal media (CL50)	10
2.2.5. Mortalidad	10
2.2.6. Contaminantes emergentes	10
2.2.7. Ecotoxicidad	11
2.2.8. Porcentaje de mortalidad	11
2.2.9. Alevinos de trucha	11
2.3. Bases teóricas	11
2.3.1. El agua	11
2.3.2. Contaminación de los ecosistemas acuáticos continentales	11
2.3.3. Contaminación del agua por productos antisépticos	11
2.3.4. Toxicidad acuática	12
2.3.5. Bioindicadores	12
2.3.6. Efecto de la contaminación sobre los organismos acuáticos	12
2.3.7. Rangos de tolerancia de los organismos	13
2.3.8. Bioensayos	13
2.3.9. Los antisépticos	15
2.3.10. Enjuague bucal	16
2.3.11. La “trucha arco iris” <i>Oncorhynchus mykiss</i>	20
2.3.12. Características fisicoquímicas de las aguas naturales	23
2.4. Marco legal	25

2.4.1.	Ley General del Ambiente (Ley N° 28611)	25
2.4.2.	Código Penal	26
2.4.3.	Ley de Recursos Hídricos (Ley N° 29338)	26
2.4.4.	Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua (Decreto Supremo 015-2015-MINAM)	28
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1.	Ubicación de la zona de estudio	31
3.1.1.	Ubicación política	31
3.1.2.	Ubicación geográfica	31
3.2.	Población y muestra	31
3.2.1.	Población	31
3.2.2.	Muestra	31
3.2.3.	Unidad experimental	32
3.2.4.	Sistema de muestreo	32
3.3.	Metodología y recolección de datos	32
3.3.1.	Obtención de los alevinos de “trucha arco iris” <i>Oncorhynchus mykiss</i>	32
3.3.2.	Aclimatación de <i>Oncorhynchus mykiss</i>	32
3.3.3.	Preparación de las concentraciones del enjuague bucal (Dento y Listerine)	33
3.3.4.	Preparación de las unidades experimentales y ejecución del experimento	34
3.3.5.	Determinación de las características fisicoquímicas del agua	35
3.3.6.	Recolección y procesamiento de datos	36
3.4.	Tipo de investigación	36
3.5.	Análisis estadístico	37
IV.	RESULTADOS	39
V.	DISCUSIÓN	53
VI.	CONCLUSIONES	61
VII.	RECOMENDACIONES	63
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
	ANEXOS	69

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Componentes de los enjuagues bucales Dento y Listerine en 100 ml de Volumen	19
Tabla 2. Rango óptimo de las propiedades fisicoquímicas del agua para el cultivo de “trucha arco iris”	25
Tabla 3. Disposición de los baldes con diferentes concentraciones de los enjuagues bucales.	33
Tabla 4. Distribución de las unidades experimentales según la concentración del enjuague bucal Dento y Listerine.	35
Tabla 5. Distribución de las unidades experimentales según la concentración del enjuague bucal Listerine.	35
Tabla 6. Características fisicoquímicas del agua a determinar según la metodología de la SUNASS ⁴⁶	36
Tabla 7. Valores promedios de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por dos marcas de enjuague bucal en cuatro concentraciones y un testigo a las 24 y 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016	39
Tabla 8. Valores promedios de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por el enjuague bucal (Listerine) en cuatro concentraciones y un testigo a las 24 y 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016	44
Tabla 9. Valores de la Concentración Letal Media (CL ₅₀) y los intervalos de confianza a las 24 y 48 horas de exposición para los enjuagues bucales Dento y Listerine, Ayacucho, 2016	51
Tabla 10. Valores promedios y desviación típica de las características fisicoquímicas del agua contenida en los diferentes tratamientos (Dento, Listerine y blanco).	52

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Mecanismo de acción del Triclosán en la membrana mitocondrial de las bacterias	21
Figura 2. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por dos marcas de enjuague bucal y un blanco a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	40
Figura 3. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por dos marcas de enjuague bucal y un blanco a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	41
Figura 4. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por cuatro concentraciones de Dento a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	42
Figura 5. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por cuatro concentraciones de Dento a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	43
Figura 6. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por cuatro concentraciones de Listerine a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	45
Figura 7. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por cuatro concentraciones de Listerine a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	46
Figura 8. Tendencia de mortalidad acumulada teórica (Probit) de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” según las concentraciones de Dento y el valor de la concentración letal media (CL ₅₀) a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	47
Figura 9. Tendencia de mortalidad acumulada teórica (Probit) de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” según las concentraciones de Dento y el valor de la concentración letal media (CL ₅₀) a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	48

- Figura 10. Tendencia de mortalidad acumulada teórica (Probit) de alevinos 49
de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris” según las
concentraciones de Listerine y el valor de la concentración letal
media (CL₅₀) a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.
- Figura 11. Tendencia de mortalidad acumulada teórica (Probit) de alevinos 50
de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris” según las
concentraciones de Listerine y el valor de la concentración letal
media (CL₅₀) a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016 .

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Planilla para el registro de datos de mortalidad generada en las unidades experimentales	70
Anexo 2. Prueba de Shapiro-Wilks para determinar el tipo de distribución de los datos de mortalidad acumulada a las 24 y 48 horas.	71
Anexo 3. Registro del número de muertos generada en las unidades experimentales del enjuague bucal Dento y Listerine a las 24 y 48 horas de exposición	72
Anexo 4. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por dos marcas de enjuague bucal. Ayacucho, 2016.	73
Anexo 5. Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por dos marcas de enjuague bucal a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	74
Anexo 6. Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por dos marcas de enjuague bucal a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	75
Anexo 7. Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por cuatro concentraciones de Dento a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	76
Anexo 8. Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por cuatro concentraciones de Dento a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	77
Anexo 9. Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” causados por cuatro concentraciones de Listerine a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	78
Anexo 10. Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad de alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco	79

	iris” causados por cuatro concentraciones de Listerine a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.	
Anexo 11.	Percentiles (concentración letal en g/L) de Dento sobre alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” sometidas a las 24 horas de exposición, obtenidos mediante el análisis Probit.	80
Anexo 12.	Percentiles (concentración letal en g/L) de Dento sobre alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” sometidas a las 48 horas de exposición, obtenidos mediante el análisis Probit.	81
Anexo 13.	Percentiles (concentración letal en g/L) de Listerine sobre alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” sometidas a las 24 horas de exposición, obtenidos mediante el análisis Probit.	82
Anexo 14.	Percentiles (concentración letal en g/L) de Listerine sobre alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” sometidas a las 48 horas de exposición, obtenidos mediante el análisis Probit.	83
Anexo 15.	Adecuación del ambiente en el que se llevó a cabo la experimentación. en el Parque Zoológico “La Totorilla”, Ayacucho, 2016.	84
Anexo 16.	Disposición y preparación de las unidades experimentales en el Parque Zoológico “La Totorilla”, Ayacucho, 2016.	85
Anexo 17.	Proceso de captura de los alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” del tanque de fibra de vidrio para su empleo en el proceso experimental, Parque Zoológico “La Totorilla”. Ayacucho, 2016.	86
Anexo 18.	Monitoreo a los alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” y toma de datos de las unidades experimentales en el Parque Zoológico- “La Totorilla”. Ayacucho, 2016.	87
Anexo 19	Registro de alevinos muertos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> “trucha arco iris” a diferentes concentraciones. en el Parque Zoológico- “La Totorilla”, Ayacucho 2016.	88
Anexo 20.	Mapa de ubicación del lugar donde se llevó a cabo el experimento.	89
Anexo 21	Matriz de Consistencia	90

RESUMEN

Los ecosistemas acuáticos, se han convertido en los receptores finales de muchas sustancias que el hombre elimina como desechos. Dentro de las sustancias contaminantes se encuentran los productos de cuidado personal como los enjuagues bucales, los cuales contienen en su composición ingredientes de efecto antiséptico que son persistentes, es el caso del Triclosán, u otro componente como el salicilato de metilo que son altamente tóxicos. Es por ello que, este trabajo de investigación, tuvo como objetivo evaluar dos marcas comerciales de enjuague bucal (Dento y Listerine) probado en cuatro concentraciones de 3,40; 3,60; 3,80 y 4,00 ml/L como agentes ecotoxicológicos agudos sobre alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris”, medido como porcentaje de mortalidad y concentración letal media (CL_{50}), a las 24 y 48 horas de exposición. El trabajo de investigación se realizó, en las instalaciones del Parque Zoológico “La Totorilla”, en la que se emplearon 27 unidades experimentales, los que estuvieron constituidos por diez alevinos de *Oncorhynchus mykiss* con diez litros de agua incluidos en un balde de plástico de 20 L de capacidad en la que se incluyó un sistema de aireación en base a una pequeña bomba compresora, iniciado el experimento se registraron las mortalidades a las 24 y 48 horas. De los resultados podemos mencionar que el porcentaje de mortalidad fue mayor en Dento ($p < 0,05$), en comparación con Listerine y el blanco, se observó que la mortalidad se incrementa con el incremento de la concentración ($p < 0,05$). Cabe señalar que el enjuague bucal Listerine no generó mortalidades a las concentraciones inicialmente probadas, por lo que fue necesario probar concentraciones mayores con la finalidad de estimar la concentración letal media (CL_{50}) identificando las concentraciones de 45, 50, 55 y 60 ml/L, en la que se generaron porcentajes de mortalidad diferente ($p < 0,05$), a medida que se incrementó la concentración. La concentración letal media para el enjuague bucal Dento y Listerine fue de 4,064 ml/L y 56,85 ml/L respectivamente para las 24 horas; y de 3,67 ml/L y 49,78 ml/L respectivamente para las 48 horas, mostrando así que la concentración letal media disminuye a medida que el tiempo de exposición se incrementa. Por otro lado, los valores de las características fisicoquímicas del agua, como la dureza total, conductividad eléctrica, alcalinidad, cloruros y sólidos disueltos totales, muestran variaciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$), en comparación con el agua que se empleó como medio para la preparación de las unidades experimentales, mientras que la dureza cálcica, dureza magnésica, pH y la temperatura fueron estadísticamente semejantes ($p > 0,05$).

Palabras clave: Ecotoxicidad, enjuague bucal, *Oncorhynchus mykiss*.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad los ecosistemas acuáticos están siendo empleados como basureros, donde se elimina sustancias de diferente naturaleza. Dichos compuestos al incorporarse a las aguas de los ríos y lagunas causa alteraciones en sus características fisicoquímicas naturales y consecuentemente alteraciones sobre las características de las comunidades biológicas que en ella habitan. Por otro lado la preocupación del hombre se ha centrado en determinados contaminantes, como por ejemplo en la materia orgánica, hidrocarburos, residuos sólidos, entre otros; sin embargo existe otros tipos de contaminantes al cual no se da mucha importancia, pudiendo estos tener efectos devastadores, a los cuales se ha denominado como contaminantes emergentes, estos contaminantes comprenden compuestos químicos, productos farmacéuticos, productos de cuidado personal, entre otros, cuya presencia en el ambiente pasan inadvertidas, causando problemas ambientales.¹

Los enjuagues bucales, son productos que son empleados para la higiene bucal, después del cepillado de los dientes, con la finalidad de eliminar las bacterias y microorganismos causantes de caries y del mal aliento. Se debe tomar en cuenta que dichos productos son de venta libre, pese a que dentro de su composición presenta ingredientes de efecto antiséptico como Triclosán, tal como se ha podido observar en la composición detallada en la etiqueta del producto como es el caso del enjuague bucal Dento. Se ha demostrado que el Triclosán es un compuesto que aumenta el riesgo de padecer cáncer,² la misma que al ser eliminada a través de las aguas residuales, probablemente causan efectos negativos y hasta letales sobre la mayoría de los seres vivos de los ecosistemas acuáticos a donde van a parar dichos residuos.³ Una de las formas más comunes para detectar las alteraciones en el ambiente producto de compuestos químicos, es mediante estudios ecotoxicológicos agudos, a través del cual se

determinan los efectos de concentraciones crecientes de los compuestos o sustancias estudiadas, determinándose el número de modelos biológicos muertos (en caso de animales) o afectados, lo que permite determinar las concentraciones de dichos contaminantes, que causan efecto negativo en los seres vivos.

El empleo de modelos biológicos en los estudios de ecotoxicidad, como es el caso de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris”, para determinar el efecto toxicológico de contaminantes se fundamenta en que es un ser vivo muy estricto respecto a la calidad del ambiente donde se halla, restringiendo su existencia solo a aguas de muy buena calidad donde no hay presencia de contaminantes o en todo caso su concentración es mínima. En base a lo mencionado, se planteó el presente trabajo con la finalidad de conocer el efecto ecotoxicológico del contaminante emergente (Triclosán) presente en uno dos enjuagues bucales a probarse y determinar la concentración letal media (CL₅₀) sobre *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris”, experimento que se realizó en las instalaciones del Parque Zoológico “La Totorilla”, teniendo los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar dos marcas comerciales de enjuague bucal (Dento y Listerine) probado en cuatro concentraciones de 1; 2; 4 y 8 ml/L como agentes ecotoxicológicos agudos sobre alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris”, medido como porcentaje de mortalidad y concentración letal media (CL₅₀).

Objetivos específicos

1. Determinar el porcentaje de mortalidad generado en alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris”, sometidas a la acción de dos marcas comerciales de enjuague bucal.
2. Determinar el porcentaje de mortalidad generado en alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris”, sometidas a cuatro concentraciones crecientes de dos marcas comerciales de enjuague bucal.
3. Calcular la concentración letal media (CL₅₀) de dos marcas comerciales de enjuague bucal sobre alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris” a las 24 y 48 horas de registro de datos.
4. Determinar el efecto sobre la calidad fisicoquímica del agua de cultivo (pH, dureza total, conductividad eléctrica, sólidos disueltos totales) de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris” por la adición de enjuague bucal.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Tatarazako y colaboradores, evaluaron el efecto toxicológico agudo del triclosán en varios organismos acuáticos, siendo estos *Vibrio fischer* (bacteria), *Selenastrum capricornutum* (microalga), *Ceriodaphnia dubia* (crustáceo) y *Danio rerio* y *Oryzias latipes* (peces). Encontraron que el crustáceo y los peces tenían respuestas toxicológicas similares hacia el Triclosán, con valores de CL₅₀ (concentración letal media) de 0,07 a 0,29 mg/L. En contraste, la microalga fue más sensible de 30 a 80 veces más (aproximadamente 0.0034 mg/L de Triclosán) que la bacteria y los peces probados, es por ello que concluyen que el Triclosán es bastante tóxico para los animales acuáticos y particularmente para el alga clorofita infiriendo que afectan gravemente a los productores primarios de los ecosistemas acuáticos, lo que podría generar destrucción de ecosistemas frente a la presencia del triclosán⁴.

Fraker y Smith, examinaron los efectos de tres contaminantes orgánicos (cafeína, paracetamol, y Triclosán) sobre el nivel de actividad, la respuesta de sobresalto, la supervivencia y el crecimiento de la rana leopardo *Rana pipiens*, para el cual se realizaron dos experimentos: uno de ellos para determinar el efecto de acetaminofeno y el Triclosán de manera individual y en combinación, y el otro experimento en el cual se probó el efecto de cafeína y el acetaminofén, solos y en combinación. En ambos experimentos, el acetaminofeno no tuvo ningún efecto sobre la actividad, la respuesta de sobresalto, supervivencia o el crecimiento. En el primer experimento, los renacuajos y la rana expuestos a Triclosán fueron menos activos que los controles, así mismo aquellos expuestos a la concentración más alta de Triclosán, tuvieron una menor respuesta de sobresalto y de supervivencia en comparación con otras concentraciones y con el control. En el segundo experimento, los renacuajos expuestos a la

concentración más alta de cafeína, fueron los más activos, determinaron también que en combinación con el paracetamol, aumenta el efecto de la cafeína sobre la actividad⁵.

Por otro lado, Orvos y colaboradores, evaluaron la toxicidad sobre organismos acuáticos del Triclosán. Para el caso de la *Daphnia magna* determinó la concentración mediana efectiva (EC₅₀) que fue de 390 microg/L a la 48 horas de exposición, mientras que para *Pimephales promelas* y *Macrochirus lepomis* fue de 260 y 370 microg/L, respectivamente, a las 96 horas. También realizó ensayos de toxicidad en estadios iniciales de *Oncorhynchus mykiss*, hallando que concentraciones de 34,1 ug/L y 71,3 ug/L de triclosán, presentan efecto no observado y concentración con mínimo efecto observado, respectivamente⁶.

Ishibashi y colaboradores inciden que el Triclosán (éter de 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxifenil) es ampliamente utilizado como agente antibacteriano en diversos productos industriales, tales como productos textiles, jabón, champú, pasta de dientes y cosméticos líquidos, y frecuentemente detectado en el efluente de aguas residuales. En este estudio, se investigaron los efectos del Triclosán en las etapas tempranas de la vida y reproducción de medaka (*Oryzias latipes*). El valor de la concentración de 96 horas letal media del Triclosán para las larvas de 24 horas de edad, fue de 602 mg/L. El porcentaje de nacimientos y el momento de la eclosión de los huevos fertilizados expuestos a 313 mg/L de Triclosán durante 14 días se redujeron significativamente y con retraso, respectivamente. Una evaluación de los efectos del Triclosán con un período de exposición de 21 días en la reproducción de medaka (*Oryzias latipes*) pareadas no mostró diferencias significativas en el número de huevos producidos, la fertilidad entre los grupos control fue 20; 100 de tratamiento con Triclosán 200 g/L. Sin embargo, las concentraciones de vitelogenina hepática se incrementaron significativamente en los machos tratados con Triclosán en 20 y 100 g/L. En las primeras generaciones, a pesar de la eclosión de los embriones en el primer tratamiento de 20 mg. mostró efectos adversos, no hubo una relación dosis-respuesta entre el porcentaje de nacimientos y niveles de tratamiento del Triclosán. Estos resultados sugieren que tiene alta toxicidad en las etapas tempranas de la vida de medaka, y que el metabolito del triclosán puede ser un compuesto estrogénico débil con el potencial para inducir la vitelogenina en medaka macho pero con ningún efecto adverso sobre el éxito reproductivo y la descendencia⁷.

Kim y colaboradores, indican que los productos farmacéuticos y de higiene personal entran en ambientes acuáticos a través de instalaciones de tratamiento de residuos y sus efectos potencialmente tóxicos en la biota, en particular los organismos acuáticos, son de gran preocupación. En este estudio, se determinó la toxicidad aguda de los productos farmacéuticos y de higiene personal seleccionadas, en un crustáceo de agua dulce (*Thamnocephalus platyurus*) y una especie de pez (*Latipes oryzias*), los valores de concentración letal media (CL₅₀) a 24 horas del Ibuprofeno, Acido Mefenámico, Indometacina, Carbamazepina, Propranolol, Ifenprodil, Claritromicina y Triclosán. Se estimaron en 19,59; 3,95; 16,14, > 100; 10,31; 4,43; 94,23 y 0,47 mg/l, respectivamente. Por el contrario, los valores de LC₅₀ de 96 horas para estos productos farmacéuticos de cuidado personal se estimaron en > 100; 8,04; 81,92; 45,87; 11,40; 8,71, > 100 y 0,60 mg/L para *Latipes oryzias*, respectivamente. La sensibilidad tóxica de *T. platyurus* a estos productos farmacéuticos y de higiene personal, a excepción de la Carbamazepina, era por lo tanto, mayor que para *Latipes oryzias*. Se observaron efectos de toxicidad aguda que se asociaron con los productos farmacéuticos y de higiene personal, tales como disopiramida, Famotidina, Fluconazol, Eritromicina y Levofloxacina, en los dos organismos acuáticos a las concentraciones ensayadas en este estudio (> 100 mg/L). Estos resultados nos pueden ayudar a comprender los posibles efectos biológicos y los riesgos asociados con la exposición a los productos farmacéuticos y de higiene personal en los organismos acuáticos. Se requieren más estudios a largo plazo para evaluar plenamente el crecimiento y la reproducción de estos compuestos en la biota acuática⁸.

Gutiérrez y colaboradores, muestran interés por los contaminantes emergentes, ya que son compuestos de distinto origen y naturaleza química, cuya presencia en el ambiente, o las posibles consecuencias de la misma, han pasado en gran medida inadvertidas, causando problemas ambientales y de riesgo para la salud, estos compuestos se encuentran diseminados en el ambiente y se han detectado en fuentes de abastecimiento de agua, aguas subterráneas e incluso en agua potable. De estos contaminantes relativamente se conoce poco, en cuanto a su presencia, impacto y tratamiento; en la mayoría de los casos son contaminantes no regulados, que pueden ser candidatos a la regulación futura, dependiendo de investigaciones sobre sus efectos potenciales en la salud y los datos de monitoreo con respecto a su incidencia; por lo tanto, son susceptibles

de investigación. En este artículo se revisa algunos de los principales contaminantes emergentes tal es el caso de los pesticidas, productos farmacéuticos, drogas ilícitas, compuestos de “estilo de vida”, aseo personal y otros; el origen, uso y efectos nocivos; de igual manera analiza algunos tratamientos en potencia, para su eliminación⁹.

Frente a la problemática mencionada, se están desarrollando investigaciones con la finalidad de eliminar los contaminantes emergentes como Triclosán de las aguas servidas, tal es el caso de Paredes¹⁰, quien propone tres objetivos de estudio; el primero, determinar cómo afecta el tipo de soporte empleado en el lecho de tratamiento de las aguas servidas (arena o carbón activo granular) sobre el desarrollo de las poblaciones bacterianas y a la adsorción de los compuestos; como segundo objetivo, evaluar la eliminación de los compuestos farmacéuticos y de cuidado personal, cuando en el lecho solo existe adsorción y cuando se combinan adsorción, absorción y biodegradación y en tercer lugar estudiar la influencia del tiempo de residencia hidráulico.

Por otro Yueh y colaboradores, indica que el Triclosán [5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi) fenol; TCS] es un sintético, químico antibacteriana de amplio espectro utilizado en una amplia gama de productos de consumo, incluyendo los jabones, cosméticos, terapéuticos, y plásticos. La población general está expuesta al triclosán debido a su prevalencia en una variedad de productos para el cuidado diario, así como a través de la contaminación por el agua. El Triclosán está vinculada a una multitud de efectos sobre la salud y ambientales, que van desde la alteración endocrina y problemas de la contracción del músculo a los efectos sobre los ecosistemas acuáticos. Descubrieron que el Triclosán era capaz de estimular la proliferación de las células del hígado y las respuestas fibróticas, acompañado de signos de estrés oxidativo. A través de un ensayo de selección con una serie de receptores de xenobióticos nucleares, se encontró que el Triclosán activa el receptor nuclear constitutiva del receptor androstano y, contrariamente a los informes anteriores, no tiene un efecto significativo sobre la proliferación de peroxisomas ratón activación α del receptor. Utilizando el diethylnitrosamine procarcinogen para iniciar la tumorigénesis en ratones, descubrieron que el triclosán acelera sustancialmente el desarrollo de carcinoma hepatocelular, que actúa como un promotor de tumores de hígado. Los ratones tratados con Triclosán mostraron un gran aumento en el número de tumores, el tamaño, y la incidencia en comparación con los ratones de control. La

regeneración del hígado mediada por el Triclosán constituye el principal mecanismo promotor de tumores a través del cual actúa. Estos resultados sugieren fuertemente que hay efectos adversos para la salud en los ratones con exposición al Triclosán a largo plazo, sobre todo en la mejora de la fibrogénesis hepática y la tumorigénesis, como la pertinencia de toxicidad hepática para los seres humanos deben ser evaluados.¹¹

En otro trabajo de investigación se demuestra el efecto negativo de productos que son empleados frecuentemente por el hombre, tal es el caso de Rayme¹² que probó el efecto toxicológico agudo de dos marcas comerciales de detergentes sobre alevinos de trucha "arco iris" *Oncorhynchus mykiss*, hallando que concentraciones de 0,345 g/L y 0,267 g/L de dichos detergentes fueron letales a las 24 horas de exposición, reduciéndose dichos valores a las 48 horas de exposición.

Bao, evaluó la toxicidad ejercida por el Triclosán (parte componente de un enjuague bucal y otros productos de cuidado personal), donde manifiesta como introducción que el Triclosán generalmente sufre pocas transformaciones o incluso ninguna en las plantas de tratamiento de aguas residuales, produciéndose así su entrada en el medio ambiente, donde es probable que se bioacumule, por lo que podría tener un impacto negativo en organismos de diferentes niveles tróficos, como es el caso de la comunidad microalgal, de quien depende la mayor parte de la producción primaria de los ecosistemas acuáticos, para el cual evaluó su efecto sobre crecimiento de la microalga de agua dulce *Chlamydomonas moewusii* Gerloff (medido como densidad celular), sobre la concentración de pigmentos o la actividad celular. Los resultados que halló demuestran que el Triclosán presenta efectos nocivos significativos ($p < 0,05$) en las variables en estudio³.

Saavedra, menciona que los efluentes de plantas de tratamiento de aguas servidas son mezclas muy complejas, que liberan altos niveles de contaminantes al ambiente, teniendo como base múltiples estudios que han demostrado que los efluentes de plantas de tratamiento de agua servidas afectan distintos niveles fisiológicos en los organismos acuáticos. Este trabajo investigó la presencia y concentración de 16 contaminantes emergentes de variados grupos químicos (fármacos, productos de cuidado personal, droga psicoestimulante y disruptor endocrino) de dos efluentes de planta de tratamiento de aguas servidas de dos ciudades (Sta. Bárbara y Los Ángeles) de la cuenca del Río Biobío en Chile, que

atienden una población de 14 000 y 180 000 habitantes respectivamente. Este análisis se desarrolló el año 2010 y 2013. Los compuestos fueron analizados usando extracción fase sólida, cromatografía líquida con ionización por electrospray y detector de masa. Para evaluar los efectos de efluente de planta de tratamiento de aguas servidas, se expusieron peces juveniles de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) por períodos de tiempos 7; 14 y 21 días a diferentes concentraciones de efluente (control, 12.5%; 25%; 50%; 75% y 100%). Además se realizaron experimentos en terreno, seleccionando sitios de pre-impacto, impacto y post-impacto en el estero Quilque y río Biobío, respectivamente (considerando la descarga de efluente de aguas servidas con el cual se realizaron los experimentos de laboratorio), en cada sitio se expusieron jaulas con truchas juveniles por períodos de 7; 14 y 21 días. Índices somáticos (hepatosomático, gonadosomático y factor de condición), parámetros hematológicos, niveles hormonales circulantes (testosterona, 17 β -estradiol) e histología gonadal fueron evaluados. Los resultados indicaron la ocurrencia de contaminantes de interés emergente siendo las concentraciones más altas la de los fármacos Gemfibrozil (29.783 ng/L⁻¹), Ibuprofeno (3.800 ng/L⁻¹), Atenolol (2.590 ng/L⁻¹), Diclofenaco (1.945 ng/L⁻¹), el desinfectante Triclosán (1.856,7 ng/L⁻¹), Cafeína (1.395 ng/L⁻¹) y e-Carbamazepina (1.345 ng/L⁻¹), en el efluente de planta de tratamiento de la ciudad de Los Ángeles, durante el año. Esta tendencia se evidencia en la mayoría de los contaminantes analizados. El experimento con el efluente Los Ángeles mostró valores mayores en todas las respuestas medidas. Evidenciando una tendencia de aumento de valores en los niveles hormonales circulantes, hematocrito, recuento de eritrocitos a mayores concentraciones en los tiempos 7; 14 y 21 días, siendo la concentración 100%, los valores más altos. Esta misma tendencia se encontró para el experimento en terreno en el estero Quilque, con valores mayores que el experimento del río Biobío. Se evidenciaron efectos bioquímicos, alteraciones reproductivas e inmunes en todos los experimentos (laboratorio y terreno), siendo los resultados obtenidos a la concentración 100%, similares o mayores con lo obtenido en sitio de impacto y post-impacto de los experimentos de terreno¹³.

Iannacone y colaboradores, mencionan que la *Artemia franciscana* “camarón salino”, es un crustáceo sensible a un amplio rango de compuestos químicos, de fácil manejo en el laboratorio, y con un cultivo relativamente sencillo y barato, por lo cual evaluaron la toxicidad de agentes antiparasitarios, antimicrobianos e

insecticidas sobre *Artemia franciscana* para establecer la concentración prevista que no causa efectos sobre los organismos marinos y obtener los niveles guía para la protección de la vida acuática. Con los nauplios II de *Artemia franciscana*, dentro de las 24 horas de eclosión, se procedió a realizar los bioensayos de toxicidad calculando la Concentración letal media (CL₅₀) a 24 horas y 48 horas de exposición. Observando la siguiente secuencia de mayor a menor toxicidad a 48 horas de exposición para tres agentes antiparasitarios comerciales: Mebendazol > Albendazol > Metronidazol. Con relación al efecto tóxico letal de seis agentes antimicrobianos comerciales se vio la siguiente secuencia de mayor a menor toxicidad a 48 horas de exposición: Triclosán > Clotrimazol > Itraconazol > Ketoconazol > Oxitetraciclina > Mimosa. El camarón salino mostró efectos de mortalidad por acción de cinco sustancias con propiedades insecticidas, encontrándose el siguiente orden de mayor a menor mortalidad a 48 horas de exposición: Cipermetrina > Rotenona > Carbaryl > Canela > Malatión. Las tres sustancias químicas calificadas como muy tóxicas y que presentaron los niveles guía más bajos para la protección de la vida acuática fueron Triclosán (0,72 ug/L⁻¹), Cipermetrina (0,84 ug/L⁻¹) y Clotrimazol (0,97 ug/L⁻¹). Se observó que diez (71,42%) de las sustancias químicas mostraron fuerte actividad citotóxica¹⁴. Finalmente Yueh y colaboradores, menciona que el Triclosán es un toxico ambiental que genera muchos efectos biológicos, ya que es un agente antimicrobiano de amplio espectro que se ha añadido a los productos de cuidado personal, incluyendo jabones de tocador y cosméticos, e impregnada en numerosos materiales diferentes que van desde la ropa deportiva para el envasado de alimentos. La eliminación constante del Triclosán en el sistema de alcantarillado está creando un peligro para la salud pública y ambiental. Debido a sus propiedades químicas de bioacumulación y resistencia a la degradación, el Triclosán es ampliamente detectada en diversos compartimentos del medio ambiente en concentraciones que van de nanogramos a microgramos por litro. Los estudios epidemiológicos indican que niveles significativos del Triclosán se detectan en los fluidos corporales en todos los grupos de edad humanos. A continuación documentan la emergente evidencia de in vitro e in vivo en animales y estudios de toxicología ambiental, lo que demuestra que el Triclosán ejerce efectos adversos en diferentes sistemas biológicos a través de diversos modos de acción. Teniendo en cuenta el hecho de que los seres humanos están

expuestos simultáneamente a Triclosán, se especula que los efectos adversos inducidos por Triclosán pueden ser relevantes para la salud humana¹⁵.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Toxicidad

Se denomina toxicidad a la actividad tóxica y específica, vinculada a la estructura química de una sustancia exógena al organismo (xenobiótico) por su interacción con moléculas endógenas (receptor).¹⁶

Precisamente esta actividad biológica es la que permite juzgar acerca de la capacidad que posee una sustancia para poder actuar como nociva para un organismo vivo bajo unas determinadas condiciones.¹⁷

2.2.2. Toxicidad aguda

Respuesta de los organismos sometidos a la acción de una sustancia en una dosis única en 24 y 48 horas, usualmente el punto final es la muerte del animal, pudiendo aparecer sus efectos en pocas horas o días, se mide en número de especímenes muertos y también puede ser expresado en porcentaje.¹⁷

2.2.3. Enjuague bucal

El enjuague bucal es una solución que suele usarse para mantener la higiene bucal, después del cepillado de dientes, para eliminar las bacterias y microorganismos causantes de caries y eliminar el aliento desagradable.¹⁸ Los enjuagues bucales son habitualmente soluciones hidroalcohólicas, esto es una mezcla de alcohol y agua. Estas soluciones suelen utilizarse como vehículo para otros ingredientes activos tales como la clorhexidina, el cloruro de cetilpiridinio, la hexetidina y el triclosán.¹⁸

2.2.4. Concentración letal media (CL₅₀)

Concentración de la sustancia tóxica que genera el 50% de mortalidad de los organismos sometidos a su acción. Se expresa en mg de sustancia por litro, y un tiempo determinado de exposición (horas).¹⁹

2.2.5. Mortalidad

Respuesta de los organismos sometidos a la acción de una sustancia tóxica en el periodo de 24 horas.¹⁷

2.2.6. Contaminantes emergentes

Contaminantes no regulados por la normativa ambiental, que pueden ser candidatos a regulación futura dependiendo de investigaciones sobre sus efectos potenciales en la salud y los datos de monitoreo con respecto a su incidencia.²⁰

2.2.7. Ecotoxicidad

Efectos toxicológicos causados por agentes físicos y químicos en los ecosistemas, mediante el análisis de las rutas de exposición, la entrada al organismo y efectos nocivos en individuos, poblaciones y comunidades.²¹

2.2.8. Porcentaje de mortalidad

Frecuencia de individuos muertos o inmóviles en relación con el total de individuos sometidos a la acción de un agente químico.¹⁷

2.2.9. Alevinos de trucha

Son considerados alevinos una vez reabsorbido su vesícula vitelina, nadan libremente y reciben el alimento sin ninguna dificultad.²² Considerado bioindicador, ya que es muy sensible a cambios de temperatura y de turbidez como consecuencia de la incorporación de desechos urbanos e industriales y a aguas con baja concentración de oxígeno.¹⁹

2.3. Bases teóricas

2.3.1. El agua

El agua es un líquido vital para la existencia de todos los organismos vivos, ya que es indispensable en los procesos biológicos y es habitad de múltiples comunidades acuáticas, su extracción para uso doméstico, agrícola, minero, industrial, para la generación de energía, así como el vertido de contaminantes, puede llevar a un deterioro en su calidad y cantidad, impactando no solo al ecosistema acuático, sino también a la disponibilidad de agua para el consumo humano.²³

2.3.2. Contaminación de los ecosistemas acuáticos continentales

Se define como contaminación a la introducción en un medio cualquiera de un contaminante, es decir, la introducción de cualquier sustancia o forma de energía con potencial para provocar daños, irreversibles o no, en el medio inicial, así mismo al cambio perjudicial en las características físicas, químicas o biológicas del ambiente y que puede afectar la vida humana y de otras especies. La presencia en el ambiente, por acción del hombre, de cualquier sustancia química, objetos, partículas, microorganismos, formas de energía o componentes del paisaje urbano o rural, en niveles o proporciones que alteren la calidad ambiental y, por ende, las posibilidades de vida.²⁴

2.3.3. Contaminación del agua por productos antisépticos

Son compuestos no volátiles, relativamente estables y poco solubles en el agua. Una de las principales rutas a través de las cuales este compuesto entra en el

ambiente es a través de los PPCPs (productos farmacéuticos y de higiene personal). Debido a las características de utilización de estos productos antisépticos, es directamente descargado a las aguas residuales. Así la cantidad de este producto que pasará a las aguas receptoras (y, por tanto, al ambiente) depende de su resistencia a la degradación química y biológica en el proceso de tratamiento del agua residual y depende también del reparto que se produzca entre los sedimentos y sustancias sólidas disueltas.²⁵

2.3.4. Toxicidad acuática

Algunos organismos acuáticos tienen la capacidad de acumular metales sin que esto le cause un daño aparente. De esta forma, concentraciones de metales pueden ingresar a la cadena alimenticia y causar daños considerables. La mayoría de compuestos que contiene carbono son descritos como orgánicos con algunas excepciones como el CO₂ y el CO. El carbono tiene la habilidad de formar una gran diversidad de compuestos orgánicos, muchos de los cuales son la base para los organismos vivos.²⁶

2.3.5. Bioindicadores

Existe un consenso general sobre lo siguiente: la información biológica no reemplaza los registros físicos y químicos para definir la calidad del agua, especialmente asociada al crecimiento poblacional y su industrialización. Un indicador es característico de un ambiente, que cuando mide, cuantifica la magnitud del estrés, las características del hábitat y el grado de exposición del estresor o el grado de respuesta ecológica a la exposición.²⁷

El empleo de bioindicadores en diversos países está enfocado no solo para medir la salud del ecosistema acuático, sino también para determinar el impacto potencial al ámbito humano, especialmente el económico. Con base a este último, se deben asociar al desarrollo sustentable, y por lo tanto la elección de un indicador necesariamente debe tener una escala amplia. Un indicador es pues, un organismo selecto por el grado de sensibilidad o tolerancia a diversos tipos de contaminantes. Los organismos acuáticos se pueden utilizar a distintas escalas dentro del monitoreo biológico, que puede permitir llegar a conclusiones que establezcan los destinos y usos del agua.²⁷

2.3.6. Efecto de la contaminación sobre los organismos acuáticos

Los organismos vivos que habitan en los cursos de agua presentan estas adaptaciones evolutivas a unas determinadas condiciones ambientales, y presentan unos límites de tolerancia a las diferentes alteraciones de las mismas.

Estos límites de tolerancia varían, y así, frente a una determinada alteración se encuentran organismos “sensibles” que no soportan las nuevas condiciones impuestas, comportándose como “intolerantes”, mientras que otros, que son “tolerantes” no se ven afectados. Si la perturbación llega a un nivel letal para los intolerantes, estos mueren y su lugar es ocupado por comunidades de organismos tolerantes.²⁸

2.3.7. Rangos de tolerancia de los organismos

Cada especie en particular gracias a su conformación genética específica, está en la capacidad de sobrevivir únicamente dentro de determinados rangos ambientales. Aquellas que pueden soportar grandes espectros fisicoquímicos reciben el nombre de euritípicas y por ello se presentan en un gran número de regiones geográficas o están ampliamente dispersas dentro de un mismo ecosistema. Contrariamente, las especies estenotípicas son aquellas cuyos rangos de tolerancia ambiental son estrechos y por ellos son indicadoras de una condición fisicoquímica concreta. De este modo, la presencia de una de estas especies señala condiciones ambientales particulares, o lo que es igual, al encontrarse una variable fisicoquímica en un rango definido, se sugiere su presencia o ausencia.²⁹

2.3.8. Bioensayos

Los bioensayos son experimentos que se realizan bajo condiciones controladas de laboratorio con el propósito de evaluar cualitativamente y cuantitativamente el efecto que los agentes xenobióticos producen sobre organismos vegetales o animales cuidadosamente seleccionados y estandarizados.²⁹

Los bioensayos de toxicidad son una herramienta intensamente utilizada en países desarrollados, con el objeto de evaluar en forma efectiva y eficiente los efectos tóxicos agudos y crónicos de la contaminación en los organismos vivos. En la práctica esta técnica cuantifica la relación concentración - efecto de compuestos químicos conocidos o mezclas complejas, por medio de respuestas biológicas medidas bajo condiciones controladas y estandarizadas.²⁹

a. Evaluación de la toxicidad

La toxicidad de los agentes tóxicos en un organismo acuático, se expresa usualmente en términos de DL_{50} (dosis letal media); este valor representa la cantidad de tóxico por unidad de peso que mata 50% de los animales empleados en la prueba. La DL_{50} comúnmente se expresa en $mg\ kg^{-1}$ y ocasionalmente en mg por animal.²⁴

b. Aplicación de las pruebas de toxicidad (bioensayos)

La ecotoxicología tiene como objetivo el desarrollo de protocolos de ensayo como herramientas de predicción temprana y eficiente necesarias para definir los umbrales permitidos, con niveles aceptables las cuales servirán como guía para la toma de decisiones de las entidades reguladoras.²⁴

Bioensayo, en cualquier método por medio del cual alguna propiedad de una sustancia o material, es medida en términos de la respuesta biológica que produce. El bioensayo, se emplea para determinar la toxicidad de las sustancias químicas con supuestas propiedades tóxicas.²⁴

Para medir la toxicidad de las aguas de supuestos contaminantes con residuos químicos en lo que respecta a la vida biológica son los ensayos biológicos. La finalidad de éstos es:

- Determinar la concentración de un agua residual donde se produzca la muerte de un 50% de los organismos de ensayo en un periodo de tiempo especificado.
- Determinar la concentración máxima que no causa efecto aparente sobre los organismos de ensayo durante 48 horas.

El uso de bioensayos para la evaluación de toxicidad de sustancias liberadas al medio a través de efluentes, ha llevado a la utilización de biomonitores propios de los ambientes evaluados, lo cual favorece indirectamente la preservación de la biodiversidad local.²⁴

c. Dosis letal media (DL₅₀) y concentración letal media (CL₅₀)

El nivel de estímulo que causa una respuesta en el 50% de los individuos de una población bajo estudio, es un importante parámetro de caracterización denotado como DL₅₀ por dosis letal media (o DE₅₀ por dosis efectiva media, CL₅₀ por concentración letal media, CE₅₀ por concentración efectiva media y Ltm por límite de tolerancia media). El periodo de tiempo durante el cual se expone el estímulo debe ser especificado, por ejemplo, 24 horas DL₅₀, esto con el fin de comparar y estimar la potencia relativa del estímulo.¹⁹

La determinación de la DL₅₀, se utiliza para encontrar umbrales de toxicidad para determinadas sustancias; en el desarrollo de los tensioactivos se utiliza para determinar los límites de resistencia de organismos acuáticos, por ejemplo, ante ciertos biosidas a concentraciones altas se puede llegar a correlacionar la bioactividad con el valor de la DL₅₀ y al mismo tiempo su grado de toxicidad. La determinación de la DL₅₀ requiere de la estadística cuantil, para lo cual es

necesario transformar los valores de respuesta obtenidos en unidades Anglit, Logit o Probit y las dosis suministradas en unidades logarítmicas conocidas como dosis matemáticas.¹⁹

d. Determinación de la DL₅₀ y CL₅₀

Para la determinación de la DL₅₀ y/o el CL₅₀, el primer paso es el conteo de los alevinos muertos en cada solución y en el testigo, se corrigen las mortalidades mediante la fórmula de Abbott y paralelamente se utiliza otra corrección que se basa en el porcentaje de supervivencia de los individuos, esta corrección es utilizada en algunos procedimientos encontrados.¹⁹

Uso de la fórmula de Abbott (1925) para corregir la mortalidad natural.

$$MC = \frac{X - Y}{100 - Y} (100)$$

Dónde:

MC = mortalidad corregida (%)

X = mortalidad en el tratamiento (%)

Y = mortalidad en el testigo (%)

En general cuando se obtiene más de 15% de mortalidad en el testigo, los resultados deben desecharse.

2.3.9. Los antisépticos

Son sustancias empleadas en tejidos vivos (piel, mucosas, entre otros), que previenen o impiden el crecimiento o la acción de los microorganismos por inhibición de su actividad o por la destrucción de ellos. Deben reunir suficiente actividad local y general.³⁰

a. Función de los antisépticos

- Acción preventiva: aunque no sirven para tratar la placa y enfermedades asociadas, sí inhiben la formación de la placa, por su acción antibacteriana. Incluyen agentes como la Hexetidina (gracias a sus propiedades anti fúngicas y antibacterianas se utiliza mucho como antiséptico), Cloruro de Cetilpiridinio, aceites esenciales fenólicos y Triclosán (reduce la placa, aunque en menor medida que la clorhexidina).³⁰
- Antes del cepillado: su función es reblandecer la placa para favorecer el cepillado. Contienen tensioactivos (detergentes).³⁰
- Tratamiento de la placa, gingivitis y caries: el principio activo son las Biguanidas, sobre todo el Digluconato de Clorhexidina (agente antiséptico de amplio espectro y el más utilizado en enfermedades de las encías y para

remineralizar las caries). Deben utilizarse 30 minutos después del cepillado, ya que los dentífricos utilizados pueden anular su efectividad, ya que sus principios activos pueden ser inactivados por compuestos presentes en los dentífricos.³⁰

- Tratamiento de la hipersensibilidad: este tipo de colutorios suelen contener Nitrato Potásico o Cloruro de Estroncio.³⁰

Los enjuagues bucales para que sean efectivos y que no generen ninguna reacción al paciente deben tener las siguientes características:

- No deben ser tóxicos local ni sistémicamente
- No deben producir resistencia bacteriana
- Debe tener efecto localizado en placa bacteriana
- Debe ser de gran aceptación por parte del usuario
- Debe ser eficaz

En conclusión los enjuagues bucales deben ser de tal forma que no perjudiquen la salud del paciente, deben ser capaces de eliminar todas las bacterias dañinas, deben estar compuestos de acuerdo a la necesidad de cada paciente, sobre todo que pueda eliminar la placa bacteriana y sobre todo ser eficaz para cualquier problema que posea la persona que lo utiliza.³⁰

2.3.10. Enjuague bucal

El enjuague bucal es una solución que suele usarse para mantener la higiene bucal, después del cepillado de dientes, para eliminar las bacterias, microorganismos causantes de caries y eliminar el aliento desagradable.³¹

Los enjuagues bucales no alcanzan un alto nivel de ventas, aunque son populares en otros países, particularmente en estados Unidos, mientras en América del Sur se comercializa en base de una necesidad social de aliento agradable.³²

b. Composición general de los enjuagues bucales

- **Triclosán:** Es un derivado fenólico, el 2,4,4, triclora-2-hidroxidifenil éter, antimicrobiano de amplio espectro, usado ampliamente en productos de consumo como jabones, detergentes, pasta dental y cosméticos.^{33, 34} Ofrece excelente estabilidad química, poco soluble en agua, lo es en ácidos grasos, atraviesa fácilmente las membranas.

El mecanismo de acción del Triclosán es por interrupción de la membrana bacteriana a través del bloqueo de la síntesis de lípidos. El Triclosán bloquea el sitio activo de una enzima llamada proteína reductasa transportadora de

enoil-acil, proveniente de los ácidos grasos manufacturados por la bacteria, necesarios para la construcción de la membrana celular y de otras funciones vitales.³⁵ Actúa también sobre la síntesis de ARN, ácidos nucleicos y proteínas.³⁶

Entre sus propiedades, el Triclosán tiene rapidez de acción, excelente persistencia (4 horas) y actividad acumulada contra microorganismos residentes y transitorios. Su eficacia es inhibida mínimamente por la presencia de materia orgánica, y tiene gran afinidad con la piel, no produciendo irritación ni efectos tóxicos.³⁷

El Triclosán está disponible en un amplio rango de productos, incluyendo jabones para la preparación pre quirúrgico de la piel, lavado de manos y antisépticos, y como soluciones en base alcohólica en una amplia variedad de cosméticos, dentífricos, enjuagues bucales, etc. Se utiliza además como desinfectantes de superficies y lavado de manos en la industria de la alimentación.³⁷

- **Fenoles clorados:** Paraclorometacresol y paraclorometaxilenol son útiles para uso de enjuagues bucales, por sus propiedades antibacterianas y su sabor. No son muy solubles en agua, pero pueden solubilizarse con terpinol (u otros solubilizantes apropiados) y jabón para dar un uno por ciento de principio activo en solución.³²
- **Timol (isopropil metacresol):** el timol no es muy soluble, pero se puede solubilizar de modo habitual, por ejemplo con alcoholes adecuados, o utilizarse en solución acuosa con bórax.³²

El timol es un compuesto principal del enjuague bucal debido a su propiedad antibacteriana, antiinflamatoria y aséptica, por otro lado desestabiliza y penetra las membranas de las células bacterianas, precipita el citoplasma e interfiere con la función de la membrana, inhibiendo la utilización de oxígeno, lo que ocasiona una disminución de los niveles de ATP y la muerte celular.³⁸

- **Peróxido de hidrogeno:** es un excelente agente antibacteriano no tóxico para ser utilizado en enjuagues bucales. Se puede utilizar para limpiar úlceras y abscesos de la boca. Una solución de una parte de peróxido de hidrogeno diluido con ocho partes de agua es útil como enjuague bucal, o dos veces la concentración se puede utilizar para cavidades sépticas. Debido a su inestabilidad no es normalmente utilizado en enjuagues bucales de marca comercial.³²

- **Hexaclorofeno:** el hexaclorofeno es sustantivo para la membrana de la mucosa, y es eficaz agente antibacteriano. La concentración sugerida es de 0,02 % en una mezcla de alcohol agua, al 24 %. Se han expresado ciertas reservas en relación a su posible toxicidad.³²
- **Cuaternarios:** en la actualidad está muy arraigado el uso de cuaternarios en enjuagues bucales. Estos compuestos asocian propiedades antibacterianas y sustantivas, y muchos de ellos no son tóxicos ni irritantes a las concentraciones normalmente utilizadas. Debido a sus propiedades antibacterianas, muchos de ellos son efectivos frente a la placa. El Cloruro de Benzotónio se utiliza para este fin, pero probablemente los antibacterianos más efectivos son los del tipo Clorhexidina. Desgraciadamente, la Clorhexidina, en común con la mayoría de los catiónicos, puede producir manchas pardas en los dientes con su uso continuo. Sin embargo, estas manchas se eliminan fácilmente con un buen cepillado de dientes.³²
- **Otros componentes de enjuagues bucales:** se han utilizado Ácido Tánico, Alumbre y Sales de Zinc en enjuagues bucales por sus propiedades astringentes. Generalmente se acepta que, por esta propiedad, tiene efectos anti sangrantes en las encías. También es comúnmente utilizada una solución de Hipoclorito de Sodio por su efecto antibacteriano.³²
- **Saborizante de enjuagues bucales:** Una característica esencial de un buen enjuague bucal es su sabor, pues el consumidor debe sentir el frescor de la boca después de su uso. Los saborizantes comúnmente utilizados son menta, mentol, eugenol, entre otros, y todos dejan la boca con una sensación de frescor.³²

c. Composición del enjuague bucal Dento y Listerine

Los componentes de los enjuagues bucales varían tal es el caso para el enjuague bucal Dento y enjuague bucal Listerine.³⁹

Tabla 1. Componentes de los enjuagues bucales Dento y Listerine en 100 ml de Volumen

Enjuague bucal Dento (100 ml)		Enjuague bucal Listerine (100 ml)	
Composición	Cantidad	Composición	cantidad
Triclosán	0,03 %	Alcohol	28,4 ml
Monofluorofosfato de sodio	0,01 %	Timol	0,06 g
Fluor	1,32 %	Eucaliptol	0,09 g
Agua desionizada	74,26%	Salicilato de Metilo	0,05 g
alcohol etílico	5,0%	Mentol	0,04 g
glicerina	8,02 %	Acido Benzoico	0,150 g
propilenglicol	7,0%		
mentol	0,02%		
metil parabeno	0,050%		
propil parabeno	0,050%		
sacarina sódica	0,03 %		
Otros compuestos	4,21 %		

Fuente: León, R. A.³⁹

d. Mecanismo de acción del Triclosán

El Triclosán es un derivado fenólico con propiedades antibacterianas y antifúngicas de amplio espectro que se emplea en diversos enjuagues bucales, es un medicamento seguro y eficaz para reducir en 20-30% la placa bacteriana, lo cual previene la aparición de caries, periodontitis y halitosis.⁴⁰

El Triclosán es eficaz frente a bacterias gram positivas y gram negativas, incluyendo una acción directa sobre *Streptococcus mutans* impidiendo su desarrollo.⁴⁰

El mecanismo de acción antimicrobiano del Triclosán es en la membrana citoplasmática de la bacteria.⁴⁰

Dependiendo de la concentración del Triclosán tiene 2 mecanismos de acción:

- **Efecto bacteriostático:** Al inhibir la captación de aminoácidos por la bacteria.
- **Efecto bactericida:** Causando la desorganización de la membrana citoplasmática bacteriana, y filtración de los contenidos celulares.

El Triclosán es un potente agente antibacteriano y fungicida, actuando como biocida a nivel de diversas dianas en el citoplasma y la membrana celular. No obstante, a bajas concentraciones, el Triclosán actúa como agente bacteriostático principalmente a nivel de la inhibición de la síntesis de ácidos grasos, en el cual el Triclosán se une a la proteína transportadora enoil-acil reductasa (ENR), codificada por el gen *FabI*. Esta unión aumenta la afinidad de la enzima por el NAD⁺, lo cual desemboca en la formación de un complejo

ternario estable de ENR-NAD⁺-Triclosán incapaz de participar en la síntesis de ácidos grasos (moléculas imprescindibles en la construcción y mantenimiento de las membranas celulares). El ser humano no posee la enzima ENR, de modo que no se ve afectado por el Triclosán.⁴⁰

Por otro lado el mecanismo de acción del Triclosán a bajas concentraciones provoca que los derivados fenólicos actúen inhibiendo enzimas esenciales del metabolismo o uniéndose a metabolitos esenciales de la pared celular, provocando de este modo la muerte de las bacterias, mientras a concentraciones más elevadas provocan la lisis celular y la salida de constituyentes intracelulares. El Triclosán inhibe también una enzima implicada en la síntesis de los ácidos grasos: enoil-ACP reductasa, actividad eficaz frente a bacterias Gram positivas y la mayoría de bacterias Gram negativas, pero con escasa o variable actividad frente a *Pseudomonas* spp. También es activo frente a los hongos y virus con o sin cubierta. Posee actividad razonable frente a Micobacterias y *Candida* spp, pero tiene escasa actividad frente a hongos filamentosos.⁴⁰ Detalles esquemáticos del efecto del Triclosán se observa en la Figura 1.

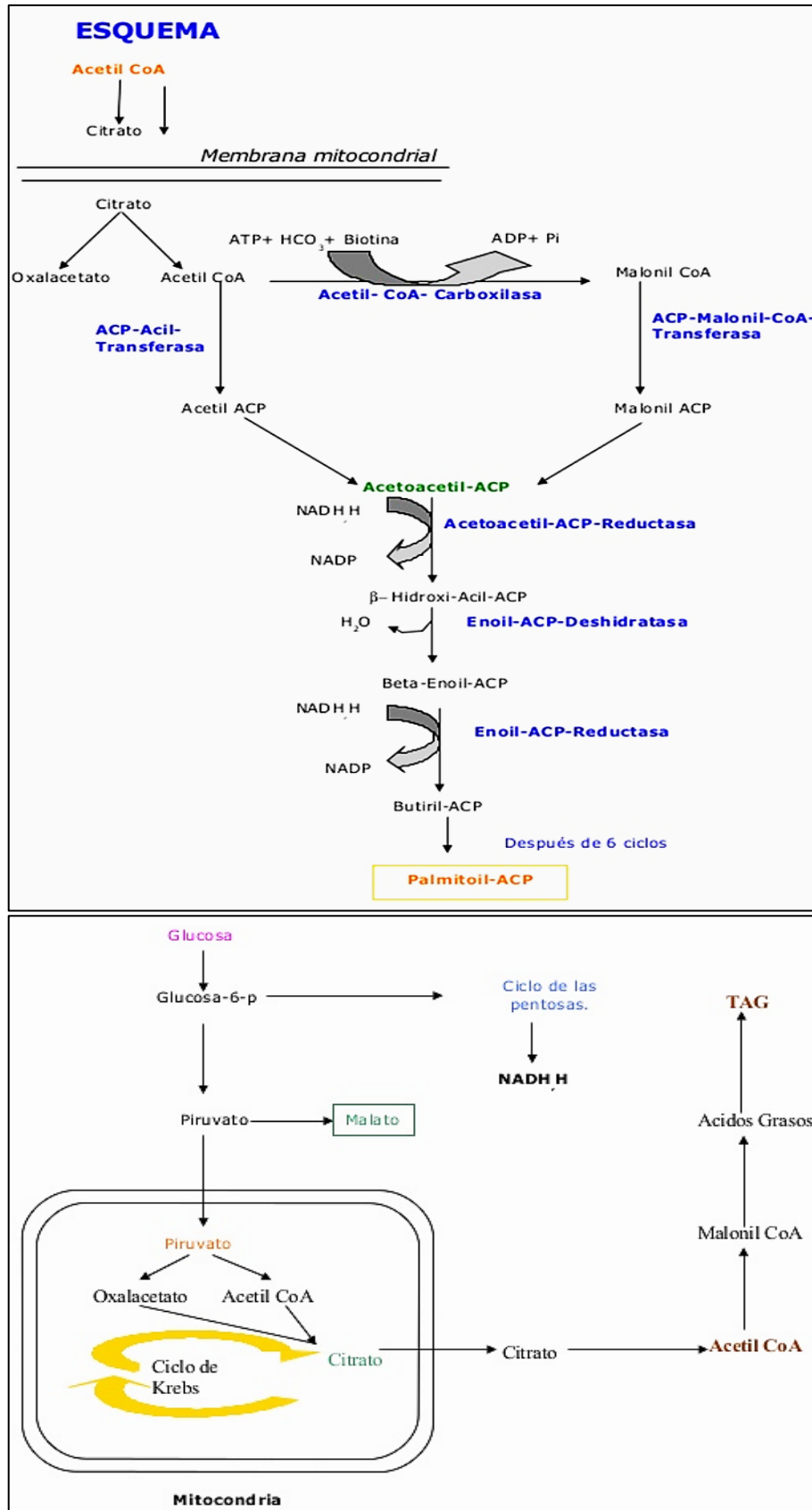
Es importante destacar que se han observado resistencias a este antiséptico. El mecanismo de resistencia es un transportador en la membrana del microorganismo capaz de expulsar al exterior Triclosán y otros antibióticos. *Pseudomonas aeruginosa* es uno de los microorganismos que presenta este mecanismo de resistencia; por esta razón el Triclosán no es efectivo frente a él.

2.3.11. La “trucha arco iris” *Oncorhynchus mykiss*

a. Taxonomía

De acuerdo a Helfman *et al.*⁴¹ la clasificación de la “trucha arco iris” es la siguiente:

Reino	: Animalia
Sub Reino	: Metazoos
Phylum	: Chordata
Sub Phylum	: Vertebrata
Clase	: Actinopterygii
Orden	: Salmoniformes
Familia	: Salmonidae
Género	: <i>Oncorhynchus</i>
Especie	: <i>mykiss</i>
Nombre común	: “trucha arco iris”



Fuente: León, R. A.³⁹

Figura 1. Mecanismo de acción del triclosán en la membrana mitocondrial de las bacterias

b. Descripción

Esta especie se caracteriza por tener el cuerpo cubierto con finas escamas y de forma fusiforme (forma de huso), la coloración de la trucha varía de acuerdo al ambiente en que vive, edad, estado de maduración sexual y otros factores, como por ejemplo la influencia del ambiente en riachuelos sombreados presentan color plomo oscuro mientras que en un estanque bien expuesto a los rayos del sol ofrece una tonalidad mucho más clara, verde oliva en su parte superior luego una franja rojiza para finalizar con el abdomen blanco; además posee gran número de máculas negras en la piel, a manera de lunares, por lo que en otros lugares se le llama también trucha pecosa. La denominación de trucha arco iris se debe a la presencia de una franja de colores de diferentes tonalidades, con predominio de una franja rojiza sobre la línea lateral en ambos lados del cuerpo.⁴²

c. Ecología

El hábitat natural de la trucha son los ríos, lagos y lagunas de aguas frías, limpias y cristalinas; típicas de los ríos de alta montaña. La “trucha arco iris” prefiere las corrientes moderadas y ocupa generalmente los tramos medios de fondos pedregosos y de moderada vegetación. Son peces de agua frías, aunque el grado de tolerancia a la temperatura es amplio, pudiendo subsistir a temperaturas de 25°C durante varios días y a límites inferiores cercanos a la congelación.⁴²

d. Alimentación

El alimento debe cubrir las necesidades de los peces tanto en lo que a energía se refiere, como a los diferentes tipos de aminoácidos y nutrientes que son requeridos para su desarrollo y crecimiento. En la truchicultura se utilizan alimentos artificiales balanceados puesto que la “trucha arco iris” es una especie carnívora. Como nutrientes necesarios se puede citar proteínas, hidratos de carbono, grasas, minerales, fibras y vitaminas.⁴⁰

La formulación del alimento y tasa de alimentación diaria, se hace de acuerdo a los requerimientos del pez, tomando como referencia determinados parámetros como: tamaño, peso y estadio sexual del animal. Para estimar la cantidad de alimento a suministrar diariamente a un estanque o jaula, se debe tener en cuenta la temperatura del agua, estadio del pez, biomasa total por estanque. Hay que tener en cuenta que la calidad y rendimiento del alimento se puede medir a través del índice de conversión alimenticia (cantidad de alimento que come y se transforma en peso vivo).⁴⁰

2.3.12. Características fisicoquímicas de las aguas naturales

Las principales características fisicoquímicas que se pueden determinar en las aguas son:

a. Sólidos disueltos totales

Las corrientes transportan materiales, principalmente sólidos disueltos o sólidos suspendidos. Los primeros se refieren a la materia orgánica en forma iónica y los segundos, a la materia orgánica como detritus y de origen aluvial como restos de rocas, arcilla, arena y similares. Los sólidos suspendidos pueden verse a simple vista como pequeñas partículas y son los que dan turbiedad al agua. Desde el punto de vista ecológico, aguas con elevadas cantidades de sólidos disueltos indican alta conductividad que puede ser un factor limitante para la vida de muchas especies por estar sometidas a una presión osmótica. Por su parte un alto contenido de sólidos en suspensión o alta turbiedad, también es limitante para el ecosistema acuático ya que impide el paso de los rayos solares, daña y tapona el sistema de intercambio gaseoso en los animales acuáticos y destruye su hábitat natural.⁴³

b. Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica de una muestra de agua es la expresión numérica de su capacidad para transportar una corriente eléctrica, esta capacidad depende de la presencia de iones en el agua, de su concentración total, de su movilidad, de su carga o valencia y de las concentraciones relativas, así como de la temperatura de medición.⁴⁴

c. pH

El pH es una expresión del carácter ácido o básico de un sistema acuoso. En un sentido estricto, es una medida de la “actividad del ion hidronio” en un sistema acuoso, en un sentido práctico, es una medida de la “concentración molar del ion hidronio” en un medio acuoso. El pH es una medida de la intensidad ácida o alcalina de una muestra de agua, que difiere de los términos “acidez y/o alcalinidad”, en la medida de que estos últimos, lo que representan es la capacidad amortiguadora de la muestra y no de su carácter ácido o básico. Los conceptos de pH, alcalinidad y acidez se relacionan mutuamente debido a que el pH de la muestra, se utiliza como criterio para determinar si la capacidad amortiguadora de la muestra se ha de medir en función de su acidez o en función de su alcalinidad; en este sentido los conceptos de pH, acidez y alcalinidad, se asemejan mucho a los de temperatura y calor.⁴⁴

d. Alcalinidad

Este parámetro está íntimamente ligado con las formas en la cual se encuentran el dióxido de carbono. Cuando el CO_2 penetra en el agua, rápidamente se hidrata formando el ácido carbónico. La alcalinidad es una medida de la capacidad del agua para neutralizar ácidos (capacidad amortiguadora), esto es atribuible en gran medida a los bicarbonatos, hidróxidos y carbonatos. Es por esta característica que las aguas naturales tienen la capacidad de resistir a los cambios radicales de pH.²⁸

e. Dureza Cálctica y Magnésica

El calcio es un elemento importante en las aguas continentales (quinto en abundancia) y es el resultado del poder solvente del agua sobre las rocas calcáreas con las que se pone en contacto. Se presenta principalmente bajo la forma de carbonato de calcio y está relacionada con la concentración del ion catión Ca^{++} , alcalinidad, pH, temperatura y concentración total de sólidos disueltos. El calcio está muy relacionado con la dureza del agua y es importante para los seres vivos: nutriente en el metabolismo de las plantas superiores, para las membranas celulares, para la formación de estructuras calcáreas. El magnesio es requerido por las plantas por ser parte estructural de la clorofila como integrante de enzimas. En aguas naturales se presentan en concentraciones que van de 5 a 50mg/l. Los carbonatos en aguas duras están presentes por lo general como CaCO_3 en una proporción de más del 95%, con una presión parcial de CO_2 normal. La determinación de la dureza de las aguas es un espacio importante para la evaluación de los ecosistemas acuáticos, ya que al estar dada por el calcio y magnesio, está directamente involucrada en la productividad primaria de dichos ecosistemas.²⁸

f. Cloruros

Los cloruros ocupan un tercer lugar del porcentaje de los aniones en el agua, estos por lo general expresan la salinidad, por lo mismo es un factor importante en la distribución geográfica de los organismos. La determinación de los cloruros es una prueba relativamente sencilla: se utiliza el Cromato de potasio como indicador (amarilla) y se titula con nitrato de plata hasta la obtención de un color anaranjado o rojo ladrillo.²⁸

g. Dureza total

En las aguas continentales está determinada por la concentración de metales alcalinotérreos originados por depósitos calcáreos de la superficie terrestre. Los

iones de calcio y magnesio se combinan fácilmente con los bicarbonatos y carbonatos, dando origen a la dureza temporal y con los sulfatos, cloruros, nitratos lo que se conoce como dureza permanente. Debido a que en las aguas naturales los iones más comunes son los de Ca^{++} y Mg^{++} la dureza se define como la concentración de estos iones expresados como carbonato de calcio.²⁸

2.3.13. Propiedades Físicoquímicas del Agua para el cultivo de la “trucha arco iris”

La cantidad y calidad del agua determinan el éxito o fracaso de la actividad truchícola. En cuanto a la calidad del agua, esta se cuantifica a partir de la determinación de los factores físico-químicos, los mismos hacen favorables o desfavorables desde el punto de vista técnico – económico, el crecimiento de la trucha⁴⁰ A continuación los parámetros más importantes:

Tabla 2. Rango óptimo de las propiedades fisicoquímicas del agua para el cultivo de “trucha arco iris”.

Propiedades Físicoquímicas	Rango Optimo
Temperatura del agua	10 – 16°C
Oxígeno Disuelto	6,5 – 9 ppm
pH	6,5 – 8,5
CO ₂	< 7ppm
Alcalinidad	20 – 200 mg/L CaCO ₃
Dureza	60 – 300 mg/L CaCO ₃
NH ₃	No mayor de 0,02 mg/L
Nitratos	No mayor de 100 mg/L
Nitritos	No mayor de 0,055 mg/L
Nitrógeno amoniacal	No mayor de 0,012 mg/L
Fosfatos	Mayores de 500 mg/L
Sulfatos	Mayor de 45 mg/L
Fierro	Menores de 0,1 mg/L
Cobre	Menores de 0.05 mg/L
Plomo	0,03 mg/L
Mercurio	0,05 mg/L

Fuente: FONDEPES.⁴⁰

2.4. Marco legal

En el Perú se ha legislado la protección del recurso agua en normas ambientales, en normas sectoriales de relevancia ambiental y en el código penal.

2.4.1. Ley General del Ambiente (Ley N° 28611)

- En el Artículo 98° menciona que la conservación de los ecosistemas se orienta a conservar los ciclos y procesos ecológicos, a prevenir procesos de su fragmentación por actividades antrópicas y a dictar medidas de

recuperación y rehabilitación, dando prioridad a ecosistemas especiales o frágiles.

- En el Artículo 114° menciona que el acceso al agua para consumo humano es un derecho de la población. Corresponde al Estado asegurar la vigilancia y protección de aguas que se utilizan con fines de abastecimiento poblacional, sin perjuicio de las responsabilidades que corresponden a los particulares. En caso de escasez, el Estado asegura el uso preferente del agua para fines de abastecimiento de las necesidades poblacionales, frente a otros usos.
- El artículo 120° menciona que el Estado, a través de las entidades señaladas en la Ley, está a cargo de la protección de la calidad del recurso hídrico del país. Asimismo, el Estado promueve el tratamiento de las aguas residuales con fines de su reutilización, considerando como premisa la obtención de la calidad necesaria para su reúso, sin afectar la salud humana, el ambiente o las actividades en las que se reutilizarán.
- En el Artículo 121° menciona que el Estado emite en base a la capacidad de carga de los cuerpos receptores, una autorización previa para el vertimiento de aguas residuales domésticas, industriales o de cualquier otra actividad desarrollada por personas naturales o jurídicas, siempre que dicho vertimiento no cause deterioro de la calidad de las aguas como cuerpo receptor, ni se afecte su reutilización para otros fines, de acuerdo a lo establecido en los ECA correspondientes y las normas legales vigentes.

2.4.2. Código Penal

En sus artículos 304° y 305° prohíben la contaminación por vertimiento de residuos sólidos, líquidos, gaseosos o de cualquier otra naturaleza con infracción de las normas ambientales y por encima de los límites máximos permisibles, que causen o puedan causar perjuicio o alteraciones en la flora, fauna y recursos hidrobiológicos. El Artículo 307° prohíbe el vertimiento de desechos industriales o domésticos en lugares no autorizados o sin cumplir con las normas sanitarias y de protección al ambiente.

2.4.3. Ley de Recursos Hídricos (Ley N° 29338)

Regula el uso y gestión integrada de los recursos hídricos, que comprende agua superficial, subterránea, continental y los bienes asociados a ésta. Según el ordenamiento legal peruano el agua es un recurso natural renovable que constituye patrimonio de la Nación y es un bien de uso público, cuya administración solo puede ser otorgada y ejercida en armonía con el bien común,

la protección ambiental y el interés de la Nación. En consecuencia no hay propiedad privada sobre el agua, correspondiendo al Estado la asignación de derechos patrimoniales a particulares, condicionado a su disponibilidad.

El agua cuya regulación es materia de la Ley mencionada comprende lo siguiente:

- Los ríos y sus afluentes, desde su origen natural;
- La que discurre por cauces artificiales;
- La acumulada en forma natural o artificial;
- La que se encuentra en las ensenadas y esteros;
- La que se encuentra en los humedales y manglares;
- La que se encuentra en los manantiales;
- La de los nevados y glaciares;
- La residual;
- La subterránea;
- La de origen minero medicinal;
- La geotermal;
- La atmosférica; y
- La proveniente de la desalación

a. Clases de uso y orden de prioridad

La prioridad para el otorgamiento y el ejercicio de los usos sigue el siguiente orden:

Uso primario: que consiste en la utilización directa y efectiva del agua en sus fuentes naturales y cauces públicos con el fin de satisfacer necesidades humanas primarias, comprendiendo su uso para la preparación de alimentos, consumo directo y el aseo personal, así como su uso en ceremonias culturales, religiosas y rituales. No requiere autorización administrativa.

Uso poblacional: Consiste en la captación del agua de una fuente o red pública, debidamente tratada, con el fin de satisfacer las necesidades humanas básicas (preparación de alimentos y aseo personal), se ejerce mediante derechos de uso de agua otorgado por la Autoridad Nacional.

Uso productivo: Consiste en el uso del agua en procesos de producción o previos a los mismos, se ejerce mediante derechos de uso de agua otorgados por la Autoridad Nacional. Siendo los tipos de uso productivo, en orden prioritario, los siguientes:

- Agrario: pecuario y agrícola

- Acuícola y pesquero
- Energético
- Industrial
- Medicinal
- Minero
- Recreativo
- Turístico
- Transporte

b. Protección del agua

La Autoridad Nacional en coordinación con el Consejo de Cuenca e instituciones públicas competentes correspondientes, en el lugar sea en sus cauces naturales y artificiales controla, supervisa y fiscaliza el cumplimiento de las normas de calidad ambiental del agua sobre la base de los Estándares de Calidad Ambiental del Agua (ECA agua).

2.4.4. Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua (Decreto Supremo 015-2015-MINAM)

Establece el grado o el nivel de concentración de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos presentes en el agua, en su condición de cuerpo receptor y componente básico de los ecosistemas acuáticos, que no representa riesgo significativo para la salud de las personas ni para el ambiente, estos ECA son aplicables a los cuerpos de agua del territorio nacional en su estado natural y son obligatorios en los diseños de normas legales y las políticas públicas, siendo también obligatorio en el diseño y aplicación de todos los instrumentos de gestión ambiental.

Las categorías de los ECA para agua son las siguientes:

Categoría 1. Poblacional y recreacional

Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable.- Incluye las aguas que pueden ser potabilizadas con desinfección; las que pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional; y las que pueden ser potabilizadas con tratamiento avanzado.

Aguas superficiales destinadas para recreación.- Incluye las de contacto primario y las de contacto secundario.

Categoría 2. Actividades de Extracción y Cultivo Marino Costeras y Continentales

Extracción y cultivo de moluscos bivalvos

Extracción y cultivo de otras especies microbiológicas

Otras actividades

Categoría 3. Riego de Vegetales y Bebida de Animales

Vegetales de tallo alto y tallo bajo.- Incluye iguales parámetros fisicoquímicos, inorgánicos, orgánicos y plaguicidas.

Vegetales de tallo bajo.- Incluye parámetros biológicos más exigentes

Vegetales de tallo alto.- Incluye parámetros biológicos menos exigentes que el de tallo bajo

Para bebida de animales

Categoría 4. Conservación del ambiente acuático

Están referidos a aquellos cuerpos de agua superficiales que forman parte de ecosistemas frágiles, áreas naturales protegidas y/o zonas de amortiguamiento y que cuyas características requieren ser protegidas.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de la zona de estudio

El trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del Parque Zoológico “La Totorilla” de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.1.1. Ubicación política

Región : Ayacucho
Provincia : Huamanga
Distrito : Jesús Nazareno
Lugar : Parque Zoológico “La Totorilla”

3.1.2. Ubicación geográfica

El Parque Zoológico “La Totorilla” se encuentra ubicado en el kilómetro 1,5 de la Vía de Evitamiento, a diez minutos de la plaza Mayor de Huamanga.

Se encuentra ubicado al Nor Este de la capital de la provincia del mismo nombre, región Ayacucho. En el Anexo 18 se muestra el mapa de ubicación.

3.1.2.1. Coordenadas Geográficas:

Latitud sur : 13° 09' 26"

Longitud oeste: 74° 13' 22"

3.1.2.2. Coordenadas proyectadas (UTM)

Este : 0624044

Norte : 8616591

Altitud : 2761 m.s.n.m.

Zona de Vida : estepa espinosa – Montano Bajo Subtropical (ee – MBS)

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Dos marcas comerciales de enjuague bucal (Dento y Listerine) expendido en la ciudad de Ayacucho.

3.2.2. Muestra

1000 ml de enjuague bucal Dento y enjuague bucal Listerine.

3.2.3. Unidad experimental

Diez alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris” en un balde con diez litros de agua.

3.2.4. Sistema de muestreo

El sistema de muestreo fue aleatorio, para la obtención de la cantidad necesaria de enjuagues bucales a emplearse en el experimento, para el cual aleatoriamente se seleccionó una farmacia ubicada en el Jirón 28 de Julio de nuestra ciudad en la que se adquirió 1000 ml de los enjuagues bucales Dento y Listerine; también la asignación de los alevinos de trucha a las diferentes unidades experimentales fue aleatoria a partir de un lote de 1 000 unidades dispuestos en un estanque circular de fibra de vidrio. Finalmente, la disposición de las unidades experimentales, también fue de manera aleatoria en la cual se sorteó la posición de la fila y la columna en el conjunto de los baldes con alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris”.

3.3. Metodología y recolección de datos

El instrumento empleado para la recolección de datos fue la observación, a través del cual se pudo determinar el número de alevinos muertos (no presentan movimiento al toque con un palo de brocheta) a 24 y 48 horas de exposición en las soluciones de diferentes concentraciones de los dos enjuagues bucales.

3.3.1. Obtención de los alevinos de “trucha arco iris” *Oncorhynchus mykiss*

Los alevinos de “trucha arco iris” fueron adquiridos en el criadero comercial “El Bagrecito”, ubicado en la localidad de Ccatumpampa, distrito de Vinchos, los cuales fueron transportados a las instalaciones del Parque Zoológico “La Totorilla” y estabulado en un estanque de fibra de vidrio hasta antes de la prueba de toxicidad, la que se efectuó cuando tuvieron una edad de 30 días luego de haber absorbido su saco vitelino con un tamaño y peso aproximado de 4 cm y 2,05 g en promedio respectivamente.

3.3.2. Aclimatación de *Oncorhynchus mykiss*

Una vez arribado los alevinos de “trucha arco iris” al Parque Zoológico “La Totorilla” fueron aclimatados a las condiciones ambientales reinantes en el lugar por un tiempo de siete días, para el cual se estabularon en los tanques de fibra de vidrio de 2500 L de capacidad, las que anticipadamente fueron limpiadas y desinfectadas. Durante el periodo de aclimatación los alevinos fueron alimentados con una ración balanceada ad-libitum, suspendiendo las mismas, 24 horas antes de efectuarse el experimento para evitar que las excretas

producidas interfieran en los resultados del experimento. Además en los tanques de fibra de vidrio se realizó su debido mantenimiento en forma periódica para evitar la producción de amonio, gases y la infección de los peces o en su defecto su muerte.

3.3.3.Preparación de las concentraciones del enjuague bucal (Dento y Listerine)

Las concentraciones a probarse su efecto ecotoxicológico, que inicialmente fueron determinadas en el protocolo de investigación en 1; 2; 4 y 8 ml/L para ambas marcas de enjuague bucal, no causaron mortalidad en los alevinos de trucha, por lo que fue necesario realizar ensayos preliminares (en la que se probó con solo cinco alevinos y sin testigo) con la finalidad de identificar las concentraciones que causen toxicidad aguda y que nos permita el cálculo de la concentración letal media (CL₅₀); sin embargo las concentraciones tuvieron que ser identificadas para cada marca, ya que el enjuague bucal Listerine presentó una toxicidad mucho menor que el enjuague Dento, fijándose finalmente luego de varias pruebas preliminares en las concentraciones que se muestran en la Tabla 3. Por otro lado se consideró que los tratamientos estuvieran constituidos por recipientes conteniendo cuatro concentraciones crecientes de cada enjuague bucal (Dento y Listerine) más un testigo, para obtener resultados que represente mejor los hallazgos.

Tabla 3. Disposición de los baldes con diferentes concentraciones de los enjuagues bucales.

Recipiente	Nº de individuos (alevinos de "trucha arco iris" <i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Concentración del enjuague bucal Dento (ml/L)	Concentración del enjuague bucal Listerine (ml/L)
Testigo	10	0	0
1	10	3.4	45
2	10	3.6	50
3	10	3.8	55
4	10	4.0	60

Se consideró dos grupos similares de unidades experimentales, siendo uno de ellos constituida por recipientes conteniendo las soluciones de enjuague bucal Dento y otro grupo con soluciones del enjuague bucal Listerine.

Las soluciones de los enjuagues bucales se prepararon en las concentraciones señaladas a pocos minutos de iniciar el bioensayo.

3.3.4. Preparación de las unidades experimentales y ejecución del experimento

Para la realización de los bioensayos de toxicidad se emplearon 27 unidades experimentales (incluidos tres testigos), los que estuvieron constituidas por diez alevinos de *Oncorhynchus mykiss* (número recomendado para estudios de toxicidad en la que se emplea como modelos a organismos como insectos, anfibios y peces) y diez litros de agua en un balde de plástico de 20 L de capacidad. Es importante mencionar que la ubicación de las unidades experimentales en el ambiente de trabajo fue aleatoria, del mismo modo el proceso de siembra de alevinos al inicio del experimento.

El experimento se llevó a cabo sin considerar el recambio de agua, por lo que cada unidad experimental presentó un ingreso de aire a través de una piedra difusora y bombeada por un aireador, así mismo se minimizó el efecto de los factores ambientales no considerados (luz, ruido, etc.) en el estudio, las unidades experimentales fueron ubicadas en un ambiente aislado, el mismo que facilitó su evaluación. Dicho ambiente aislado fue constituido por un estanque vacío de concreto implementado con una cubierta tipo invernadero al cual solo tuvo acceso el personal investigador.

Con la finalidad de cumplir con los requisitos de un diseño factorial ajustada de A x B (A se considera a las marcas de enjuagues y B a las concentraciones) las mismas que nos permita los cálculos del CL_{50} para las dos marcas de enjuagues bucales, el experimento se dividió en dos etapas:

- Primera etapa, en la que se probó los dos enjuagues bucales en las concentraciones en la que el enjuague bucal Dento causó mortalidad en los alevinos de trucha, de acuerdo a lo mostrado en la Tabla 4 y en la que no se registró mortalidad alguna en el tratamiento con el enjuague bucal Listerine.
- Segunda etapa, en la que se probó solo el enjuague bucal Listerine, para el cual fue necesario realizar pruebas preliminares solo con dicho enjuague, ya que no registró mortalidades a las concentraciones que el enjuague bucal Dento si lo hizo. Esta prueba se realizó con la finalidad de obtener datos de la mortalidad que nos permita el cálculo de la concentración letal media (CL_{50}). Este procedimiento realizado fue de acuerdo a lo mostrado en la Tabla 5.

Tabla 4. Distribución de las unidades experimentales según la concentración de los enjuagues bucales Dento y Listerine.

Concentración del enjuague bucal (ml/L)	Enjuague bucal comercial	Nº de recipientes (repeticiones)	Total de recipientes
3.4	Dento	3	12
3.6	Dento	3	
3.8	Dento	3	
4.0	Dento	3	
3.4	Listerine	3	12
3.6	Listerine	3	
3.8	Listerine	3	
4.0	Listerine	3	
0	Sin enjuague	3	3

Tabla 5. Distribución de las unidades experimentales según la concentración del enjuague bucal Listerine.

Concentración del enjuague bucal (ml/L)	Enjuague bucal comercial	Nº de recipientes (repeticiones)	Total de recipientes
45	Listerine	3	12
50	Listerine	3	
55	Listerine	3	
60	Listerine	3	
0	Sin enjuague	3	3

Cabe señalar que, se considera la existencia de cuatro concentraciones por cada tratamiento.

3.3.5. Determinación de las características fisicoquímicas del agua

Las determinaciones de las características fisicoquímicas de las aguas contenidas en las unidades experimentales fueron realizadas *in situ*, al inicio del proceso experimental, para el cual fue necesario tomar muestras de 50 ml para las determinaciones colorimétricas (alcalinidad, dureza total, dureza cálcica, dureza magnésica y cloruros); mientras para las determinaciones electrométricas (temperatura del agua, conductividad eléctrica, sólidos disueltos totales y el pH, fueron realizados introduciendo en el agua de los recipiente el electrodo del equipo. Las determinaciones señaladas fueron realizadas siguiendo la metodología señalada por la Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento (SUNASS)⁴⁶, tal como se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 6.- Características fisicoquímicas del agua a determinar según la metodología de la SUNASS⁴⁶

Parámetro	Unidad	Método
pH		Método electrométrico
Conductividad eléctrica	μS/cm	Método electrométrico
STD	mg/L	Método electrométrico
Temperatura	°C	Método electrométrico
Dureza Total	mg/L	Método titulométrico con EDTA
Dureza cálcica	mg/L	Método titulométrico con EDTA
Dureza magnésica	mg/L	Método titulométrico con EDTA
Alcalinidad total	mg/L	Método titulométrico con ácido fuerte (H ₂ SO ₄)
Cloruros	mg/L	Método argentométrico

3.3.6. Recolección y procesamiento de datos

a. Recolección de datos

Una vez preparado los baldes con 10 L de agua y agregado las concentraciones de los enjuagues bucales respectivos, se estabularon en cada una de ellas, diez alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris”. Se consideró la hora de inicio del proceso experimental, a partir del cual, se realizaron las inspecciones a las 24 y 48 horas en la que se determinó el número de alevinos muertos en cada unidad experimental, para el cual se examinó cuidadosamente cada una de ellas, en caso de observar un alevino sin movimiento, fue necesario el empleo de un palo delgado de madera (brocheta) con el cual se tocó a dichos alevinos y si no hubo respuesta a dicho estímulo se le dio por muerto, los que posteriormente fueron extraídos de las unidades experimentales. Los datos fueron registrados en la planilla que se muestra en el Anexo 1.

b. Procesamiento de datos

Las mortalidades registradas en cada unidad experimental fueron expresadas en porcentajes con la finalidad de ser analizadas estadísticamente; así mismo es necesario expresar los resultados como mortalidad acumulada, la misma que se considera como la sumatoria de la mortalidad de alevinos corrida hasta una determinada hora a partir del inicio del experimento.

Para determinar la Concentración Letal media (CL₅₀) en los diferentes tiempos de exposición a los enjuagues bucales, se empleó la técnica Probit, donde es necesario tomar en cuenta la corrección de mortalidad natural de Abbott (1925), para las observaciones donde se tenga muertes observadas en el testigo. La fórmula de dicha corrección es la siguiente:

Dónde:

$$MC = \frac{x - y(100)}{100 - y}$$

MC = mortalidad corregida (%)

X = mortalidad en el tratamiento (%)

Y = mortalidad en el testigo (%)

Cuando se obtiene más de 15% de mortalidad en el testigo, los resultados deben desecharse (Villanueva, 1994).

3.4. Tipo de investigación

El tipo de investigación realizado fue básica – experimental. Básica, ya que la principal contribución es la de generar nuevos conocimientos sobre el efecto de los enjuagues bucales comerciales, sobre los organismos acuáticos, tomando como modelo a los alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris”. Mientras la investigación tipo experimental se realizó debido a que se manipularon dos variables, la primera fue referida a dos tipos de enjuague bucal comercial y la segunda a las concentraciones crecientes, para ver su efecto sobre la variable dependiente (mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss*).

3.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron utilizados para la construcción de una matriz de datos en el software Excel, para luego ser exportados a InfoStat y MINITAB 16, a partir de los cuales se crearon tablas y figuras en los que se presentan estadísticos de tendencia central y de dispersión.

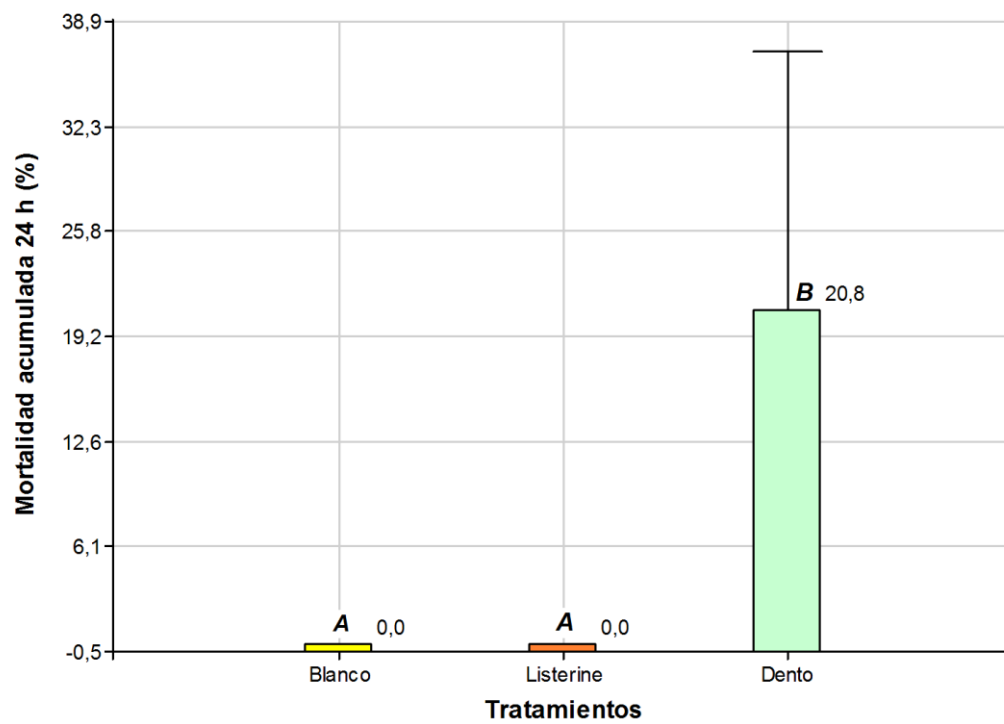
Con la finalidad de comparar las mortalidades registradas de los alevinos en los ocho tratamientos (dos enjuagues bucales probados en cuatro concentraciones crecientes) más un testigo, se empleó el análisis de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$), debido a que los datos no mostraron distribución normal.

Para la estimación de la Concentración Letal Media (CL_{50}), se empleó la metodología de Probit para el cual se empleó el software MINITAB 16 para realizar los análisis estadísticos señalados.

IV. RESULTADOS

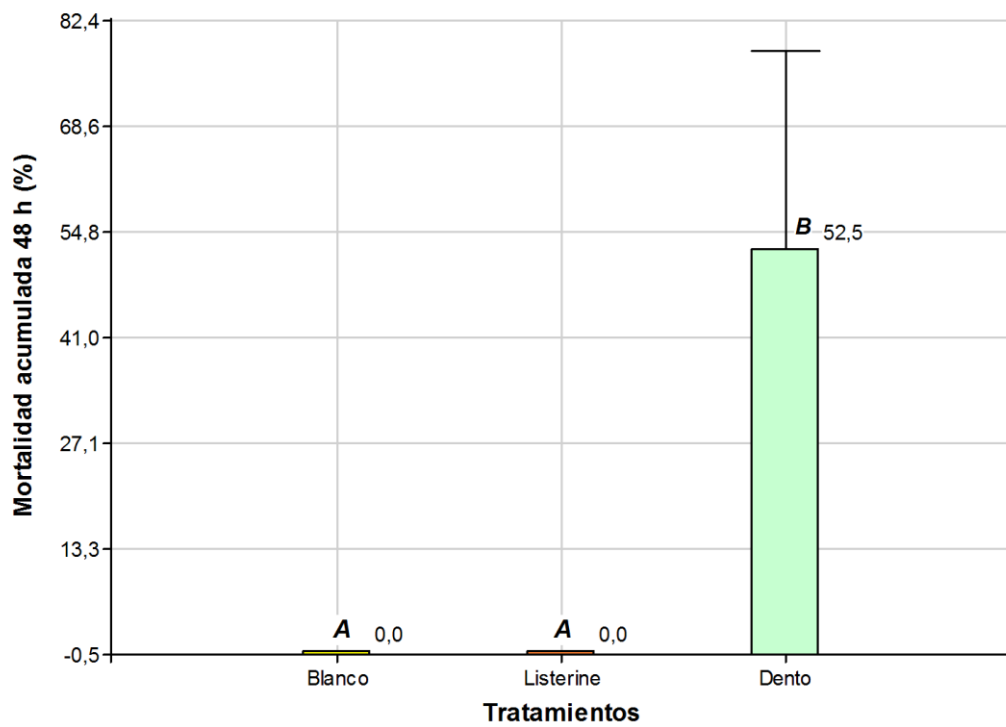
Tabla 7.- Valores promedios de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por dos marcas de enjuague bucal en cuatro concentraciones y un testigo a las 24 y 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016

Tratamiento (enjuague bucal)	Concentración (ml/L)	Mortalidad acumulada 24 h (n°)	Mortalidad acumulada 48 h (n°)	Mortalidad acumulada 24 h (%)	Mortalidad acumulada 48 h (%)
Dento	3,4	0,333	2,333	3,333	23,333
	3,6	1,333	3,667	13,333	36,667
	3,8	2,333	6,333	23,333	63,333
	4,0	4,333	8,667	43,333	86,667
	Total	2,083	5,250	20,833	52,500
Listerine	3,4	0,000	0,000	0,000	0,000
	3,6	0,000	0,000	0,000	0,000
	3,8	0,000	0,000	0,000	0,000
	4,0	0,000	0,000	0,000	0,000
	Total	0,000	0,000	0,000	0,000
Blanco	,0	0,000	0,000	0,000	0,000
	Total	0,000	0,000	0,000	0,000



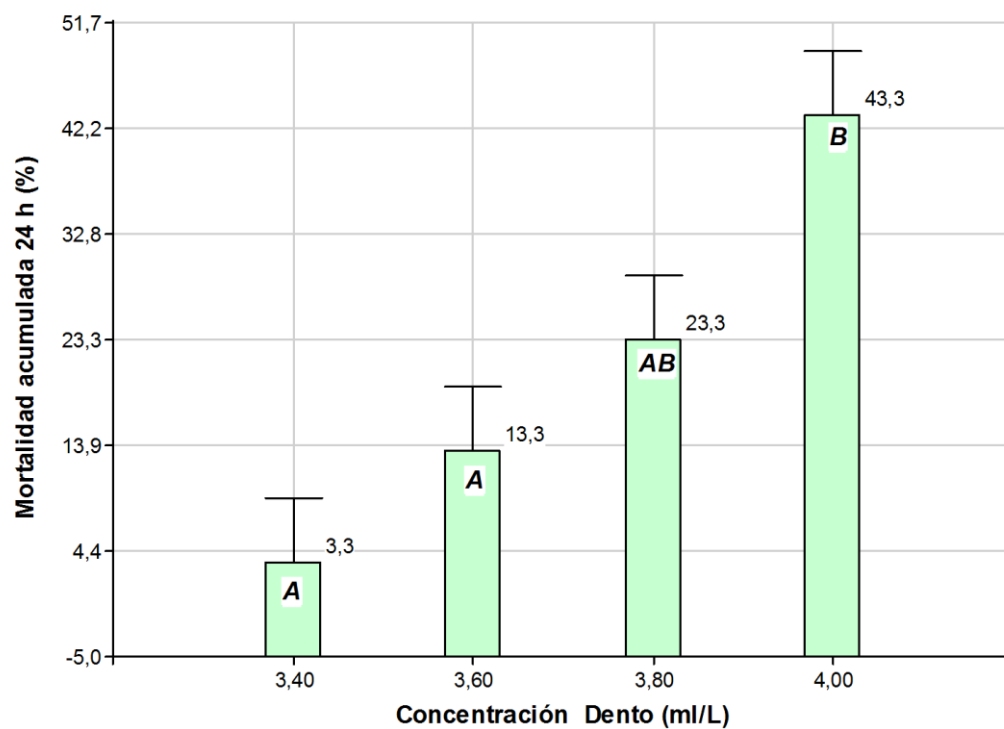
A y B: categorías asignadas por la prueba estadística.

Figura 2. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por dos marcas de enjuague bucal y un blanco a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.



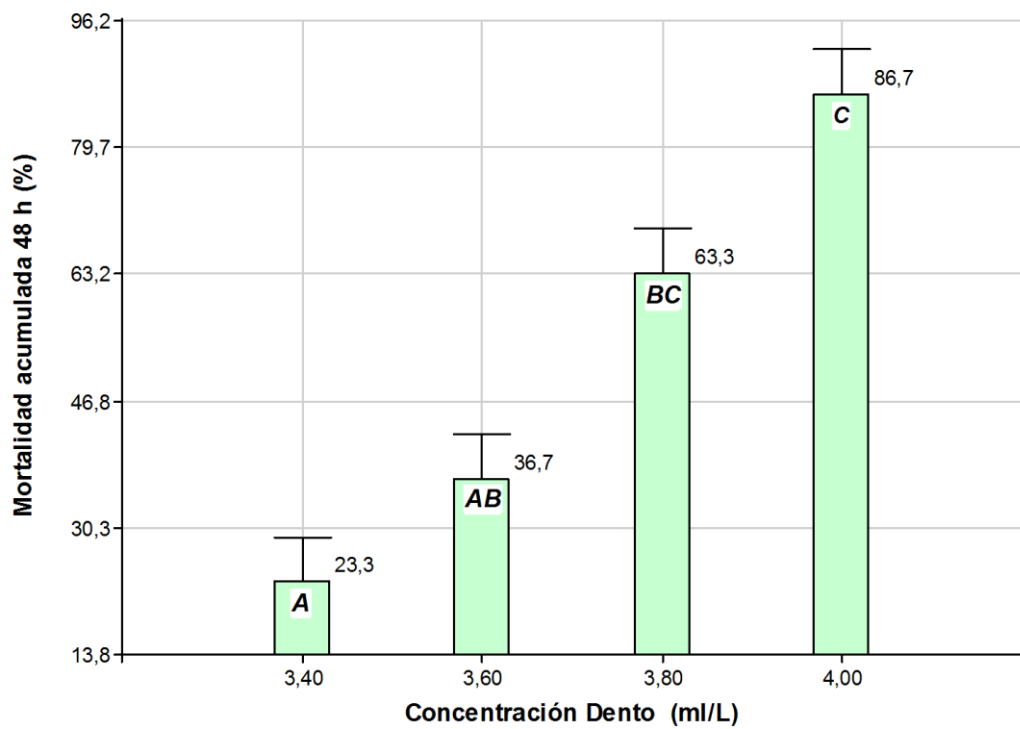
A y B: categorías asignadas por la prueba estadística.

Figura 3. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por dos marcas de enjuague bucal y un blanco a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.



A, AB y B: categorías asignadas por la prueba estadística.

Figura 4. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por cuatro concentraciones de Dento a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.

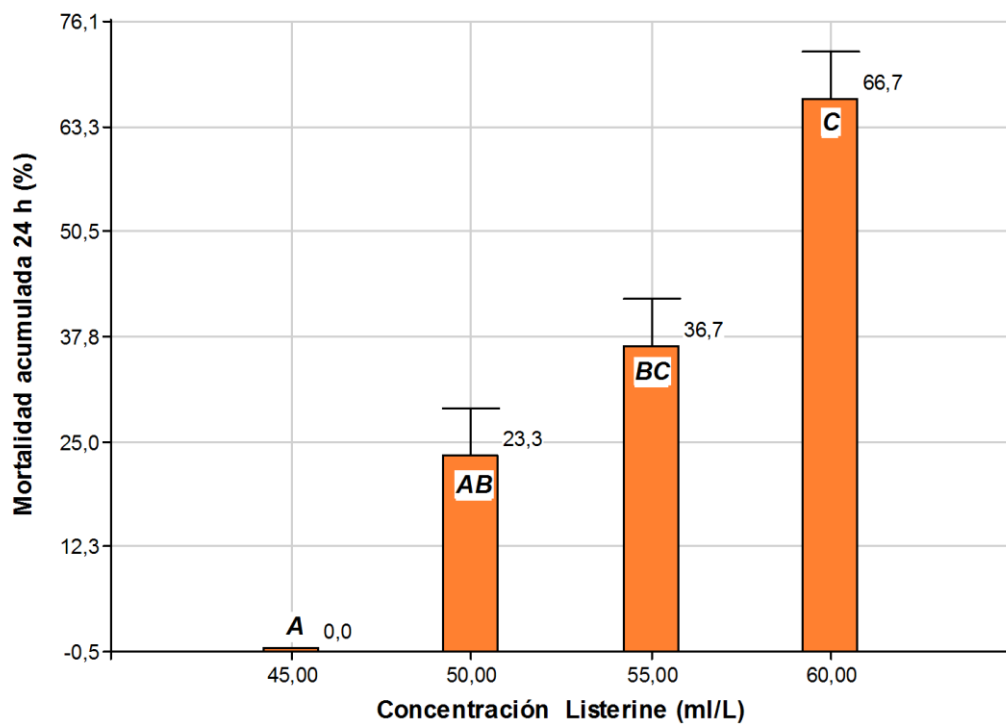


A, AB, BC y C: categorías asignadas por la prueba estadística

Figura 5. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por cuatro concentraciones de Dento a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.

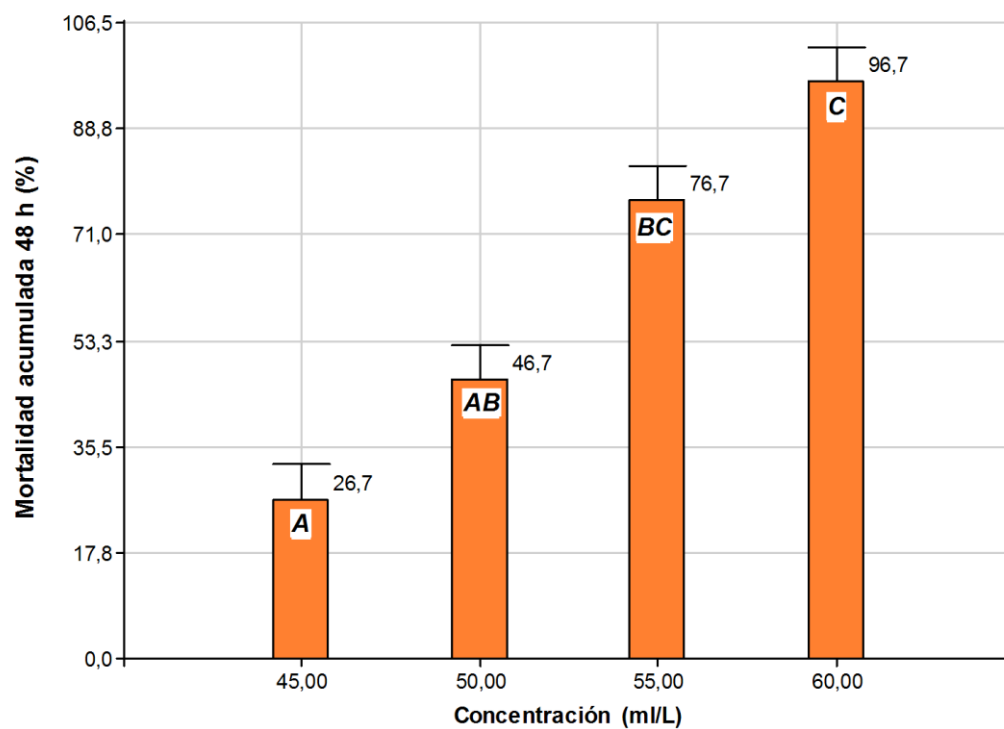
Tabla 9. Valores promedios de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris” causados por el enjuague bucal (Listerine) en cuatro concentraciones y un testigo a las 24 y 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016

Concentración (ml/L)	Mortalidad acumulada 24 h (n°)	Mortalidad acumulada 48 h (n°)	Mortalidad acumulada 24 h (%°)	Mortalidad acumulada 48 h (%°)
45,0	0,00	2,67	0,00	26,67
50,0	2,33	4,67	23,33	46,67
55,0	3,67	7,67	36,67	76,67
60,0	6,67	9,67	66,67	96,67
Total	3,17	6,17	31,67	61,67



A, AB, BC y C: categorías asignadas por la prueba estadística

Figura 6. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por cuatro concentraciones de Listerine a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.



A, AB, BC y C: categorías asignadas por la prueba estadística

Figura 7. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por cuatro concentraciones de Listerine a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.

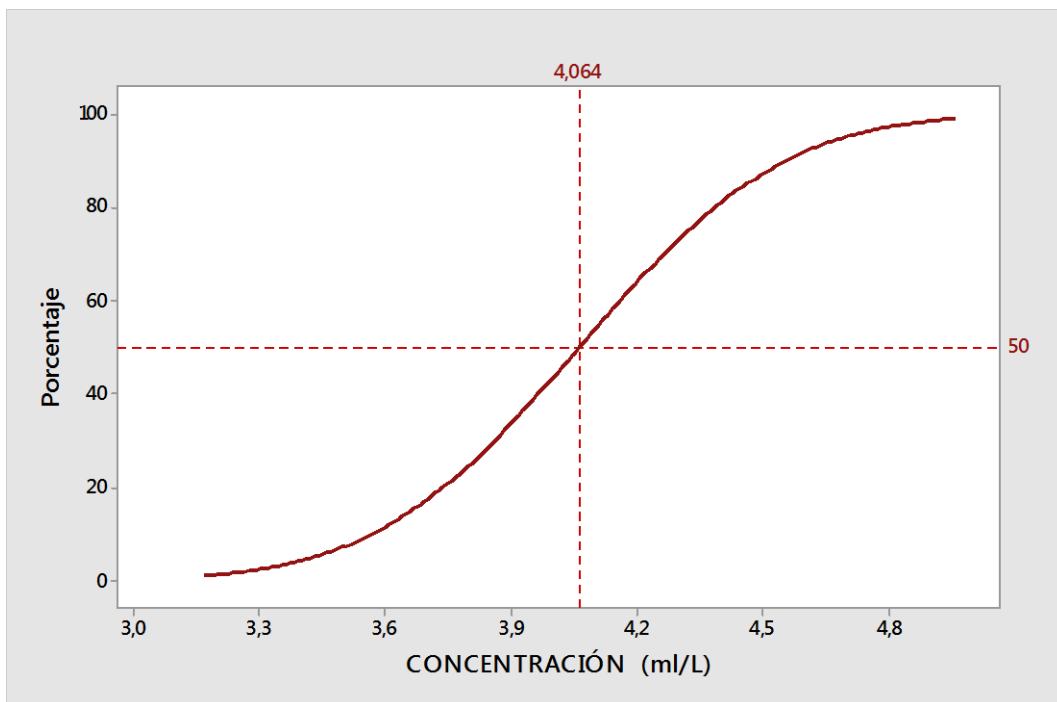


Figura 8. Tendencia de mortalidad acumulada teórica (Probit) de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" según las concentraciones de Dento y el valor de la concentración letal media (CL₅₀) a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.

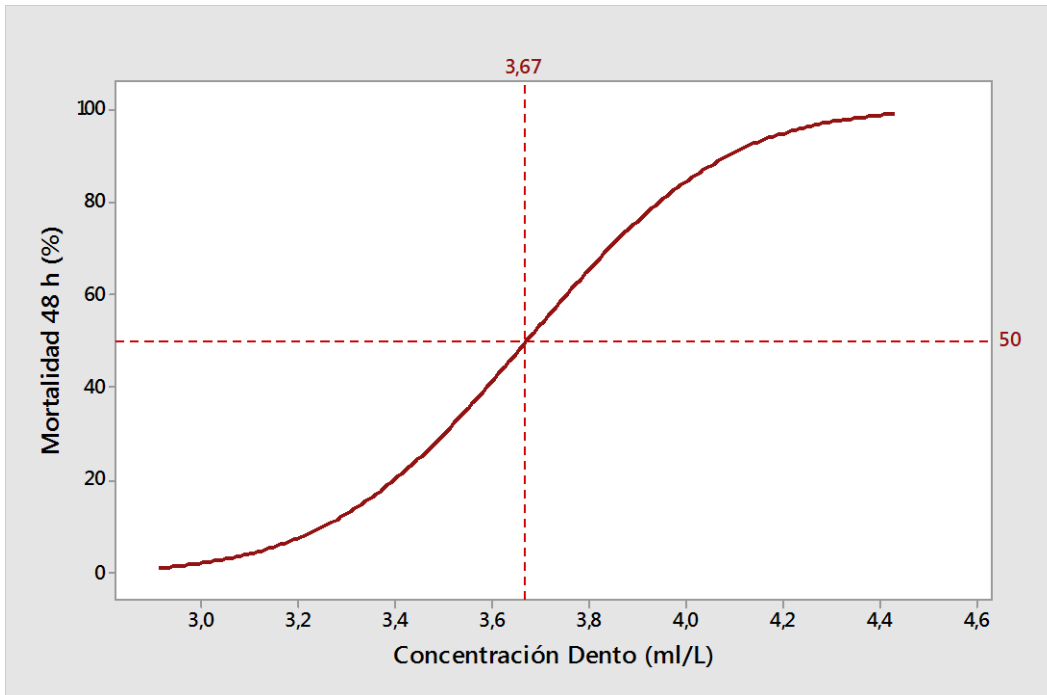


Figura 9. Tendencia de mortalidad acumulada teórica (Probit) de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" según las concentraciones de Dento y el valor de la concentración letal media (CL₅₀) a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.

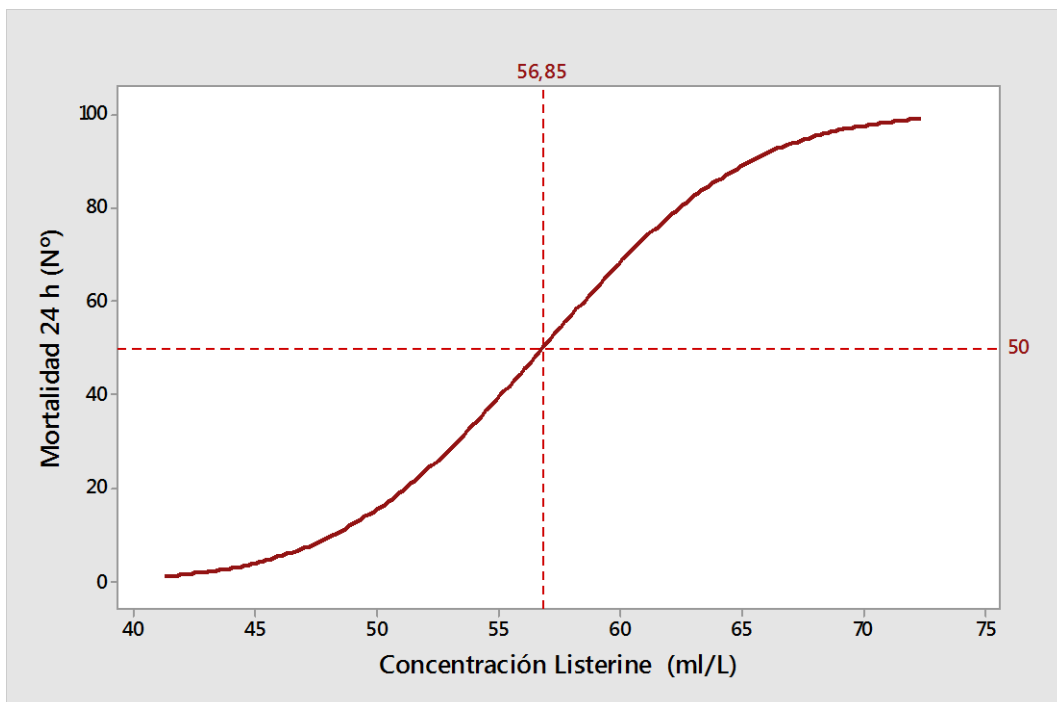


Figura 10. Tendencia de mortalidad acumulada teórica (Probit) de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" según las concentraciones de Listerine y el valor de la concentración letal media (CL₅₀) a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.

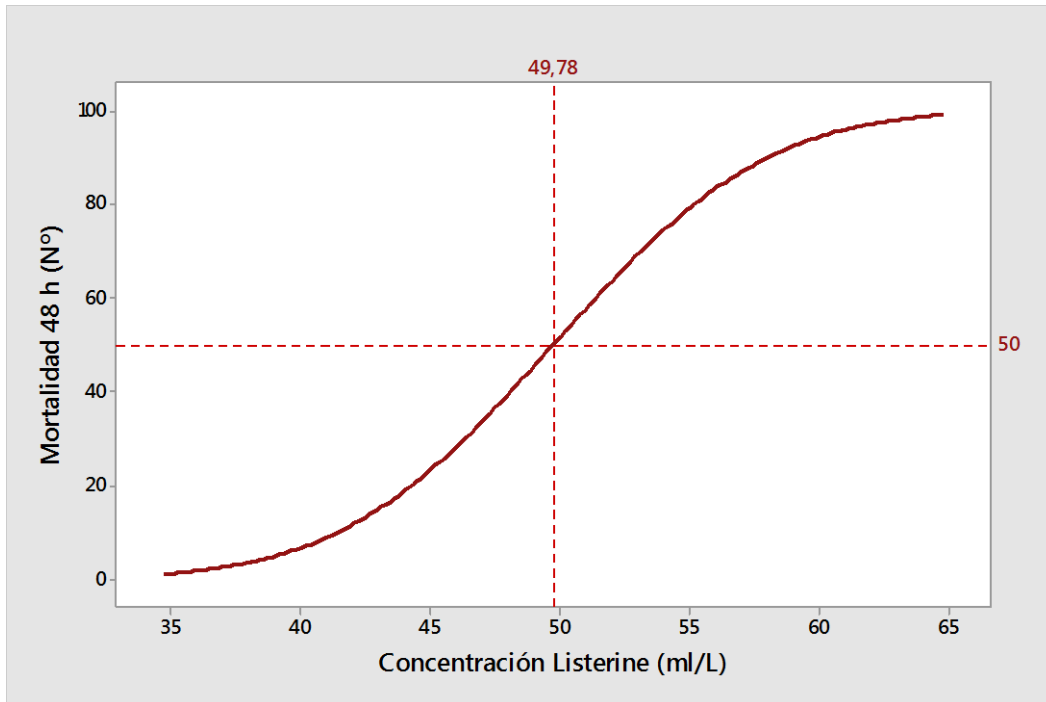


Figura 11. Tendencia de mortalidad acumulada teórica (Probit) de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" según las concentraciones de Listerine y el valor de la concentración letal media (CL₅₀) a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.

Tabla 9. Valores de la Concentración Letal Media (CL₅₀) y los intervalos de confianza a las 24 y 48 horas de exposición para los enjuague bucales Dento y Listerine, Ayacucho, 2016.

Tratamientos (enjuagues bucales)	Tiempo de exposición (h)	CL ₅₀ (ml/L)	Intervalo de Confianza (95%)	
			Inferior	Superior
Dento	24	4,06497	3,93476	4,39964
	48	3,67316	3,58475	3,75642
Listerine	24	56,8567	55,0764	59,3921
	48	49,7855	47,749	51,4677

CL₅₀: Concentración Letal Media

Tabla 10. Valores promedios y desviación típica de las características fisicoquímicas el agua contenida en los diferentes tratamientos (Dento, Listerine y blanco)

Características fisicoquímicas del agua	Tratamientos						Kruskal Wallis (p)
	Dento		Listerine		Blanco		
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	
Alcalinidad (ml/L)	236,5	4,4	228,5	3,8	234,5	0,7	0,020
Dureza total (ml/L)	277,0	11,4	276,8	2,6	297,0	1,4	0,044
Dureza cálcica (ml/L)	21,5	5,5	22,5	8,7	178,0	5,7	0,088
Dureza magnésica (ml/L)	255,5	7,5	254,3	10,1	125,0	1,4	0,085
Cloruros (ml/L)	28,3	0,6	28,8	0,6	27,0	0,0	0,049
Temperatura agua (°C)	17,8	0,2	18,3	0,3	18,4	0,1	0,075
Conductividad eléctrica (uS/cm)	936,8	27,1	907,1	5,0	694,5	2,1	0,041
Solidos Totales Disueltos (ppm)	665,0	17,2	644,6	4,3	348,0	1,4	0,019
pH	8,3	0,1	8,2	0,3	8,4	0,0	0,308

V. DISCUSIÓN

En la tabla 7, se muestran los promedios de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris” causado por dos marcas de enjuague bucal en cuatro concentraciones y un testigo a las 24 y 48 hora de exposición, del mismo modo se observa el promedio del porcentaje de mortalidad acumulada, en los tiempos respectivos, del cual es necesario resaltar que en los tratamientos con enjuague bucal Dento generó un porcentaje de mortalidad creciente esto debido a las concentraciones que también fueron puestas de manera creciente, resultados que se mostraron de igual forma en la mortalidad acumulada para los dos tiempos de exposición, mientras que en el enjuague bucal Listerine no generó mortalidad alguna, al igual que en los testigos.

En la Figura 2, se muestra los promedios y desviación típica de la mortalidad acumulada de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris” en medios con presencia de enjuague bucal de las marcas Dento y Listerine y un blanco a las 24 horas de exposición. Se observa que el único tratamiento que causó mortalidad fue el enjuague bucal Dento con un valor de 20,8% (2,08 alevinos en promedio), a las 24 horas de iniciado el experimento, mientras que en el medio con enjuague bucal Listerine, no se registró mortalidad al igual que en el blanco. Al realizar la prueba de Shapiro-Wilks, se determinó que el tipo de distribución no es normal, tal como se observa en el Anexo 2, ya que presentó significancia estadística ($p < 0,05$). Al realizar la prueba de Kruskal Wallis (Anexo 5) se halló significancia estadística ($p < 0,05$), donde los medios con el enjuague bucal Dento, fue la que generó mayor mortalidad en los alevinos de trucha en comparación con el enjuague bucal Listerine y el testigo. Como se puede observar, se presentó mortalidad en aquellas unidades experimentales donde estuvo presente el antiséptico Triclosán, es decir en aquellas donde estuvo presente la marca Dento, mientras que en las unidades experimentales en la que

estuvo presente la marca Listerine (no presenta Triclosán), no se registró mortalidad alguna. Como se sabe el Triclosán es un agente químico muy utilizado en productos para el cuidado personal como jabones, enjuagues bucales que en común tienen la catalogación de antimicrobianos o antibacterianos, dicha catalogación hace que dichos productos sean empleados frecuentemente como antisépticos, actuando como disruptor de la membrana bacteriana a través del bloqueo de la síntesis de lípidos. El Triclosán bloquea el sitio activo de una enzima llamada enoil acil reductasa proveniente de los ácidos grasos manufacturados por los organismos vivos necesarios para la construcción de la membrana celular y de otras funciones vitales.³⁵ lo que determina que se liberen de manera continua en las aguas catalogadas como servidas y posteriormente en los medios acuáticos naturales, convirtiéndose en parte de las aguas residuales domésticas, que pese a ser tratadas permanecen presentes en dichas aguas con todas sus propiedades, por lo que las aguas tratadas al ser incorporadas a cuerpos de aguas receptores, permanecen en ella afectando negativamente la biota acuática.⁴⁷

En la Figura 3, se observa los valores promedios y la desviación típica del porcentaje de mortalidad acumulada a las 48 horas de iniciado el experimento, causado por los enjuagues bucales de las marcas de Dento y Listerine, además del testigo. Se observa, al igual que a las 24 horas, la mortalidad sólo fue registrado en las unidades experimentales con enjuague bucal Dento con un porcentaje promedio de 52,5% (5,25 alevinos en promedio). Al realizarse la prueba de Kruskal Wallis (Anexo 6), se halló significancia estadística ($p < 0,05$), siendo el enjuague bucal Dento el que mayor mortalidad registró en comparación con el enjuague bucal Listerine y testigo, siendo estos dos últimos tratamientos estadísticamente iguales. Los resultados hallados se deben a que la composición química de los enjuagues es diferente, principalmente a la presencia del Triclosán que se halla solo en el enjuague bucal Dento, tal como se mencionó anteriormente. El Triclosán es muy tóxico, ya que se ha comprobado que es un agente que causa mortalidad en los organismos acuáticos donde va a parar dicho compuesto al ser empleado y eliminado a través de las aguas servidas, más aún si estos organismos se hallan sometidos a tiempo prolongados, tal como lo menciona Neumegen y colaboradores.⁴⁷, quien en las investigaciones que realizó concluye que el Triclosán en el ambiente, debe ser tomado como un agente de gran interés, debido a que este

compuesto es persistente por largos periodos de tiempo y que incluso genera bioacumulación en las especies acuáticas. En el experimento realizado, se observó que los alevinos de *Oncorhynchus mykiss* “trucha arco iris” sometidos a la acción de los enjuagues bucales, principalmente en el enjuague bucal Dento, presentaron oscurecimiento de la epidermis, para luego morir con los opérculos branquiales dilatados, dando evidencia de que murieron por asfixia. Por otro lado, es importante resaltar que comparativamente las mortalidades registradas entre las 24 y 48 horas de exposición fue del 21.7%, mientras que dentro de las 24 horas fue de 20,8%, al respecto se puede mencionar que, por lo general las mortalidades no ocurren en igual medida en los tiempos de exposición y en las repeticiones, en el caso de que el experimento contara con varias repeticiones, ya que como se sabe los modelos biológicos (los alevinos de trucha en esta investigación) no son exactamente iguales, variando en cuanto a peso, talla y principalmente en la diversidad genética, lo que hace que los alevinos difieran en susceptibilidad o resistencia al producto químico.¹⁶

En la Figura 4, se observa las mortalidades y desviaciones típicas registradas en las cuatro concentraciones del enjuague bucal Dento sobre alevinos de trucha a las 24 horas de iniciado el experimento, resalta en forma general que la mortalidad se incrementa de manera gradual desde 3,3% (0,33 alevinos en promedio) para la concentración de 3,4ml/L, 13,3% (1,3 alevinos en promedio); 23,3% (2,3 alevinos en promedio) y de 43,3% (4,3 alevinos en promedio), para las concentraciones de 3,60; 3,80; y 4,00 ml/L, respectivamente. Al realizar la prueba de Kruskal Wallis (Anexo 7), se encontró diferencia estadística ($p < 0,05$), lo que nos permite afirmar que los porcentajes de mortalidad difieren según la concentración del enjuague bucal, al realizar la categorización, se halló que las mayores mortalidades ocurrieron en la concentración de 4 ml/L, mientras que las menores en las concentraciones de 3,4 y 3,6 ml/L. De los resultados podemos decir que al haber mayor concentración del enjuague bucal en el medio donde se encuentran los alevinos, mayor es el efecto tóxico, produciendo mayores porcentajes de mortalidad; por otro lado, también es necesario mencionar que en las unidades experimentales con el enjuague bucal Dento, a mayor concentración, mayor fue la cantidad de espuma generada en la superficie, lo que probablemente afectó los receptores celulares de las estructuras branquiales, el cual tiene como función principal el intercambio de oxígeno, que por

consecuencia determinó la asfixia de los alevinos, tal como lo menciona Chalew y Halden.⁴⁸

En la Figura 5, se observa las mortalidades y desviaciones típicas registradas en las cuatro concentraciones del enjuague bucal Dento sobre alevinos de trucha a las 48 horas de exposición. En forma general se observa un incremento gradual a medida que la concentración del enjuague bucal Dento se incrementa, tal como se observó a las 24 horas, registrándose mortalidades promedios de 23,3% (2,3 alevinos) para la concentración de 3,4 ml/L; 36,7% (3,6 alevinos) para 3,6 ml/L; 63,3% (6,3 alevinos) para la concentración de 3,8 ml/L y de 86,7% (8,7 alevinos) para la concentración de 4 ml/L. Al realizar la prueba de Kruskal Wallis, existe la evidencia de una diferencia estadística significativa ($p < 0,05$), por lo que las mortalidades registradas en las cuatro concentraciones son diferentes, tal como se observa en el Anexo 8. Al realizar la categorización en función de los valores de mortalidad, se determinó que la concentración de 3,4 ml/L del enjuague bucal Dento es la que generó menor mortalidad, mientras la concentración de 4 ml/L presentó mayor mortalidad. El resultado nos da evidencias de que a mayores concentraciones de Triclosán, su efecto negativo se incrementa, principalmente por bloqueo de las funciones vitales de los peces, tal como lo menciona McMurray, Levy y colaboradores^{35, 36}.

En la tabla 8, se muestran los valores promedio de mortalidad acumulada de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por el enjuague bucal Listerine en cuatro concentraciones y un testigo a las 24 y 48 horas de exposición, del mismo modo se observa el porcentaje de mortalidad acumulada para los dos tiempos de exposición respectivamente, tal como se observa el número y el porcentaje promedio de mortalidad fue incrementando a medida que aumenta las concentraciones, es importante mencionar que las concentraciones para el enjuague bucal Listerine fue mayor al del enjuague bucal Dento, ya que a las mismas concentraciones que mostró mortalidad en el enjuague bucal Dento, no registró ninguna mortalidad en el enjuague bucal Listerine, por lo que fue necesario elevar las concentraciones, esto con la finalidad de obtener resultados que nos permitan calcular concentración letal media.

Es por ello que en la Figura 6 y 7, se muestra los porcentajes de mortalidad de los alevinos de trucha a las 24 y 48 horas iniciado el experimento, respectivamente. La Figura 6, muestra las mortalidades a las 24 horas, donde la mortalidad promedio máxima de alevinos ocurre a la concentración de 60 ml/L

con el 66,7% (6,7 alevinos en promedio), mientras que para concentraciones menores de 55; 50 y 45 ml/L, se registraron mortalidades de 36,7% (3,7 alevinos); 23,3 (2,3 alevinos) y 0% respectivamente. La prueba estadística de Kruskal Wallis halló significancia estadística ($p < 0,05$) tal como se observa en el Anexo 9, por lo que se procedió a realizar la categorización de las concentraciones, donde estadísticamente la concentración de 60ml/L generó la mayor mortalidad, mientras que la menor mortalidad fue registrado en la concentración de 45 ml/L, por lo que en forma general se observa que a medida que la concentración del enjuague bucal Listerine aumenta en los medios donde se hallan los alevinos, también se incrementa la mortalidad. En la Figura 7, se muestra la mortalidad promedio de alevinos de trucha y su desviación típica en medios con enjuague bucal Listerine a las 48 horas de iniciado el experimento, en la que se observa que a una concentración de 45 ml/L se registra una mortalidad de 26,7%, seguido de las concentraciones de 50; 55 y 60 ml/L, con mortalidades de 46,7%; 76,7% y 96,7%, respectivamente, es decir cuanto más se incrementa la concentración, mayor es la mortalidad que genera, tendencia que se registró también en la Figura 6. Al realizar la prueba de Kruskal Wallis (Anexo 10.), se halló significancia estadística ($p < 0,05$), lo que quiere decir que las mortalidades generadas en las cuatro concentraciones son diferentes, es por ello que se procedió a realizar la categorización de las concentraciones, siendo el que menor mortalidad causó, la concentración de 45 ml/L y la mayor mortalidad a la concentración de 60ml/L. El resultado descrito claramente nos muestra que hay diferencia con el efecto negativo del enjuague bucal Dento, donde el enjuague bucal Listerine generó menos efecto toxicológico agudo, ya que los dos enjuagues bucales presentan diferente composición, principalmente por la presencia de Triclosán, en este caso el enjuague bucal Listerine no lo presenta, por lo que tiene un efecto toxicológico mucho menor que el enjuague bucal Dento. Por otro lado, es importante mencionar que si genera efecto tóxico a elevadas concentraciones en comparación con el enjuague bucal Dento, es debido a que presenta otros compuestos que generan efectos toxicológicos en menor medida, tal es el caso por la presencia de Salicilato de Metilo (antiséptico) componente principal del enjuague bucal Listerine, que sin embargo a elevadas concentraciones tienen la consecuencia de acelerar la respiración, así como agitación en el sistema nervioso, ocasionando un paro respiratorio, tal como lo menciona Rovetto y colaboradores.³⁸

En la Figura 8, se muestra la tendencia de la mortalidad acumulada teórica de alevinos de trucha en presencia del enjuague bucal Dento a las 24 horas de exposición, calculada con la técnica Probit, en la cual se observa que la mortalidad se incrementa a medida que la concentración de dicho enjuague también se incrementa. En la figura en referencia, se muestra que el valor de la concentración letal media calculada para dichas condiciones (medios con enjuague bucal Dento a las 24 horas de exposición) es de 4,064 ml/L, es decir a dicha concentración, el 50% de los alevinos sometidos a su acción mueren, por otro lado, en el Anexo 11, se observa los percentiles (concentraciones) del enjuague bucal Dento que causan diferentes porcentajes de mortalidad a las 24 horas de exposición.

En la Figura 9, se muestra la mortalidad acumulada teórica de alevinos de trucha por efecto del enjuague bucal Dento a 48 horas de exposición, calculada con la técnica Probit, muestra las mismas características que la Figura 8, sin embargo el valor de la concentración letal media (CL_{50}) presenta un menor valor, en este caso de 3,67 ml/L, tal como se puede observar en el Anexo 12, en la que también se muestra información de los percentiles (concentraciones del enjuague bucal Dento) y sus respectivas mortalidades. Es de notar que el valor del CL_{50} a las 48 horas de exposición tiene un menor valor en comparación con lo hallado a las 24 horas, esto se debe a que un tóxico genera mayor mortalidad cuanto mayor sea el tiempo a la que se halla expuesto un organismo, en este caso, los alevinos de trucha.

En la Figura 10 y 11, se muestra la tendencia de la mortalidad acumulada teórica a las 24 horas y 48 horas respectivamente, de alevinos de trucha, como consecuencia de someterlos a medios con diferentes concentraciones del enjuague bucal Listerine, calculada con la técnica Probit. Se observa que el valor de la concentración letal media (CL_{50}) es de 56,85 ml/L y de 49,78 ml/L para las 24 y 48 horas luego de iniciado el experimento, es decir son las concentraciones del enjuague bucal que causan el 50% de mortalidad en los alevinos sometidos a dicha acción. Así en el Anexo 13 y 14, se muestran las concentraciones calculadas y sus respectivas mortalidades. Es importante resaltar dos aspectos, el primero es que el enjuague bucal Dento es mucho más tóxico que el enjuague bucal Listerine, ya que es necesario mayores concentraciones del enjuague bucal Listerine en el medio de cultivo de trucha, para que cause semejantes mortalidades, es por ello que el CL_{50} del enjuague bucal Dento a las 24 y 48

horas es de 4,06 ml/L y de 3,67 ml/L respectivamente, mientras que para el enjuague bucal Listerine es de 56,86 ml/L y de 49,78 ml/L, para 24 y 48 horas de exposición respectivamente.

De manera resumida, en la Tabla 9, se observa los valores de la concentración letal media (CL_{50}) del enjuague bucal Dento y Listerine a las 24 y 48 horas luego de iniciado el experimento, en la que se ve claramente que el efecto ecotoxicológico agudo del enjuague bucal Dento es mucho mayor que el enjuague bucal Listerine en más de diez veces, por lo que su uso, estaría generando un mayor impacto negativo en los ecosistemas acuáticos donde posiblemente va parar cuando se desecha.

En la Tabla 10, se muestra algunas características fisicoquímicas determinadas en los medios con los enjuagues bucales de Dento y Listerine, así como en el blanco. En forma general se observa que el agua empleada para la preparación de los medios mostraba elevada dureza y conductividad eléctrica, características que muestran variaciones estadísticamente significativas al agregárseles los enjuagues, conjuntamente con la alcalinidad, cloruros y sólidos disueltos totales. Con respecto a la dureza total, los medios con los enjuagues bucales muestran una disminución significativa ($p < 0,05$), ya que el blanco presenta un valor de 297 mg/L, mientras que en los medios con el enjuague bucal Dento y Listerine es de 277 y 276,8 mg/L, esta disminución se explica debido a que estos productos presentan componentes que disminuyen la dureza, con el fin de quitar la suciedad (lavado); por otro lado con respecto a la conductividad eléctrica, se observa un incremento de sus valores en los medios con los enjuagues en comparación con el blanco, esto como consecuencia de que dichos productos contienen componentes que en el agua se ionizan y como con ello determinan el incremento de la conductividad eléctrica, bajo el mismo criterio se podría explicar el incremento de los cloruros en los medios con presencia de los enjuagues bucales.

VI. CONCLUSIONES

1. El enjuague bucal Dento causó mayor mortalidad en los alevinos de trucha (52.5%), mientras que el enjuague bucal Listerine no causó mortalidad, siendo estos estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).
2. Los porcentajes de mortalidad de alevinos de trucha registrados son estadísticamente diferentes en las mayores concentraciones del enjuague bucal Dento, siendo estas de 43,3% y de 86,7% para las 24 y 48 horas respectivamente. Para el caso del enjuague bucal Listerine en las concentraciones probadas, de igual manera fueron estadísticamente diferentes ($p < 0,05$), , siendo estas de 66,7% y de 96,7% a las 24 y 48 horas. Por otro lado la mortalidad de los alevinos de “trucha arco iris” se incrementa a medida que las concentraciones de los enjuagues bucales y los tiempos de exposición, también se incrementa.
3. La concentración letal media (CL_{50}) hallada para el enjuague bucal Dento fueron de 4,064 ml/L y 3,67 ml/L, mientras que para el enjuague bucal Listerine fue de 56,85 ml/L y 49,78 ml/L a las 24 y 48 horas de exposición respectivamente.
4. La presencia de los enjuagues bucales en el agua de los tratamientos reducen la calidad de ésta, determinando cambios significativos ($p < 0,05$) en las características de su alcalinidad, dureza total, conductividad eléctrica y sólidos disueltos totales.

VII. RECOMENDACIONES

1. Considerar en los estudios de ecotoxicología a los contaminantes emergentes, como productos de limpieza como jabones, champús y otros productos como posibles agentes causantes de efectos negativos de la biodiversidad acuática, con la finalidad de ser incorporadas en la legislación ambiental en la que debe señalarse los rangos permisibles.
2. Se recomienda realizar trabajos de investigación en el cual se determine los efectos crónicos o subletales en los organismos modelos, como por ejemplo a nivel de las branquias e hígado, ya que por lo general las concentraciones de los contaminantes en un medio no alcanzan grandes concentraciones, sin embargo son persistentes en el tiempo.
3. Mediante trabajos de investigación evaluar los efectos agudos sobre otros organismos acuáticos como larvas de insectos y anfibios, cuyos resultados nos pudiera dar mayor información sobre el efecto negativo de productos de limpieza personal.
4. Probar el efecto toxicológico agudo y subagudo de diferentes compuestos que son comúnmente empleados por el hombre, como productos de limpieza, desinfectantes, medicamentos, etc. que de alguna manera son finalmente eliminados a los ecosistemas como ríos, suelo, lagunas, etc.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Patiño, Y., Díaz, E. & García, S. O. Microcontaminantes emergentes en aguas: tipos y sistemas de tratamiento. *Av. En Cienc. E Ing.* **5**, 1–20 (2014).
2. Triclosan: Soap ingredient can trigger liver cancer in mice, warn scientists. *The Independent* (2014). Available at: <http://www.independent.co.uk/news/science/triclosan-soap-ingredient-can-trigger-liver-cancer-in-mice-warn-scientists-9866176.html>. (Accessed: 12th October 2016)
3. Bao Caamaño, A. Toxicidad ejercida por el triclosán sobre la microalga dulceacuícola 'Chlamydomonas moewusii' Gerloff. *Toxicidade exercida polo triclosán sobre a microalga de auga doce 'Chlamydomonas moewusii' Gerloff* (2015).
4. Tatarazako, N., Ishibashi, H., Teshima, K., Kishi, K. & Arizono, K. Effects of triclosan on various aquatic organisms. *Environ. Sci. Int. J. Environ. Physiol. Toxicol.* **11**, 133–140 (2003).
5. Fraker, S. L. & Smith, G. R. Direct and interactive effects of ecologically relevant concentrations of organic wastewater contaminants on *Rana pipiens* tadpoles. *Environ. Toxicol.* **19**, 250–256 (2004).
6. Orvos, D. R. *et al.* Aquatic toxicity of triclosan. *Environ. Toxicol. Chem.* **21**, 1338–1349 (2006).
7. Ishibashi, H. *et al.* Effects of triclosan on the early life stages and reproduction of medaka *Oryzias latipes* and induction of hepatic vitellogenin. *Aquat. Toxicol.* **67**, 167–179 (2007).
8. Kim, J.-W. *et al.* Acute toxicity of pharmaceutical and personal care products on freshwater crustacean (*Thamnocephalus platyurus*) and fish (*Oryzias latipes*). *J. Toxicol. Sci.* **34**, 227–232 (2009).
9. Gutiérrez, U. *et al.* Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Emerging contaminants in waters: effects and possible treatments* (2013).
10. Paredes Barro, L. Eliminación de compuestos farmacéuticos y de cuidado personal (CFCPs) en efluentes anaerobios empleando sistemas biológicos de filtración/adsorción. (2013). Available at: <http://dspace.usc.es/handle/10347/13017>. (Accessed: 10th February 2016)
11. Yueh, M. F. *et al.* The commonly used antimicrobial additive triclosan is a liver tumor promoter. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **111**, 17200–17205 (2014).
12. Rayme Chalco, C. Respuesta toxicológica de alevinos de trucha 'arco iris' *Oncorhynchus mykiss* frente a dos detergentes comerciales en cuatro concentraciones. Ayacucho, 2014. (Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, 2015).
13. Saavedra Mondaca, M. F. Evaluación de los efectos de efluentes de plantas tratamiento de aguas servidas sobre *oncorhynchus mykiss* mediante el uso de experimentos de laboratorio y terreno en la cuenca del río Bío-Bío. (Universidad de Concepción . Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, 2015).
14. Iannacone, J. J. *et al.* Toxicidad de agentes antiparasitarios, antimicrobianos e insecticidas sobre larvas del camarón salino *Artemia franciscana* (Crustacea: Artemiidae). *Rev. Toxicol.* **33**, 31–38 (2016).
15. Yueh, M.-F. & Tukey, R. H. Triclosan: A Widespread Environmental Toxicant with Many Biological Effects. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **56**, 251–272 (2016).
16. Repetto, M. *Toxicología avanzada*. (Ediciones Díaz de Santos, 1995).

17. Gutiérrez, J. B. & Salsamendi, A. L. de C. *Fundamentos de Ciencia Toxicológica*. (Ediciones Díaz de Santos, 2001).
18. Gennaro, A. R. (DRT). *Remington: Farmacia*. **1**, (Ed. Médica Panamericana, 2003).
19. Tano, S. Contaminación de las aguas. *Myslide.es* (2015). Available at: <http://myslide.es/documents/contaminacion-de-las-aguas-tema-9-httpwwwsagan-geaorghojaredaguapaginascaguahtml-httpcontaminacion-purificacion-aguablogspotcom-httpwwwfortunecityesexpertosprofesor171aguahtml.html>. (Accessed: 11th February 2016)
20. Becerril Bravo, J. E. Contaminantes emergentes en el agua. *Revista Digital Universitaria* (2009). Available at: <http://www.ru.tic.unam.mx:8080/handle/DGTIC/60733>. (Accessed: 26th March 2016)
21. Capó, M. A. *Principios de Ecotoxicología*. (Editorial Tebar, 2007).
22. Blanco Cachafeiro, C. *La trucha: cría industrial*. (Mundi Prensa Libros S.A., 1984).
23. Fraile, P. *et al.* Organic pollutant residues of different origins in Navarra. *An. Sist. Sanit. Navar.* **28**, 247–256 (2005).
24. Fernández Alés, R. & Leiva Morales, M. J. *Ecología para la agricultura*. (Mundi-Prensa, 2003).
25. Sanchez Prado, L. Estudio de la fotodegradación de compuestos orgánicos mediante microextracción en fase sólida, cromatografía de gases y espectrometría de masas. (Universidad de Santiago de Compostela, 2007).
26. Díaz Báez, M. C., Bustos López, M. C. & Espinosa Ramírez, A. J. *Pruebas de toxicidad acuática: fundamentos y métodos*. (Univ. Nacional de Colombia, 2004).
27. De la Lanza Espino, G., Hernández Pulido, S. & Carbajal Pérez, J. L. *Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación (bioindicadores)*. (Plaza y Valdes, 2000).
28. Roldán Pérez, G. & Ramírez Restrepo, J. J. *Fundamentos de limnología neotropical*. (Universidad de Antioquia, 2008).
29. Romero, P. R. & Cantú, A. M. *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo: la experiencia en México*. (Instituto Nacional de Ecología, 2008).
30. Negroni, M. *Microbiología Estomatológica*. (Ed. Médica Panamericana, 2009).
31. Tripathi, K. D. *Farmacología en odontología: Fundamentos*. (Ed. Médica Panamericana, 2008).
32. Wilkinson, J. B., Moore, R. J., Navarro, M. A. R. & Devesa, D. R. *Cosmetología de Harry*. (Ediciones Díaz de Santos, 1990).
33. Lio, P. A. & Kaye, E. T. Topical Antibacterial Agents. *Infect. Dis. Clin. North Am.* **23**, 945–963 (2009).
34. Van den Heuvel, M. R. *et al.* Monitoring the Effects of Pulp and Paper Effluent Is Restricted in Genetically Distinct Populations of Common Bully (*Gobiomorphus cotidianus*). *Env. Sci Technol* **41**, 2602–2608 (2007).
35. McMurry, L. M., Oethinger, M. & Levy, S. B. Triclosan targets lipid synthesis. *Nature* **394**, 531–532 (1998).
36. Levy, C. W. *et al.* Molecular basis of triclosan activity. *Nature* **398**, 383–384 (1999).
37. Doebbeling, B. N., Pfaller, M. A., Houston, A. K. & Wenzel, R. P. Removal of nosocomial pathogens from the contaminated glove. Implications for glove reuse and handwashing. *Ann. Intern. Med.* **109**, 394–398 (1988).

38. Rovetto, G. *et al.* Aplicaciones medicinales del Tomillo. *Univ. Cienc. Soc.* **1**, 16 (2010).
39. León Manco, R. A. Estudio comparativo de enjuagatorios bucales en pacientes adultos. (2008). Available at: <http://www.monografias.com/trabajos69/comparacion-enjuagatorios-bucales-pacientes-adultos/comparacion-enjuagatorios-bucales-pacientes-adultos2.shtml#ixzz4MpoITwDD>. (Accessed: 13th October 2016)
40. Russell, A. D. Whither triclosan? *J. Antimicrob. Chemother.* **53**, 693–695 (2004).
41. Helfman, G., Collette, B. B., Facey, D. E. & Bowen, B. W. *The Diversity of Fishes: Biology, Evolution, and Ecology*. (John Wiley & Sons, 2009).
42. FONDEPES. *Manual de Cultivo de Truchas Arco Iris en jaulas*. (Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero, 2004).
43. Margalef, R. *Limnología*. (Ediciones Omega S. A., 1983).
44. Carrasco Badajoz, C. E. *Manual de técnicas para análisis de agua*. (Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, 2005).
45. FONDEPES. *Manual de Cultivo de Truchas Arco Iris en jaulas*. (Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero, 2004).
46. SUNASS. Manual de procedimientos de análisis de agua. (1997).
47. Neumegen, R. A., Fernández-Alba, A. R. & Chisti, Y. Toxicities of triclosan, phenol, and copper sulfate in activated sludge. *Environ. Toxicol.* **20**, 160–164 (2005).
48. Chalew, T. E. A. & Halden, R. U. Environmental Exposure of Aquatic and Terrestrial Biota to Triclosan and Triclocarban¹. *JAWRA J. Am. Water Resour. Assoc.* **45**, 4–13 (2009).

ANEXOS

Anexo 1.

Planilla para el registro de datos de mortalidad generada en las unidades experimentales

Nº	Tratam.	Concent. (m/L)	Repet.	Nº de peces inicial	Mortal. 24 h (nº)	Mortal. 48 h (nº)	Mortal acumulad 24 h (nº)	Mortal acumulada 48 h (nº)	Mortal. acumulada 24 h (%)	Mortal. acumulada 48 h (%)
1	Dento	3,4	1							
2	Dento	3,4	2							
3	Dento	3,4	3							
4	Dento	3,6	1							
5	Dento	3,6	2							
6	Dento	3,6	3							
7	Dento	3,8	1							
8	Dento	3,8	2							
9	Dento	3,8	3							
10	Dento	4,0	1							
11	Dento	4,0	2							
12	Dento	4,0	3							
13	Listerine	3,4	1							
14	Listerine	3,4	2							
15	Listerine	3,4	3							
16	Listerine	3,6	1							
17	Listerine	3,6	2							
18	Listerine	3,6	3							
19	Listerine	3,8	1							
20	Listerine	3,8	2							
21	Listerine	3,8	3							
22	Listerine	4,0	1							
23	Listerine	4,0	2							
24	Listerine	4,0	3							
25	Blanco	0,0	1							
26	Blanco	0,0	2							
27	Blanco	0,0	3							

Anexo 2.

Prueba de Shapiro-Wilks para determinar el tipo de distribución de los datos de mortalidad acumulada a las 24 y 48 horas.

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Mortalidad acumulada 24 h	24	26,25	21,63	0,88	0,023
Mortalidad acumulada 48 h	24	57,08	27,1	0,88	0,0138

Anexo 3.

Registro del número de muertos generada en las unidades experimentales del enjuague bucal Dento y Listerine a las 24 y 48 horas de exposición.

Tratamiento (enjuague bucal)	Concent. (ml/l)	Nº de peces inicial	Nº de muertos acumulado en 24 horas	Nº de muertos acumulado en 48 horas	Muertos acumulado a las 24 horas (%)	Muertos acumulado a las 48 horas (%)
Dento	3,4	10	1	3	10	30
Dento	3,4	10	0	2	0	20
Dento	3,4	10	0	2	0	20
Dento	3,6	10	1	3	10	30
Dento	3,6	10	1	4	10	40
Dento	3,6	10	2	4	20	40
Dento	3,8	10	2	6	20	60
Dento	3,8	10	3	7	30	70
Dento	3,8	10	2	6	20	60
Dento	4,0	10	4	9	40	90
Dento	4,0	10	4	8	40	80
Dento	4,0	10	5	9	50	90
Listerine	3,4	10	0	0	0	0
Listerine	3,4	10	0	0	0	0
Listerine	3,4	10	0	0	0	0
Listerine	3,6	10	0	0	0	0
Listerine	3,6	10	0	0	0	0
Listerine	3,6	10	0	0	0	0
Listerine	3,8	10	0	0	0	0
Listerine	3,8	10	0	0	0	0
Listerine	3,8	10	0	0	0	0
Listerine	4,0	10	0	0	0	0
Listerine	4,0	10	0	0	0	0
Listerine	4,0	10	0	0	0	0
Blanco	0,0	10	0	0	0	0
Blanco	0,0	10	0	0	0	0
Blanco	0,0	10	0	0	0	0

Anexo 4.

Valores medios y desviación estándar del porcentaje de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por dos marcas de enjuague bucal. Ayacucho, 2016.

Tratamientos	Variable	Concentración (ml/L)	n	Media	D.E.
Blanco	Mortalidad acumulada 24 h	0	3	0	0
Dento	Mortalidad acumulada 24 h	3,4	3	3,33	5,77
Dento	Mortalidad acumulada 24 h	3,6	3	13,33	5,77
Dento	Mortalidad acumulada 24 h	3,8	3	23,33	5,77
Dento	Mortalidad acumulada 24 h	4	3	43,33	5,77
Listerine	Mortalidad acumulada 24 h	3,4	3	0	0
Listerine	Mortalidad acumulada 24 h	3,6	3	0	0
Listerine	Mortalidad acumulada 24 h	3,8	3	0	0
Listerine	Mortalidad acumulada 24 h	4	3	0	0
Blanco	Mortalidad acumulada 48 h	0	3	0	0
Dento	Mortalidad acumulada 48 h	3,4	3	23,33	5,77
Dento	Mortalidad acumulada 48 h	3,6	3	36,67	5,77
Dento	Mortalidad acumulada 48 h	3,8	3	63,33	5,77
Dento	Mortalidad acumulada 48 h	4	3	86,67	5,77
Listerine	Mortalidad acumulada 48 h	3,4	3	0	0
Listerine	Mortalidad acumulada 48 h	3,6	3	0	0
Listerine	Mortalidad acumulada 48 h	3,8	3	0	0
Listerine	Mortalidad acumulada 48 h	4	3	0	0

Anexo 5.

Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por dos marcas de enjuague bucal a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.

Variable	Tratamientos	N	Medias	H	p
Mortalidad acumulada 24 h	Blanco	3	0	13,39	0,0001
Mortalidad acumulada 24 h	Dento	12	20,83		
Mortalidad acumulada 24 h	Listerine	12	0		

Trat.	Ranks		
Blanco	9	A	
Listerine	9	A	
Dento	20,25		B

Anexo 6.

Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por dos marcas de enjuague bucal a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.

Variable	Tratamientos	N	Medias	H	p
Mortalidad acumulada 48 h	Blanco	3	0	19,29	<0,0001
Mortalidad acumulada 48 h	Dento	12	52,5		
Mortalidad acumulada 48 h	Listerine	12	0		

Trat.	Ranks	
Blanco	8	A
Listerine	8	A
Dento	21,5	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 7.

Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por cuatro concentraciones de Dento a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.

Variable	Concentración (ml/L)	N	Medias	H	p
Mortalidad acumulada 24 h	3,4	3	3,33	9,51	0,0198
Mortalidad acumulada 24 h	3,6	3	13,33		
Mortalidad acumulada 24 h	3,8	3	23,33		
Mortalidad acumulada 24 h	4	3	43,33		

Trat.	Ranks		
3,4	2,33	A	
3,6	5	A	
3,8	7,67	A	B
4	11		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 8.

Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por cuatro concentraciones de Dento a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.

Variable	Concentración (ml/L)	N	Medias	H	p
Mortalidad acumulada 48 h	3,4	3	23,33	10,17	0,0158
Mortalidad acumulada 48 h	3,6	3	36,67		
Mortalidad acumulada 48 h	3,8	3	63,33		
Mortalidad acumulada 48 h	4	3	86,67		

Trat.	Ranks			
3,4	2,17	A		
3,6	4,83	A	B	
3,8	8		B	C
4	11			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 9.

Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por cuatro concentraciones de Listerine a las 24 horas de exposición. Ayacucho, 2016.

Variable	Concentración (ml/L)	N	Medias	H	p
Mortalidad acumulada 24 h	45	3	0	10,17	0,015
Mortalidad acumulada 24 h	50	3	23,33		
Mortalidad acumulada 24 h	55	3	36,67		
Mortalidad acumulada 24 h	60	3	66,67		

Trat.	Ranks			
45	2	A		
50	5,17	A	B	
55	7,83		B	C
60	11			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 10.

Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de mortalidad de alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" causados por cuatro concentraciones de Listerine a las 48 horas de exposición. Ayacucho, 2016.

Variable	Concentración (ml/L)	N	Medias	H	p
Mortalidad acumulada 48 h	45	3	26,67	10,38	0,0145
Mortalidad acumulada 48 h	50	3	46,67		
Mortalidad acumulada 48 h	55	3	76,67		
Mortalidad acumulada 48 h	60	3	96,67		

Trat.	Ranks			
45	2	A		
50	5	A	B	
55	8		B	C
60	11			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Anexo 11.

Percentiles (concentración letal en g/L) de Dento sobre alevinos de *trucha Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" sometidas a las 24 horas de exposición, obtenidos mediante el análisis Probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial (5%)	
			Inferior	Superior
1	3,17082	0,170418	2,49726	3,39684
2	3,27559	0,144433	2,71083	3,46922
3	3,34207	0,128303	2,8456	3,51588
4	3,39208	0,116437	2,94642	3,55155
5	3,43275	0,107013	3,02793	3,58104
6	3,46738	0,0992012	3,09686	3,60661
7	3,49773	0,0925505	3,15686	3,62946
8	3,52492	0,0867899	3,21015	3,65036
9	3,54964	0,0817445	3,25816	3,66981
10	3,57239	0,0772954	3,3019	3,68818
20	3,74148	0,0545242	3,59996	3,8516
30	3,86341	0,0572394	3,75799	4,02633
40	3,96759	0,0719308	3,85663	4,21202
50	4,06497	0,0911748	3,93476	4,39964
60	4,16234	0,113007	4,00697	4,5932
70	4,26652	0,137842	4,08103	4,80347
80	4,38845	0,167955	4,16551	5,05174
90	4,55754	0,210718	4,28063	5,3981
91	4,5803	0,216529	4,29601	5,44483
92	4,60502	0,222853	4,3127	5,49561
93	4,6322	0,22982	4,33102	5,55147
94	4,66256	0,237615	4,35145	5,6139
95	4,69718	0,246522	4,37472	5,68512
96	4,73786	0,257006	4,40201	5,76884
97	4,78786	0,269921	4,43552	5,87181
98	4,85434	0,287128	4,47999	6,00877
99	4,95912	0,314321	4,54993	6,22479

Anexo 12.

Percentiles (concentración letal en g/L) de Dento sobre alevinos de trucha *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" sometidas a las 48 horas de exposición, obtenidos mediante el análisis Probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial (5%)	
			Inferior	Superior
1	2,91663	0,153696	2,43995	3,13842
2	3,00528	0,137345	2,58077	3,20415
3	3,06152	0,127062	2,66994	3,24605
4	3,10383	0,119387	2,7369	3,27768
5	3,13825	0,11319	2,79127	3,30351
6	3,16754	0,107955	2,83747	3,32556
7	3,19323	0,103398	2,87791	3,34497
8	3,21623	0,0993482	2,91405	3,36241
9	3,23714	0,0956934	2,94687	3,37833
10	3,2564	0,0923557	2,97703	3,39304
20	3,39946	0,0687173	3,1987	3,50473
30	3,50262	0,0539758	3,35365	3,59015
40	3,59077	0,0446079	3,47885	3,67034
50	3,67316	0,0405568	3,58475	3,75642
60	3,75555	0,0424327	3,67613	3,85702
70	3,84369	0,0502144	3,76	3,97854
80	3,94685	0,0639773	3,84756	4,13135
90	4,08992	0,0870163	3,9605	4,35177
91	4,10917	0,0903063	3,97531	4,38183
92	4,13009	0,0939149	3,99132	4,41455
93	4,15309	0,0979195	4,00885	4,45061
94	4,17877	0,102432	4,02835	4,49096
95	4,20806	0,107623	4,0505	4,53707
96	4,24248	0,113776	4,07642	4,59135
97	4,28479	0,121405	4,10814	4,65822
98	4,34104	0,131638	4,15013	4,74728
99	4,42969	0,147932	4,21598	4,888

Anexo 13.

Percentiles (concentración letal en g/L) de Listerine sobre alevinos de trucha *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" sometidas a las 24 horas de exposición, obtenidos mediante el análisis Probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial (5%)	
			Inferior	Superior
1	41,3201	2,6375	33,3022	45,18
2	43,1407	2,3179	36,1427	46,5563
3	44,2958	2,11896	37,9372	47,4373
4	45,1647	1,97192	39,2818	48,1053
5	45,8715	1,8544	40,3713	48,653
6	46,4731	1,75614	41,2949	49,1228
7	47,0006	1,67156	42,1015	49,5379
8	47,4729	1,59728	42,8207	49,9127
9	47,9024	1,5311	43,4719	50,2564
10	48,2978	1,47149	44,0686	50,5756
20	51,2359	1,08781	48,374	53,0754
30	53,3545	0,925217	51,2189	55,1377
40	55,1647	0,910565	53,351	57,1985
50	56,8567	1,00727	55,0764	59,3921
60	58,5487	1,18472	56,613	61,7746
70	60,3589	1,43005	58,1334	64,4471
80	62,4775	1,75829	59,8249	67,6627
90	65,4156	2,2519	62,0911	72,2018
91	65,811	2,3204	62,3919	72,8169
92	66,2405	2,39523	62,7178	73,4859
93	66,7128	2,47796	63,0752	74,2225
94	67,2403	2,57085	63,4734	75,0461
95	67,8419	2,67737	63,9263	75,9866
96	68,5487	2,8032	64,4571	77,0929
97	69,4176	2,95879	65,1079	78,4548
98	70,5727	3,1669	65,9704	80,2677
99	72,3933	3,4973	67,3251	83,1299

Anexo 14.

Percentiles (concentración letal en g/L) de Listerine sobre alevinos de trucha *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" sometidas a las 48 horas de exposición, obtenidos mediante el análisis Probit.

Porcentaje	Percentil	Error estándar	IC fiducial (5%)	
			Inferior	Superior
1	34,7139	2,97605	26,0015	39,1298
2	36,48	2,68402	28,6492	40,4761
3	37,6005	2,50052	30,3256	41,3339
4	38,4434	2,36364	31,5843	41,9815
5	39,1291	2,25317	32,6065	42,51
6	39,7127	2,15984	33,475	42,9613
7	40,2244	2,07863	34,2354	43,3582
8	40,6825	2,00646	34,9151	43,7147
9	41,0992	1,94132	35,5322	44,0399
10	41,4828	1,88182	36,0994	44,3402
20	44,3329	1,45892	40,2744	46,611
30	46,3881	1,18879	43,2122	48,3211
40	48,1442	1,0018	45,628	49,8768
50	49,7855	0,888053	47,749	51,4677
60	51,4269	0,857838	49,6761	53,2527
70	53,1829	0,926862	51,5	55,4003
80	55,2381	1,11313	53,393	58,1552
90	58,0883	1,47884	55,7836	62,2103
91	58,4718	1,53359	56,0937	62,7677
92	58,8885	1,59408	56,4284	63,3754
93	59,3467	1,66168	56,7942	64,0457
94	59,8584	1,73837	57,2003	64,7969
95	60,442	1,82717	57,6607	65,6563
96	61,1276	1,93307	58,1985	66,6692
97	61,9705	2,06521	58,8556	67,9184
98	63,0911	2,24358	59,7237	69,5844
99	64,8571	2,52953	61,0822	72,22

Anexo 15.

Adecuación del ambiente en el que se llevó a cabo la experimentación. en el Parque Zoológico "La Totorilla", Ayacucho, 2016



Limpeza del estanque donde se realizó el experimento



Implementación del estanque para evitar alteraciones ocasionadas por el ambiente

Anexo 16.

Disposición y preparación de las unidades experimentales en el Parque Zoológico "La Totorilla", Ayacucho, 2016



Preparación de las concentraciones del enjuague bucal Dento.



Preparación de las concentraciones del enjuague bucal Listerine.

Anexo 17.

Proceso de captura de los alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" del tanque de fibra de vidrio para su empleo en el proceso experimental, Parque Zoológico "La Totorilla". Ayacucho, 2016.



Captura de los alevinos de trucha para ser expuestos al tratamiento.



Colocando los alevinos de trucha a los respectivos tratamientos.

Anexo 18.

Monitoreo a los alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" y toma de datos de las unidades experimentales en el Parque Zoológico- "La Totorilla". Ayacucho, 2016.



Registrando los alevinos muertos, pasado las 24 horas de exposición.



Alevinos vivos y muertos, pasado las 24 y 48 horas de exposición.

Anexo 19.

Registro de alevinos muertos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" a diferentes concentraciones. en el Parque Zoológico- "La Totorilla", Ayacucho 2016.



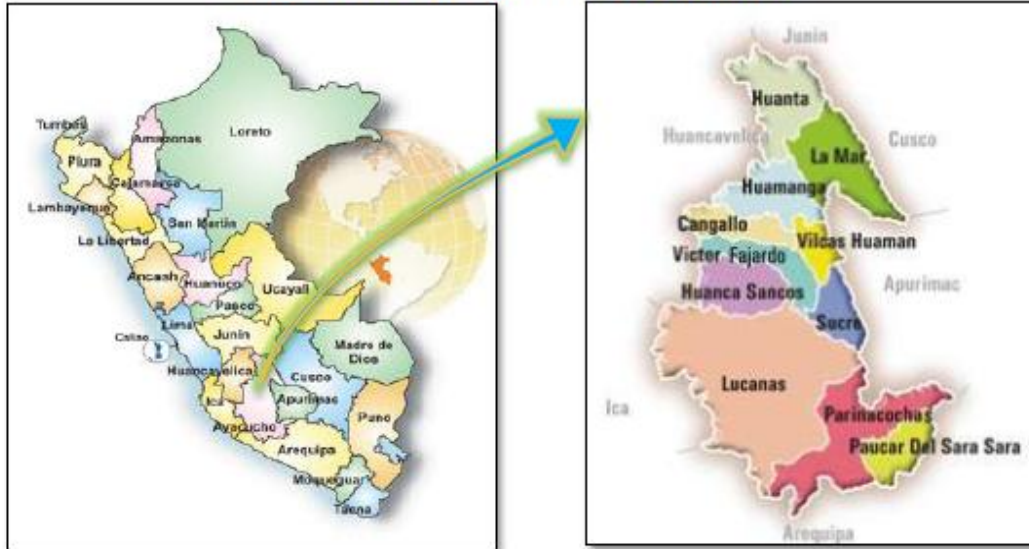
Mostrando los alevinos muertos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris".



Alevinos muertos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" por efecto del enjuague bucal Dento y Listerine

Anexo 20.
Mapa de ubicación del lugar donde se llevó a cabo la experimento

UBICACIÓN DEPARTAMENTAL Y PROVINCIAL



UBICACIÓN PROVINCIAL Y LUGAR DEL PROYECTO (Parque Zoológico - la Totorilla)



Anexo 21.

Matriz de Consistencia

TITULO: Ecotoxicidad aguda de dos marcas comerciales de enjuague bucal sobre alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris". Ayacucho, 2016.

AUTOR: Bach. Córdova Guillén, Deysi Carina.

ASESOR: Dr. Carrasco Badajoz, Carlos Emilio

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
¿Cuál es el efecto de dos marcas comerciales de enjuague bucal (Dento y Listerine) probado en cuatro concentraciones crecientes en el medio de cultivo, generan efecto ecotoxicológico agudo en alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> , medido como porcentaje de mortalidad y concentración letal media (CL ₅₀)?	<p>Objetivos generales: Evaluar dos marcas comerciales de enjuague bucal (Dento y Listerine) probado en cuatro concentraciones de 1; 2; 4 y 8 ml/L como agentes ecotoxicológicos agudos sobre alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> "trucha arco iris", medido como porcentaje de mortalidad y concentración letal media (CL₅₀)</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ol style="list-style-type: none"> Determinar el porcentaje de mortalidad generado en alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> "trucha arco iris", sometidas a la acción de dos marcas comerciales de enjuague bucal. Determinar el porcentaje de mortalidad generado en alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> "trucha arco iris", sometidas a cuatro concentraciones crecientes de dos marcas comerciales de enjuague bucal. Calcular la concentración letal media (CL₅₀) de dos marcas comerciales de enjuague bucal sobre alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> "trucha arco iris" a las 24 y 48 horas de registro de datos. Determinar el efecto sobre la calidad fisicoquímica del agua de cultivo (pH, dureza total, conductividad eléctrica, sólidos disueltos totales) de alevinos de trucha <i>Oncorhynchus mykiss</i> por la adición de enjuague bucal 	<p>Contaminación de los ecosistemas acuáticos continentales</p> <p>Contaminación del agua por productos antisépticos.</p> <p>Toxicidad acuática</p> <p>Bioindicadores</p> <p>Efecto de la contaminación sobre los organismos acuáticos</p> <p>Bioensayos</p> <p>Dosis letal media</p> <p>Determinación de la DL₅₀ y CL₅₀</p> <p>Enjuague bucal</p> <p>La "trucha arco iris" <i>Oncorhynchus mykiss</i></p>	<p>Las dos marcas comerciales de enjuague bucal (Listerine y Dento) probado en cuatro concentraciones crecientes en el medio de cultivo, generan mayor efecto ecotoxicológico agudo a mayor concentración en alevinos de <i>Oncorhynchus mykiss</i>, medido como porcentaje de mortalidad y concentración letal media (CL₅₀)</p>	<p>Variable independiente Enjuague bucal Indicador: Dos marcas comerciales Concentración del enjuague bucal Indicador: cuatro concentraciones (Dento y Listerines) con 1; 2; 3 y 4 ml/L</p> <p>Variable dependiente Toxicidad aguda Indicadores: Mortalidad (%) Concentración letal media (CL₅₀).</p> <p>Variables intervinientes Características fisicoquímicas del agua de cultivo de <i>Oncorhynchus mykiss</i> Indicadores: pH Dureza total (mg/L) Conductividad eléctrica (uS/cm) Sólidos disueltos totales (mg/L)</p>	<p>Tipo de investigación: Básica</p> <p>Nivel de investigación: Experimental básica</p> <p>Diseño: Experimental</p> <p>Muestreo: Aleatorio</p> <p>Técnicas: Observación Determinación</p> <p>Instrumentos: Observación</p>