

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Biodegradación de antibióticos por desnitrificación y efectos sobre la fisiología, cinética y comunidades microbianas desnitrificantes

Biodegradation of antibiotics by denitrification and their effects on the physiology, kinetics, and denitrifying microbial communities

Yeny Banda-Soriano[✉], Omar Oltehua-López[✉], Anne-Claire Texier[✉], Flor de María Cuervo-López^{*✉}

Recibido: 04 de febrero de 2022.

Aceptado: 03 de abril de 2022.

Publicado: abril de 2022.

RESUMEN

Antecedentes. La contaminación del agua por nitrato y antibióticos ha ido creciendo a lo largo de los años, por lo que el proceso desnitrificante puede ser una buena alternativa para la eliminación simultánea de ambos compuestos. **Objetivo.** Mostrar el papel de la desnitrificación en la eliminación de antibióticos, así como los efectos de estos compuestos sobre la fisiología y cinética del proceso respiratorio, los genes y las poblaciones microbianas desnitrificantes. **Resultados.** Existen estudios sobre la eliminación de diferentes antibióticos bajo condiciones desnitrificantes, sin embargo, en la mayoría de los trabajos, el destino de la materia carbonada y nitrogenada consumida se desconoce. Antibióticos como las sulfonamidas y tetraciclinas provocan efectos negativos sobre el proceso desnitrificante al disminuir la eficiencia de eliminación de nitrato, su velocidad de consumo y propiciar la acumulación de nitrito. Se reportaron géneros desnitrificantes como *Thauera* y *Pseudomonas* como resistentes y/o tolerantes ante la presencia de diferentes antibióticos pertenecientes a las fluoroquinolonas, macrólidos, tetraciclinas y β -lactámicos, así como mezclas de éstos. La disminución de la abundancia y expresión génica de genes que participan en la desnitrificación como *nirS* y *nosZ*, fue observada en presencia de sulfonamidas, efecto que podría causar la acumulación de nitrito y óxido nítrico, ocasionando un posible cuello de botella en el proceso desnitrificante. En microorganismos desnitrificantes expuestos a antibióticos han sido detectados genes de resistencia a antibióticos, los cuales podrían actuar como mecanismos de defensa ante su presencia. **Conclusiones.** La información contenida en la presente revisión contribuye al conocimiento sobre el proceso desnitrificante, proponiendo su uso para llevar a cabo una eliminación más eficiente y estable de nitrato y antibióticos presentes en aguas contaminadas.

Palabras clave: Genes desnitrificantes, genes de resistencia a antibióticos, mineralización, oxidación de antibióticos, reducción de nitrato.

Laboratorio de Fisiología Microbiana, Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Leyes de Reforma 1A Sección, Iztapalapa, Ciudad de México, 09310. México.

*Corresponding author:

Flor de María Cuervo-López: e-mail: fmcl@xanum.uam.mx

To quote as:

Banda-Soriano, Y., O. Oltehua-López, T. Anne-Claire & F. de M. Cuervo-López. 2022. Biodegradación de antibióticos por desnitrificación y efectos sobre la fisiología, cinética y comunidades microbianas desnitrificantes. *Hidrobiológica* 32 (1): 59-70.

DOI:10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2022v32n1/Banda

ABSTRACT

Background. Water pollution by nitrate and antibiotics has been growing over the years, so the denitrifying process can be a good alternative for the simultaneous removal of both compounds. **Objective.** Show the role of denitrification in the elimination of antibiotics, as well as their effects on the physiology and kinetics of the respiratory process, genes, and denitrifying microbial populations. **Results.** There are studies on the elimination of different antibiotics under denitrifying conditions, however, in most of them, the fate of the carbonated and nitrogenous matter consumed is unknown. Antibiotics such as sulfonamides and tetracyclines cause negative effects on the denitrifying process by decreasing the nitrate removal efficiency, its rate of consumption, and promoting the accumulation of nitrite. Denitrifying genera such as *Thauera* and *Pseudomonas*

were reported as resistant and/or tolerant to the presence of different antibiotics belonging to fluoroquinolones, macrolides, tetracyclines, and β -lactams, as well as mixtures of antibiotics. Decreased abundance and gene expression of genes involved in denitrification such as *nirS* and *nosZ*, was observed in the presence of sulfonamides, this effect could cause nitrite and nitrous oxide accumulation, producing a possible bottleneck in the denitrifying process. Antibiotic resistance genes have been detected in denitrifying microorganisms exposed to antibiotics, which could act as defense mechanisms to the presence of these compounds. **Conclusions.** The information contained in this review contributes to the knowledge about the denitrifying process and proposes its use to carry out more efficient and stable disposal of nitrate and antibiotics present in contaminated waters.

Keywords: Antibiotic oxidation, antibiotic resistance genes, denitrification genes, mineralization, nitrate reduction.

NOMENCLATURA

PTAR:	Planta de tratamiento de aguas residuales
3D-BER:	Reactor tridimensional bioelectroquímico
UASB:	Reactor anaerobio de lecho de lodos y flujo ascendente (Up-flow Anaerobic Sludge Blanket)
SBR:	Reactor de lotes secuenciados (Sequential batch reactor)
CAS:	Lodo activado convencional
STR:	Reactor de tanque agitado (stirred tank reactor)
PT:	Planta de tratamiento
MBR:	Reactor de membrana
EGSB:	Reactor granular de lecho expandido (Expanded Granular Sludge Bed)
GRA:	Genes de resistencia a antibióticos
NT:	Nitrógeno total
NI:	Nitrógeno inorgánico
NH_4^+ :	Amonio
NO_2^- :	Nitrito
NO_3^- :	Nitrato
SDZ:	Sulfadiazina
SMX:	Sulfametoxazol
SMZ:	Sulfametazina
AMP:	Ampicilina
AMOX:	Amoxicilina
TET:	Tetraciclina
OTC:	Oxitetraciclina
CTC:	Clortetraciclina
CIP:	Ciprofloxacino

NOR:	Norfloxacino
OFL:	Ofloxacino
MOX:	Moxifloxacino
ENR:	Enrofloxacino
AC PIP:	Ácido pipemídico
AC PIR:	Ácido piromídico.
ERY:	Eritromicina
ROX:	Roxitromicina
STRP:	Estreptomicina
TYL:	Tilosina

INTRODUCCIÓN

Debido al crecimiento poblacional y las necesidades humanas, tanto la cantidad de desechos generados como la contaminación ambiental se han incrementado (Gambhir *et al.*, 2012). Se contaminan los suelos, el aire y el agua de este planeta, afectando la flora y fauna (Boxall, 2004; Qin *et al.*, 2015). Se estima que gran parte del agua potable en el mundo está contaminada, siendo la principal causa de diversas enfermedades (Nabeela *et al.*, 2014; WHO, 2019). Compuestos químicos como los clorados, pesticidas, ácidos, metales pesados, entre otros, son residuos de actividades industriales, que constituyen una fuente principal de contaminantes que afectan a los ecosistemas macro y microbiológicos del agua (Brown *et al.*, 2006).

Los compuestos nitrogenados inorgánicos (NI) como el NH_4^+ , NO_2^- y NO_3^- (amonio, nitrito y nitrato, respectivamente), son contaminantes que se encuentran en aguas no tratadas, ya sea de origen doméstico, agrícola e industrial. Particularmente, el NO_3^- puede provenir de diferentes procesos industriales como mataderos, destilerías, complejos azucareros, producción de levaduras, almidones, textiles y fertilizantes, entre otros (Ávila & Sansores, 2003). La presencia de nitrato tanto en suelos como en acuíferos ha aumentado principalmente debido al uso excesivo de fertilizantes, así como al aumento de los residuos humanos (Larios-Ortiz, 2009). Se han reportado concentraciones de nitrato desde 0.01 y hasta 3,644 mg/l en efluentes de ganadería, hospitalarios y de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), mientras que de nitrógeno total (NT) se han reportado concentraciones entre 0.00002 y 18 mg/l (Tabla 1, material suplementario). Los compuestos NI y NT causan entre otros problemas, efectos tóxicos en organismos acuáticos, la acidificación de lagos (Camargo & Alonso, 2007), así como eutrofización de cuerpos acuáticos, la cual promueve la formación de grandes cantidades de biomasa, el consumo excesivo del oxígeno disponible en los sistemas acuáticos y afectaciones en la fotosíntesis al evitar el paso de la luz (Ansari *et al.*, 2010). La ingesta de concentraciones altas de nitrato repercute en la salud humana, causando metahemoglobinemia en niños menores de 3 años (Fewtrell, 2004). También se ha reportado que los productos generados del contacto del nitrato utilizado como conservador de alimentos con la saliva, así como de la acidificación en el estómago de las aminas presentes en algunos alimentos (Moreno *et al.*, 2015), pueden causar enfermedades como diabetes, Parkinson y Alzheimer (De la Monte *et al.*, 2009).

Por otro lado, la cantidad de antibióticos presentes en diferentes tipos de aguas residuales, como hospitalarias o ganaderas, también ha ido en aumento, debido a su uso en el tratamiento de infecciones bacterianas y a su uso excesivo en actividades veterinarias durante la producción de animales de granja (Ahmad *et al.*, 2014). Aproximadamente 200,000 toneladas de antibióticos se utilizan en el mundo por año (Hou *et al.*, 2015; Yin *et al.*, 2017), de las cuales 52-70% son canalizadas para usos veterinarios (Cuong *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2019) y el resto para uso humano y agrícola, es decir, tratamiento de plagas en plantas. En todos los casos, entre un 30-90% de los antibióticos consumidos se absorben en el organismo y el resto se desecha por la orina y heces, donde el antibiótico sigue siendo activo (Xia *et al.*, 2012; Hou *et al.*, 2015). La excesiva presencia de antibióticos en los diferentes ambientes y ecosistemas tiene diversos efectos, por ejemplo, provoca la muerte de microorganismos y cambios en las poblaciones bacterianas, así como un aumento de genes de resistencia a antibióticos (GRA) (Zuccato *et al.*, 2010; Tsiaka *et al.*, 2013; Fraqueza, 2015).

Como se ilustra en la Tabla 1, una amplia variedad de grupos de antibióticos, como los antibióticos sintéticos: sulfonamidas y fluoroquinolonas; antibióticos de origen microbiano y semisintético: tetraciclinas y β -lactámicos; se han detectado en diversos tipos de aguas residuales. Todos ellos son antibióticos de amplio espectro ampliamente usados en medicina humana y veterinaria, así como en el área agrícola (Hoff & Kist, 2009; Amorim *et al.*, 2014; Etebu & Arikekpar, 2016; Vicente & Pérez-Trallero, 2010). De manera general, en los efluentes de las PTAR se alcanzan concentraciones de distintos antibióticos entre $0.005\text{--}31 \times 10^3 \mu\text{g/l}$ (Tabla 1) (Brown *et al.*, 2006; Kümmerer, 2009; Watkinson *et al.*, 2009; Hu *et al.*, 2018; Kovalakova *et al.*, 2020). Es notorio que en las aguas residuales hospitalarias la concentración de antibióticos es más alta ($0.013\text{ a }5 \times 10^5 \mu\text{g/l}$), seguida de las aguas ganaderas ($0.002\text{ a }2100 \mu\text{g/l}$). Los antibióticos que están en mayor concentración son las tetraciclinas seguidas de las fluoroquinolonas, sulfonamidas, β -lactámicos y finalmente se encuentran los macrólidos con una menor presencia. Es importante resaltar que en estas aguas residuales de origen urbano, agrícolas, de rastros y ganaderos, además de estar contaminadas con antibióticos, también se encuentran presentes diferentes concentraciones de nitrato. Por lo que es necesario eliminar ambos compuestos.

Aunque existen diferentes procesos fisicoquímicos para eliminar materia nitrogenada de forma eficiente, son altamente costosos y la mayoría de las veces generan una contaminación colateral (Boyer, 2014). Por otro lado, hay diversos procesos biológicos que eliminan completamente diferentes compuestos nitrogenados. Estos procesos son amigables con el medio ambiente y tienen una buena relación costo-efectividad (Mozumder & Hossain, 2020). Dentro de estos procesos, se incluyen la nitrificación, el anammox y la desnitrificación. El proceso biológico de la desnitrificación cobra relevancia, ya que es un proceso anóxico de óxido-reducción donde el nitrato se reduce a nitrógeno molecular, a través de la acción de diferentes enzimas reductasas y simultáneamente, la materia carbonada se oxida a HCO_3^- ; al utilizarla como fuente de electrones (Cuervo-López *et al.*, 2009). La temperatura, pH, oxígeno y relación carbono/nitrógeno (C/N), afectan el desempeño de la desnitrificación, observándose efectos sobre la velocidad de consumo y crecimiento celular, inhibición de algunas de las enzimas desnitrificantes, pérdida de la actividad desnitrificante, así como una desnitrificación incompleta. Estos factores deben ser controlados de forma que se evite una acumulación de sustratos e intermediarios y se

presente una disminución en las eficiencias de consumo y conversión de los sustratos utilizados (Knowles, 1982; Cuervo-López *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2017).

Para realizar la desnitrificación, es posible utilizar como donadores de electrones compuestos orgánicos como etanol, acetato, glucosa, entre otros (Cuervo-López *et al.*, 1999; Elefsiniotis & Li, 2006) o inorgánicos como hidrógeno, compuestos de azufre o metano, por lo tanto, organismos litótrofos y organótrofos pueden estar involucrados en el proceso respiratorio (Ma *et al.*, 2020). En los últimos años, el interés científico ha crecido y se ha centrado en el uso de la desnitrificación organotrófica para la eliminación y/o degradación de antibióticos. Tal es el caso de los estudios realizados bajo condiciones desnitrificantes con diferentes sulfonamidas como SDZ, SMX, SMZ (Sun *et al.*, 2017; An & Qin, 2018; Hou *et al.*, 2019a; Zhang *et al.*, 2020a; Zheng *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2021); con β -lactámicos como AMP y AMOX, y tetraciclinas como TET y OTC (Islas-García *et al.*, 2017; Rahman *et al.*, 2018; Semedo *et al.*, 2018; Feng *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020; Yu *et al.*, 2021). Incluso, se ha estudiado la eliminación de otro grupo de antibióticos como las fluoroquinolonas, tal es el caso de CIP y OFL bajo condiciones desnitrificantes (Tong *et al.*, 2019; Hassan *et al.*, 2020; Ruan *et al.*, 2020). Aunque en la literatura se encuentran estudios sobre el uso de la desnitrificación para eliminar antibióticos presentes en las aguas residuales, es difícil saber qué ocurre con el proceso respiratorio biológico, es decir si es posible eliminar el antibiótico y mineralizarlo por desnitrificación, ya que las variables de respuesta como eficiencias de consumo de sustratos, rendimientos de formación de productos y velocidades de consumo de sustrato y formación de producto no siempre son reportadas. El utilizar este tipo de variables de respuesta permitiría demostrar qué sucede con el proceso desnitrificante, así como el destino de los antibióticos que son degradados por esta vía biológica y así proponer este proceso respiratorio como un proceso biológico eficiente y amigable con el ambiente para la depuración de aguas residuales. Asimismo, en presencia de antibióticos, aun no se ha realizado la asociación de variables biológicas como abundancia relativa de comunidades desnitrificantes, genes desnitrificantes y de resistencia, con variables fisiológicas y cinéticas, por lo que sería deseable generar más información sobre estos temas.

El objetivo del presente documento es proporcionar una revisión de los estudios que se han realizado en los últimos años bajo condiciones desnitrificantes a fin de ahondar sobre el papel de la desnitrificación en la biodegradación de los antibióticos, así como identificar los efectos de los antibióticos sobre la fisiología, cinética y comunidad microbiana desnitrificante.

DISCUSIÓN

Eliminación de antibióticos y su efecto sobre el proceso desnitrificante. La eliminación de antibióticos del medio ambiente es un tema de preocupación en la comunidad científica, por lo que los estudios para su eliminación mediante procesos biológicos han ido aumentando. La desnitrificación es un ejemplo de éstos y se destaca porque elimina el nitrógeno y la materia carbonada simultáneamente. Algunos estudios en los que se reproducen las concentraciones de antibióticos encontradas en aguas residuales y en el medio ambiente, muestran que en condiciones desnitrificantes utilizando diferentes tipos de reactores y condiciones de operación, es posible la eliminación de diferentes anti-

bióticos, ya sea de forma individual y/o en mezcla, en concentraciones desde $\mu\text{g/l}$ hasta mg/l (Tabla 2, material suplementario).

Los antibióticos pueden ser eliminados por tres formas principalmente: por adsorción, acción química y acción biológica (Oberoi *et al.*, 2019). La adsorción es un proceso en el que los antibióticos presentes en el agua contaminada se adhieren a los microorganismos depuradores, que se encuentran ya sea en forma de biopelícula, aglomerados granulares o floculares. Qué tanto se adsorban los antibióticos a los lodos depuradores dependerá de diferentes factores, entre ellos de sus interacciones con iones metálicos como Ca^{2+} y Mg^{2+} presentes en la matriz del lodo y del pH del medio, como sucede con las fluoroquinolonas (Li & Zhang, 2010; Cao *et al.*, 2019) y sulfonamidas (Wang *et al.*, 2015), antibióticos de los que, bajo condiciones desnitrificantes, se ha reportado su eliminación por adsorción desde un 7.7 y hasta un 70% (Tabla 2). La composición de las sustancias exopoliméricas (EPS) que conforman los agregados microbianos también juega un papel determinante en la adsorción de antibióticos (Cao *et al.*, 2019). En general, el tipo de antibiótico, su concentración, la cantidad de biomasa presente, así como la composición de las EPS y su capacidad de adsorción, son entre otros, los factores que determinan la adsorción de antibióticos (Xiang *et al.*, 2019). Debido a esto, el intervalo de eliminación de antibióticos por adsorción resulta ser muy variable. Asimismo, la eliminación y/o degradación de antibióticos puede favorecerse por la acción de determinados factores ambientales como la temperatura, la luz o el pH, o bien por oxidación química (Ding *et al.*, 2016).

Aunque la eliminación de antibióticos por adsorción o vía química puede ser alta, la eliminación de estos compuestos por acción biológica y bajo condiciones desnitrificantes en ocasiones puede ser el proceso más importante, alcanzando valores de hasta un 100% bajo estas condiciones (Tabla 2). Si bien no en todos los casos se reporta la eliminación del compuesto nitrogenado, la biodegradación de los antibióticos se puede asociar con el consumo del NO_3^- presente en las aguas por desnitrificación heterotrófica (Matějů *et al.*, 1992). Al respecto, en ensayos donde se encuentra un único antibiótico y según el tipo de éste, se han reportado diferentes porcentajes de eliminación por biotransformación. Por ejemplo, tanto SMX como SMZ se eliminan parcialmente, entre un 13 y 21%, mientras que, dependiendo de la concentración de CIP, es posible eliminar entre 20 y hasta 93% del compuesto (Suarez *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2013; Hassan *et al.*, 2020). Está documentada una eliminación total de AMP asociada completamente al consumo total de nitrato por el proceso desnitrificante (Islas-García *et al.*, 2017). Asimismo, se ha reportado la eliminación por desnitrificación de diferentes concentraciones de AMP, desde 5 y hasta 100 mg/l totalmente asociada a la reducción de nitrato (Banda *et al.*, 2022). Existen también reportes sobre la eliminación de mezclas de antibióticos bajo condiciones desnitrificantes. Tal es el caso de la eliminación parcial de mezclas de antibióticos como CIP, NOR, OFL, MOX, ERY y ROX, de entre 1 y 20%, en otro ejemplo con AMP, SMX, SDZ, TET, CTC y OTC donde la eliminación varió entre el 77-99%. En todos estos casos, se asoció con el consumo de nitrato (Tabla 2). Sin embargo, hay que tener en cuenta que la presencia de más de un antibiótico puede provocar interacciones farmacodinámicas, ya sean sinérgicas (suma de los efectos de los distintos antibióticos) o antagónicas (inhibiendo o bloqueando los efectos bactericidas) (Roose-Amsaleg *et al.*, 2021), repercutiendo en el consumo del propio antibiótico. Por ejemplo, se ha informado que una mezcla de distintas tetraciclinas (Chen *et al.*, 2020), tiene efectos antagonistas en la digestión aerobia, disminuyendo el consumo de la materia orgánica.

La variabilidad en los porcentajes de eliminación tanto de antibióticos como de nitrato podría estar asociada con la relación C/N establecida (Cuervo-López *et al.*, 2009). En este sentido, Hassan *et al.* (2020) utilizando CIP y relaciones C/N entre 0.5 y 3.5, observaron que a la C/N de 0.5, la biodegradación del antibiótico y la eliminación de NO_3^- fueron del 50 y 20% respectivamente, mientras que a una C/N mayor que 1.5, la biodegradación de ambos sustratos fue mayoritaria. Esto apunta a que, al establecer relaciones C/N estequiométricas o cercanas a ellas, se incrementa la posibilidad de obtener una eliminación de antibióticos cercana al 100%, como lo reportado por Islas-García *et al.* (2017) y Banda *et al.* (2022). Otro punto puede ser que el antibiótico esté en la presencia de una fuente carbonada fácilmente degradable. Al respecto, existen trabajos en los que el consumo de CIP (Hassan *et al.*, 2020) y AMP (Islas-García *et al.*, 2017) se ha logrado en presencia de acetato de sodio. Los autores proponen que estos resultados podrían estar asociados con procesos cometabólicos, donde el acetato de sodio es la fuente de carbono que funciona como principal donador de electrones y promueve el crecimiento microbiano. También se ha informado que bajo condiciones desnitrificantes litotróficas es posible eliminar NO_3^- y el 21% de SMX utilizando azufre como fuente donadora de electrones. Cabe mencionar que el proceso desnitrificante litotrófico es poco utilizado, por lo que hace falta generar información sobre este proceso en presencia de antibióticos. La información presentada muestra la viabilidad de utilizar el proceso desnitrificante para tratar aguas residuales contaminadas con antibióticos. Sin embargo, dado que factores como el tipo de antibiótico, concentración y número de antibióticos presentes en las aguas residuales, así como la concentración de compuestos nitrogenados presentes, afectan la eliminación de ambos compuestos, se necesita más investigación al respecto para corroborar que la eliminación del antibiótico esté acoplada a la eliminación de nitrato por el proceso desnitrificante.

Destino de los antibióticos y del nitrógeno. Son pocos los estudios que han reportado los productos finales provenientes de la respectiva oxidación y reducción de la fuente de carbono y nitrógeno bajo condiciones desnitrificantes. El destino de los antibióticos y nitrato eliminados es un punto importante por responder, puesto que los productos formados no necesariamente son CO_2 y N_2 , los productos carbonados generados podrían ser más recalcitrantes y/o tóxicos que el antibiótico de origen, y el nitrato podría ser reducido parcialmente y quedarse como NO_2^- y/o N_2O (Moraes *et al.*, 2012), es decir, los productos podrían causar más daño al medio ambiente.

En algunos estudios se ha realizado la asociación del proceso desnitrificante con el consumo simultáneo de antibióticos, así como el seguimiento de los productos de la ruta carbonada y nitrogenada. Por ejemplo, Islas-García *et al.* (2017) observaron que la AMP se mineralizó completamente a HCO_3^- y el NO_3^- se redujo totalmente a N_2 con una formación transitoria de NO_2^- . Esto demostró que la AMP se puede eliminar y mineralizar por completo en condiciones desnitrificantes. En algunos estudios, se ha observado una mineralización parcial de antibióticos. Banda *et al.* (2022) observaron que dependiendo de la concentración de AMP utilizada como única fuente de electrones, es posible la eliminación completa del antibiótico o bien su mineralización parcial a HCO_3^- y a dos intermediarios carbonados, mientras que el NO_3^- fue reducido parcialmente a N_2 y N_2O , por lo que, bajo ciertas condiciones desnitrificantes, es posible eliminar AMP, pero no mineralizarla completamente. Cabe destacar que en otros estudios se observa la mineralización parcial de antibióticos, pero no se habla del destino del nitrato.

Por ejemplo, Liu *et al.* (2013) detectaron dos intermediarios como posibles productos de la biotransformación de CIP. Asimismo, Hassan *et al.* (2020) observaron que bajo condiciones desnitrificantes y al establecer una relación C/N de 1.5, surgen cuatro intermediarios carbonados procedentes de la biotransformación de CIP; para este caso en particular, los autores proponen a los cuatro intermediarios como posibles pasos de reacciones independientes para la degradación del antibiótico. Al utilizar SMX se observó la formación transitoria de un intermediario (Barbieri *et al.*, 2012), en otro ensayo con SMX se observó la formación de cuatro intermediarios de carbono (Zhang *et al.*, 2020a), para este caso en particular, los autores proponen a los cuatro intermediarios como posibles reacciones dependientes, por lo que se proponen dos posibles rutas de degradación de SMX. Por último, se encuentran los casos donde solo se observó el destino de la materia nitrogenada. Liu *et al.* (2013) con CIP observaron una reducción parcial del nitrato ya que el 26% del nitrato consumido se redujo completamente a N_2 y el 52% se redujo a nitrito. Si bien no en todos los casos se forman intermediarios carbonados o nitrogenados bajo condiciones desnitrificantes, se podría decir que su aparición depende del antibiótico evaluado, así como de la disponibilidad del nitrato presente.

Es importante subrayar que muchos de los intermediarios carbonados detectados no han sido identificados, por lo que, en la mayoría de los casos, se desconocen los efectos o grado de toxicidad que podrían ocasionar a los microorganismos presentes en el ambiente o a la salud humana. Otro punto que está poco abordado son las posibles rutas metabólicas de degradación de los antibióticos, así como las enzimas involucradas en dichos procesos. Con la información presentada se observa la falta de medición y/o verificación de la mineralización de antibióticos. Contar con esta información permitiría constatar su oxidación total o parcial. Asimismo, hay poca evidencia que muestre la capacidad de los lodos desnitrificantes para mineralizar completamente otros antibióticos de uso común, por lo que aún se desconoce la posibilidad de que los antibióticos actualmente utilizados puedan oxidarse bajo condiciones desnitrificantes.

Efectos de antibióticos sobre el proceso desnitrificante. Se ha reportado que, como consecuencia de la exposición de los lodos desnitrificantes a un único antibiótico, pueden ocurrir diversos efectos fisiológicos, tales como una disminución en la eficiencia de consumo de nitrato (Li *et al.*, 2021), así como una acumulación de compuestos nitrogenados ya sea en forma de nitrito, óxido nitroso o ambos (Ahmad *et al.*, 2014; Yin *et al.*, 2017). También se han documentado efectos cinéticos sobre el proceso desnitrificante (Hou *et al.*, 2015; Islas-García *et al.*, 2017; Banda *et al.*, 2022), tal es el caso de la disminución en una o varias de las velocidades específicas (q) del proceso, ya sea en el consumo de nitrato o del propio antibiótico ($q_{NO_3^-}$, $q_{\text{antibiótico}}$), o bien de la formación de los productos de la desnitrificación, como el bióxido de carbono y/o bicarbonato (q_{CO_2} , $q_{HCO_3^-}$), nitrógeno molecular (q_{N_2}) y/o intermediarios como el nitrito ($q_{NO_2^-}$) y el óxido nitroso (q_{NO}). Ejemplos de estos efectos sobre el proceso desnitrificante se muestran en la Tabla 3 (material suplementario). La evidencia científica ha permitido corroborar que, bajo condiciones desnitrificantes, la presencia de antibióticos usados como fuente orgánica o donador de electrones, ya sea de forma individual o en mezcla, provoca más de un efecto cinético o fisiológico en los lodos.

En algunos casos, la exposición de lodos desnitrificantes a diferentes concentraciones de CIP no afectó el consumo de NO_3^- , resultando

en altas eficiencias de consumo del compuesto nitrogenado (Li *et al.*, 2021). Es posible que este resultado esté asociado con la C/N utilizada de 3.7. En este sentido, Hassan *et al.* (2020) observaron que en presencia de CIP y cuando se establecen relaciones C/N mayores a la estequiométrica, el consumo de NO_3^- es mayoritario y no se ve afectado. Sin embargo, esto no quiere decir que se pueda usar CIP como fuente orgánica donadora de electrones sin causar repercusiones en el proceso desnitrificante puesto que se han observado en lodos con actividad desnitrificante, otros efectos fisiológicos como la acumulación de nitrito y cinéticos, como una disminución en la velocidad de consumo de NO_3^- .

Son diferentes factores los que determinan qué tanto disminuye la eficiencia de consumo de NO_3^- ; entre ellos se pueden citar al tipo de antibiótico y su concentración. Por ejemplo, concentraciones de 10 mg/l de CIP, AMOX o CTC parecen no tener efecto sobre la eficiencia de consumo de NO_3^- en comparación a un ensayo control, ya que son cercanas al 100% en ambos casos. Sin embargo, con 10, 50 y 100 mg/l de β -lactámicos, sulfonamidas y tetraciclinas como AMOX, SMX y CTC respectivamente, la eficiencia de consumo de NO_3^- disminuye en las 3 concentraciones (10, 50 y 100 mg/l) un 71.2, 42.62 y 74.43% respectivamente, al aumentar la concentración de los antibióticos y en comparación con un ensayo control sin ellos (Li *et al.*, 2021). Aunque la disminución de la eficiencia de consumo de NO_3^- es similar con AMOX y CTC, existió un efecto mayor (98 al 26.8% y 90.89 al 16.46% respectivamente) cuando se utilizó SMX (50.6 al 7.98%). De hecho, diversos estudios coinciden en que la disminución de consumo de nitrato ocurre con más frecuencia cuando se usan algunas sulfonamidas o tetraciclinas (Zhang *et al.*, 2022).

Por otra parte, las fluoroquinolonas, β -lactámicos, sulfonamidas y tetraciclinas han causado la acumulación de diferentes intermediarios nitrogenados como el caso del nitrito (Ahmad *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2021). Este efecto ha sido asociado con la disminución de la actividad de las enzimas reductasas, con modificaciones celulares estructurales sobre las comunidades desnitrificantes en los lodos, así como cambios en las comunidades desnitrificantes debido al efecto bactericida de los antibióticos (Katipoglu-Yazan *et al.*, 2016). En ensayos con *Pseudomonas stutzeri* se observó que, bajo condiciones desnitrificantes, la actividad de las enzimas óxido nitroso, óxido nítrico y nitrito reductasa disminuía en presencia de SMX, provocando acumulación de intermediarios nitrogenados como N_2O , NO y NO_2^- (Gui *et al.*, 2017). La información de la literatura sugiere que la acumulación de nitrito depende de la concentración del antibiótico, por ejemplo, se observa una tendencia decreciente de nitrito acumulado con respecto al aumento en la concentración de antibióticos como AMOX, SMX y CTC. Cabe destacar que, hasta el momento, no se han encontrado reportes en ensayos con mezclas de diferentes antibióticos, en los que se muestren afectaciones en variables fisiológicas como la eficiencia de consumo de NO_3^- y la acumulación de nitrito, por lo que falta realizar más estudios con lodos bajo condiciones desnitrificantes y mezclas de antibióticos.

El efecto de los antibióticos sobre algunas variables cinéticas como velocidades de consumo de nitrato y formación de productos (HCO_3^- , N_2O y N_2) se muestra en la Tabla 3. En el caso de antibióticos pertenecientes al grupo β -lactámico, se observa una mayor afectación en la velocidad específica de consumo de NO_3^- en presencia de 18 mg de AMP y acetato (Islas-García *et al.*, 2017) que con 10 mg/l de AMOX (Li *et al.*, 2021), mientras que en un ensayo realizado con AMP como única fuente de electrones, las velocidades de consumo de NO_3^- , de mine-

ralización a HCO_3^- y reducción a N_2 fueron menores a las reportadas cuando el proceso desnitrificante es realizado con acetato (Banda *et al.*, 2022). En algunos casos, se han reportado las velocidades de consumo de nitrato y formación de óxido nitroso, por ejemplo, al evaluar con SMZ (Hou *et al.*, 2015) y con una mezcla de antibióticos conteniendo a SMZ (Yin *et al.*, 2017). Se observó que la disminución de la velocidad de consumo de NO_3^- fue de 38% con SMZ y 44% con la mezcla que contenía ERY, NOR, SMZ y OTC. Los autores sugieren que la velocidad de consumo se ve afectada por el efecto sinérgico de la presencia de los otros antibióticos y de la SMZ (Yin *et al.*, 2017). Además, Yin *et al.* (2017) así como Hou *et al.* (2015), reportaron que el aumento de 3.77 y 39 veces en la velocidad de formación de N_2O fue debido a la presencia del antibiótico, este efecto también se ha observado con sulfonamidas, tetraciclinas y fluoroquinolonas como SMX, TET y OFL (Roose-Amsaleg *et al.*, 2021), donde se muestran efectos sinérgicos en la liberación de N_2O . Por último, se encuentran estudios donde se ha reportado la disminución en la velocidad de consumo de nitrato, en los cuales se observa que al ser comparadas contra un ensayo control en ausencia de antibióticos, el porcentaje de disminución de la velocidad de consumo de nitrato aumenta con respecto a la concentración de distintos antibióticos como CIP, AMOX, SMZ, SMX y CTC. Es importante resaltar una vez más, que el tipo y concentración de antibiótico provoca efectos diferentes, de hecho, con concentraciones entre 10-100 mg/l de estos antibióticos, el orden de afectación en la velocidad de consumo de nitrato fue el siguiente: $\text{SMX} > \text{CTC} > \text{AMOX} > \text{CIP}$. La información presentada muestra los efectos de los antibióticos sobre el proceso desnitrificante, donde los factores antes mencionados, juegan un rol importante para llevar a cabo la desnitrificación. Es importante resaltar que la utilización de variables fisiológicas y cinéticas permitiría una mejor evaluación de los efectos de los antibióticos sobre la desnitrificación.

Efectos de antibióticos en las comunidades desnitrificantes. Se ha reportado la dinámica de las comunidades microbianas bajo condiciones desnitrificantes expuestas a diferentes antibióticos de forma individual o en mezcla, observándose una gran diversidad de géneros presentes. Esta gran diversidad de géneros reportados es posiblemente debida a las condiciones experimentales establecidas, así como al tipo de ensayo realizado, en lote o en continuo, o bien, a la concentración, tipo y número de antibióticos utilizados, entre otras. En la Tabla 4 (material suplementario) se muestra el efecto de algunos antibióticos sobre la abundancia relativa de géneros bacterianos presentes en las comunidades microbianas bajo condiciones desnitrificantes. Esta variable de respuesta es utilizada para evaluar la biodiversidad, es decir, determinar el porcentaje de cada género con relación al total de los géneros que conforman la comunidad microbiana. Se dice que los géneros bacterianos resistentes se definen como aquellos que tienen la capacidad de crecer y sobrevivir ante el efecto del antibiótico (Brauner *et al.*, 2016), lo cual se ve reflejado como un aumento en su abundancia relativa durante la exposición a antibióticos; mientras que los géneros bacterianos tolerantes, son aquellos que subsisten durante el tiempo en que el antibiótico esté presente (Brauner *et al.*, 2016), por lo que es posible observar una disminución en su abundancia relativa. Algunos de estos géneros, incluyen microorganismos desnitrificantes completos y bacterias que contienen una o más enzimas que forman parte de la vía desnitrificante. Aunque las comunidades microbianas son diversas, algunos géneros desnitrificantes como *Thauera*, *Comamonas*, *Pseudomonas* y *Thiobacillus* son los más frecuentemente encontrados cuando éstas se exponen a antibióticos (Liu *et al.*, 2016; An & Qin, 2018; Tong *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019; Hassan *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020a; Zhang *et al.*, 2020b; Li *et al.*, 2021).

et al., 2019; Zhang *et al.*, 2019; Hassan *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020a; Zhang *et al.*, 2020b; Li *et al.*, 2021).

Entre los géneros bacterianos tolerantes a antibióticos como β -lactámicos, sulfonamidas, fluoroquinolonas, macrólidos y tetraciclinas se encuentran *Thauera* y *Comamonas*. Con AMOX, la abundancia relativa disminuye un 32 y 12%, respectivamente (Li *et al.*, 2021); ante 100 mg/l de SMX la abundancia relativa de éstos disminuye un 28 y 9%, respectivamente (Airon *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2016; Feng *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020b), mientras que dependiendo de la concentración utilizada de CIP su abundancia relativa disminuye entre 10 a 24% y 7%, respectivamente (Tong *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019; Hassan *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020a; Li *et al.*, 2021). Un fenómeno similar se observa en presencia de STRP y TYL; en tanto que con CTC la abundancia relativa de *Comamonas* disminuye un 7% (Li *et al.*, 2021). El efecto en *Thauera* y *Comamonas*, sigue el siguiente orden: $\text{AMOX} > \text{SMX} > \text{CIP} > \text{STRP} > \text{TYL} > \text{CTC}$. Chen *et al.* (2017) observaron que la actividad desnitrificante disminuía con el aumento de la concentración de SMX, lo cual podría estar fuertemente relacionado con la afectación a diferentes géneros desnitrificantes. Es importante resaltar que, el mecanismo de acción de los antibióticos citados es diferente, a saber: inhibidores de la síntesis de la pared microbiana (β -lactámicos), en la síntesis de folato (sulfonamidas), en la actividad de la ADN girasa (fluoroquinolonas) o síntesis proteica (macrólidos y tetraciclinas).

Se ha reportado que uno de los géneros desnitrificantes más resistente tanto a fluoroquinolonas como CIP y macrólidos como STRP es *Pseudomonas* (Hancock & Speert, 2000), debido posiblemente a las mutaciones en las enzimas blanco como girasas y topoisomerasas que se han reportado en diferentes especies de *Pseudomonas*, así como a su resistencia intrínseca a macrólidos (Jalal *et al.*, 2000; Bruchmann *et al.*, 2013; Morita *et al.*, 2014). Aunque se ha reportado a *Pseudomonas* como tolerante a OFL y TYL, es más frecuentemente reportado como género desnitrificante resistente (Tong *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019). Cuando se usan concentraciones en $\mu\text{g/l}$ de SMX, *Thauera* y *Thiobacillus* son resistentes. Caso que difiere con SDZ, ya que al menos *Rhodopseudomonas* y *Thiobacillus* permanecen en el medio. Mientras que en presencia de tetraciclinas como TET y OTC, se observa la resistencia de *Thauera* aumentando su abundancia relativa entre un 17 y 22% (Liu *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2021). Por último, cuando los lodos desnitrificantes se encuentran expuestos a mezclas de antibióticos, *Comamonas* aparece como género desnitrificante resistente. Esto es posiblemente debido tanto a la concentración como al tipo de antibióticos presentes. Es importante notar que, para tener un mejor entendimiento sobre los cambios poblacionales en las comunidades desnitrificantes expuestas a diferentes antibióticos, éstos deberían ser complementados con el seguimiento de las variables fisiológicas y cinéticas de la desnitrificación, así como con el estudio del cambio en los genes de la desnitrificación, ya que existen otros factores como el tiempo de exposición y la transferencia horizontal de genes, que podrían inducir la resistencia a antibióticos.

Detección de genes desnitrificantes en comunidades microbianas expuestas a antibióticos. Los efectos de los antibióticos sobre los lodos desnitrificantes se han evaluado al cuantificar los diferentes genes responsables de la desnitrificación: *narG*, *napA*, *nirS*, *nirK*, *cnorB*, *qnorB* y *nosZ*, encontrándose cambios en la abundancia de éstos. Ejemplos de estos cambios se presentan en la Tabla 5 (material suplementario). Las condiciones experimentales establecidas, el uso de diferentes anti-

bióticos como fuente orgánica donadora de electrones, concentración y origen de los lodos, así como el tiempo de exposición a los antibióticos, son variables de importancia que influyen en la abundancia de diversos genes desnitrificantes.

Diferentes autores han observado que una posible causa por la que disminuye la abundancia de los genes desnitrificantes es por el efecto negativo de los antibióticos sobre los hospederos que los contienen (Wu *et al.*, 2017; Feng *et al.*, 2020). La disminución tanto del número de copias como de la abundancia relativa de los genes *nirS* y *nosZ* se ha observado ante la exposición de diferentes tetraciclinas (TET u OTC), sulfonamidas (SMT) o bien mezclas de estos antibióticos, disminuyendo entre el 17-48% y 50-65% respectivamente. Este fenómeno ha sido igualmente observado con diferentes concentraciones de OTC, posiblemente debido al tiempo de exposición y concentraciones de antibiótico ensayadas (Hou *et al.*, 2015; An & Qin, 2018; Semedo *et al.*, 2018; Yu *et al.*, 2021). Asimismo, se ha observado la inhibición de la expresión del gen *nirS*, que controla el paso de reducción de NO_2^- a NO y del gen *nosZ*, que controla el paso de la reducción de N_2O a N_2 , por la presencia de sulfonamidas y tetraciclinas. Se ha reportado una disminución en la expresión de genes *nirS* y *nosZ* expuestos a SMX de 0.030 y 0.036 FC respectivamente (An & Qin, 2018; Li *et al.*, 2021) asociada también con la acumulación de intermediarios nitrogenados (Tabla 5). De esta forma, las sulfonamidas no solo afectan la concentración de los genes desnitrificantes sino también su actividad (Gao *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2022). Hasta el momento, solo se ha observado la disminución en la abundancia de los genes de la enzima nitrato reductasa *narg* y *napA* (el 37 y 50% respectivamente) en presencia de OTC (Yu *et al.*, 2021). Igualmente, la variación en la abundancia de los genes desnitrificantes podría ser posiblemente debida al tipo y concentración de antibióticos, así como al tiempo de exposición.

Es importante notar que no todos los antibióticos inhiben la expresión de los genes de la desnitrificación, ya que existen antibióticos que la promueven, hecho que se ha asociado con la presencia de bacterias hospederas resistentes (Li *et al.*, 2021). De esta forma, en diferentes estudios realizados bajo condiciones desnitrificantes con antibióticos como OFL, TYL, OTC y mezclas de sulfonamidas como SFD y SMX, se ha observado el aumento del número de copias de los genes *narG*, *napA*, *nirS*, *nirK*, *cnorB*, *qnorB* y *nosZ* entre 1 y 5 órdenes de magnitud o bien entre 10 y 100% en su abundancia relativa (Sun *et al.*, 2017; Tong *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019; Feng *et al.*, 2020; Yu *et al.*, 2021). También se ha observado un aumento en la expresión de los genes *nirS* y *nosZ* en un cultivo axénico con fluoroquinolonas como CIP (Ruan *et al.*, 2020). Hasta el momento se desconoce el efecto de antibióticos como β -lactámicos u otros tipos de sulfonamidas, tetraciclinas, fluoroquinolonas, así como macrólidos sobre la abundancia y expresión de los genes desnitrificantes, aunque sí se sabe que han tenido efectos negativos sobre el comportamiento cinético de la desnitrificación. El hecho de utilizar consorcios microbianos dificulta la obtención de resultados, por lo que se requiere más investigación sobre estos temas en presencia de otros antibióticos.

Detección de genes de resistencia a antibióticos (GRA) en comunidades desnitrificantes expuestas a antibióticos. Se ha reportado la presencia de GRA en lodos desnitrificantes expuestos a diferentes concentraciones de antibióticos y tiempos de exposición, asumiéndose que actúan como mecanismos de defensa a la presencia de estos compuestos. Se ha registrado la presencia de diferentes GRA, por ejemplo:

sul, cuando lodos desnitrificantes son expuestos a sulfonamidas, *erm* en presencia de macrólidos y *tet* en presencia de tetraciclinas (Hou *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020) (Tabla 6, material suplementario). El aumento de la abundancia de GRA se ha observado por distintas causas, ya sea por la proliferación de bacterias resistentes a antibióticos (Zhou *et al.*, 2017), por la presencia de altas concentraciones de antibióticos (Zhao *et al.*, 2021) o bien como mecanismo de protección de los microorganismos a la presencia del antibiótico (Yu *et al.*, 2021). En presencia de tetraciclinas se ha observado el aumento de la abundancia relativa de diferentes genes *tet* desde un 32% y hasta 5 veces de su valor inicial (Feng *et al.*, 2020). Asimismo, se ha observado en presencia de SMZ, TYL y TET el aumento del número de copias de los GRA como *sul1*, *sul2*, *tetA*, *tetC*, *tetX* y *ermQ* entre 1 y hasta 5 órdenes de magnitud (Hou *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020). Es notorio que en presencia de TYL se ha reportado un aumento en el número de copias de GRA como *tet*, *sul* y *erm*, es decir, la sola presencia de un antibiótico estimula el aumento de diferentes GRA. En este sentido, Zhao *et al.* (2021) reportan la predominancia de GRA propios del antibiótico utilizado, además de detectar la presencia de otros tipos de GRA, efecto referido de igual manera por Wu *et al.* (2017). Se ha observado que el aumento en la detección de los GRA está relacionado con su actividad para promover la resistencia a antibióticos. En un estudio realizado en una planta piloto con etapa desnitrificante, se encontró que la expresión génica de los GRA era igual para los diferentes genes de resistencia detectados, indicando que la actividad de resistencia estaba en funcionamiento (Hou *et al.*, 2019b), lo cual posiblemente puede contribuir a la diseminación de la resistencia. También se ha registrado la disminución de la abundancia de GRA asociada a la disminución del número de microorganismos hospederos de los GRA; a la disminución de factores que favorecen la transferencia horizontal de genes (Shin *et al.*, 2020), así como a la disipación del antibiótico (Sun *et al.*, 2017). En este sentido, se ha reportado la disminución del número de copias de entre 1 y 4 órdenes de magnitud de diferentes GRA (Sun *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2019), así como la disminución del 16 al 50% de diferentes genes *tet*, en presencia de tetraciclina (Yu *et al.*, 2021). Hasta el momento, en diferentes estudios se ha registrado la tendencia creciente de detección de GRA en lodos desnitrificantes, lo cual podría ser un problema en el futuro, ya que la resistencia a antibióticos se puede prolongar a bacterias patógenas, requiriéndose de la generación de nuevos antibióticos, los cuales, a su vez, continuarán aumentando la contaminación de aguas, siendo esto un ciclo interminable. Las investigaciones se deben enfocar en la eliminación de antibióticos de las aguas bajo condiciones desnitrificantes, así como en la búsqueda de tratamientos para la eliminación de los GRA.

Conclusiones principales y perspectivas. La creciente contaminación de las aguas residuales por nitrato y antibióticos es un problema que ha ido incrementando con el paso del tiempo. Ante esta situación, el proceso biológico de la desnitrificación puede ser una buena alternativa para la eliminación simultánea de estos dos compuestos presentes en aguas residuales, ya sean de origen municipal, o provenientes de residuos agrícolas o de rastros. El proceso respiratorio desnitrificante puede realizarse en diferentes sistemas operativos, como los llevados a cabo en lotes o bien, en sistemas dinámicos como los reactores SBR y reactores alimentados en continuo, como UASB y EGSB, entre otros. Bajo condiciones desnitrificantes, la concentración, tipos de antibióticos y mezclas de estos presentes en el agua, afectan el comportamiento fisiológico de los lodos depuradores, en términos de la eficiencia de

eliminación del nitrato y de los antibióticos, así como su desempeño cinético en términos de velocidades específicas. De esta forma, la eliminación de antibióticos puede variar desde un 1 hasta un 93%. Se debe prestar mayor atención al control de la relación C/N y a la posible adición de fuentes carbonadas que potencien o permitan obtener un mejor desempeño del proceso desnitrificante y, por tanto, mayores eficiencias de eliminación de los antibióticos. Es importante resaltar que bajo condiciones desnitrificantes y en la mayoría de los casos, se desconoce la mineralización y/o el grado de oxidación de los antibióticos, la generación de intermediario(s), así como su posible efecto tóxico o inhibitorio. De igual manera, se desconoce el efecto de otros antibióticos comúnmente utilizados sobre el proceso desnitrificante. La información revisada ha destacado que la presencia de antibióticos ejerce una presión sobre la diversidad microbiana desnitrificante presente en el medio ambiente. También se ha reportado que, dependiendo de la concentración y tipo de antibiótico, géneros desnitrificantes como *Thauera* y *Comamonas* pueden ser sensibles, resistentes y/o tolerantes a AMOX, SMX, CIP, STRP, TYL y CTC mientras que *Pseudomonas* es resistente a fluoroquinolonas y macrólidos. Hasta el momento solo se ha reportado que la exposición de lodos desnitrificantes a diferentes tetraciclinas (TET u OTC), sulfonamidas (SMZ) o bien a mezclas de estos antibióticos, disminuye el número de copias entre un 17-48% y 50-65% respectivamente de genes desnitrificantes como *nirS* y *nosZ*. Asimismo, se ha reportado una disminución en la expresión génica de *nirS* y *nosZ*. Esto podría ser un cuello de botella en el desempeño cinético de las enzimas desnitrificantes y causar la acumulación de nitrito u óxido nitroso. Es importante remarcar que, como un posible mecanismo de defensa a la presencia de antibióticos, se ha detectado tanto en lodos desnitrificantes como no desnitrificantes, la existencia de diferentes GRA, lo cual podría ser benéfico para la realización del proceso desnitrificante y a la vez llegar a ser un problema ambiental y ecológico importante. Finalmente, es necesario realizar más estudios sobre los efectos cinéticos, fisiológicos, así como los efectos en las poblaciones y genes de los lodos desnitrificantes expuestos a diferentes antibióticos, a fin de contribuir en la obtención de una eliminación más eficiente y estable de estos contaminantes del agua mediante la desnitrificación.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por el Consejo Divisional de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

REFERENCIAS

- AFSA, S., K. HAMDEN, P.A. LARA MARTIN & H.B. MANSOUR. 2020. Occurrence of 40 pharmaceutically active compounds in hospital and urban wastewaters and their contribution to Mahdia coastal seawater contamination. *Environmental Science and Pollution Research* 27(2):1941-1955. DOI:10.1007/s11356-019-06866-5
- AHMAD, M., M. VITHANAGE, K. KIM, J.S. CHO, Y.H. LEE, Y.K. JOO, S.S. LEE & Y.S. OK. 2014. Inhibitory effect of veterinary antibiotics on denitrification in groundwater: a microcosm approach. *The Scientific World Journal* 2014(879831):7. DOI:10.1155/2014/879831
- AHMADI, M., H.R. MOTLAGH, N. JAAFARZADEH, A. MOSTOUFI, R. SAEEDI, G. BARZEGAR & S. JORFI. 2017. Enhanced photocatalytic degradation of tetracycline and real pharmaceutical wastewater using MWCNT/TiO₂ nano-composite. *Journal of environmental management* 186:55-63. DOI:10.1016/j.jenvman.2016.09.088
- AIRONG, Y., L. YOU & Y. JIAN. 2005. Denitrification of a newly isolated *Bacillus* strain W2 and its application in aquaculture. *Wei Sheng wu xue za zhi* 25(3):77-81.
- AMORIM, C.L., A.S. MAIA, R.B. MESQUITA, A.O. RANGEL, M.C. VAN LOOSDRECHT, M.E. TIRITAN & P.M. CASTRO. 2014. Performance of aerobic granular sludge in a sequencing batch bioreactor exposed to ofloxacin, norfloxacin and ciprofloxacin. *Water research* 50:101-113. DOI:10.1016/j.watres.2013.10.043
- AMOUEI, A., H. ASGHARNIA, H. FALLAH, H. FARAJI, R. BARARI & D. NAGHIPOUR. 2015. Characteristics of effluent wastewater in hospitals of Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. *Health Scope* 4(2):e23222. DOI:10.17795/jhealthscope-23222
- AN, Y. & X. QIN. 2018. Effects of sulfamethoxazole on the denitrifying process in anoxic activated sludge and the responses of denitrifying microorganisms. *Water Science and Technology* 78(5):1228-1236. DOI:10.2166/wst.2018.394
- ANSARI, A.A., G.S. SINGH, G.R. LANZA & W. RAST. 2010. *Eutrophication: causes, consequences and control* (Vol. 1). Springer Science & Business Media. 394 p.
- ÁVILA, J.P. & A.C. SANSORES. 2003. Fuentes principales de nitrógeno de nitratos en aguas subterráneas. *Ingeniería* 7(2):47-54.
- BANDA, Y., A.C. TEXIER & F.M. CUERVO-LÓPEZ. 2022. Physiological and kinetic evaluation of ampicillin oxidation as unique electron source by a denitrifying sludge. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 97(6):1416-1423. DOI:10.1002/jctb.7014
- BARBIERI, M., J. CARRERA, C. AYORA, X. SÁNCHEZ-VILA, T. LICA, K. NÖDLER, V. OSORIO, S. PÉREZ, M. KÖCK-SCHULMEYER, M. LÓPEZ DE ALDA & D. BARCELÓ. 2012. Formation of diclofenac and sulfamethoxazole reversible transformation products in aquifer material under denitrifying conditions: batch experiments. *Science of the Total Environment* 426:256-263. DOI:10.1016/j.scitotenv.2012.02.058
- BEHERA, S.K., H.W. KIM, J.E. OH & H.S. PARK. 2011. Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea. *Science of the total environment* 409(20):4351-4360. DOI:10.1016/j.scitotenv.2011.07.015
- BOXALL, A.B. 2004. The environmental side effects of medication: How are human and veterinary medicines in soils and water bodies affecting human and environmental health?. *EMBO reports* 5(12):1110-1116. DOI:10.1038/sj.embor.7400307
- BOYER, T.H. 2014. Physical-chemical processes for nitrogen removal. In: S. Ahuja (ed.). *Comprehensive Water Quality and Purification*. Elsevier Inc, pp. 163-195.
- BRAUNER, A., O. FRIDMAN, O. GEFFEN & N.Q. BALABAN. 2016. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nature Reviews Microbiology* 14(5):320-330. DOI:10.1038/nrmicro.2016.34
- BROWN, K.D., J. KULIS, B. THOMSON, T.H. CHAPMAN & D.B. MAWHINNEY. 2006. Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent,

- municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico. *Science of the Total Environment* 366(2-3):772-783. DOI:10.1016/j.scitotenv.2005.10.007
- BRUCHMANN, S., A. DÖTSCH, B. NOURI, I.F. CHABERNY & S. HÄUSSLER. 2013. Quantitative contributions of target alteration and decreased drug accumulation to *Pseudomonas aeruginosa* fluoroquinolone resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 57(3):1361-1368. DOI:10.1128/AAC.01581-12
- CAMARGO, J.A. & A. ALONSO. 2007. Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. *Ecosistemas* 16(2):98-110.
- CAO, D.Q., W.Y. YANG, Z. WANG & X.D. HAO. 2019. Role of extracellular polymeric substance in adsorption of quinolone antibiotics by microbial cells in excess sludge. *Chemical Engineering Journal* 370:684-694. DOI:10.1016/j.cej.2019.03.230
- CHAGAS, T.P.G., L.M. SEKI, J.C. CURY, J.A.L. OLIVEIRA, A.M.R. DÁVILA, D.M. SILVA & M.D. ASENSI. 2011. Multiresistance, β -lactamase-encoding genes and bacterial diversity in hospital wastewater in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of applied microbiology* 111(3):572-581. DOI:10.1111/j.1365-2672.2011.05072.x
- CHANG, X., M.T. MEYER, X. LIU, Q. ZHAO, H. CHEN, J.A. CHEN, Z. QIU, L. YANG, J. CAO & W. SHU. 2010. Determination of antibiotics in sewage from hospitals, nursery and slaughterhouse, wastewater treatment plant and source water in Chongqing region of Three Gorge Reservoir in China. *Environmental pollution* 158(5):1444-1450. DOI:10.1016/j.envpol.2009.12.034
- CHEN, Q.Q., W.D. WU, Z.Z. ZHANG, J.J. XU & R.C. JIN. 2017. Inhibitory effects of sulfamethoxazole on denitrifying granule properties: short- and long-term tests. *Bioresource technology* 233:391-398. DOI:10.1016/j.biortech.2017.02.102
- CHEN, J., Y. YANG, Y. LIU, M. TANG, R. WANG, H. HU, H. WANG, P. YANG, H. XUE & X. ZHANG. 2020. Effects caused by chlortetracycline and oxytetracycline in anaerobic digestion treatment of real piggery wastewater: treatment efficiency and bacterial diversity. *International Journal of Hydrogen Energy* 45(15):9222-9230. DOI:10.1016/j.ijhydene.2020.01.138
- CHENG, D., H.H. NGO, W. GUO, S.W. CHANG, D.D. NGUYEN, X. ZHANG, S. VARJANI & Y. LIU. 2020. Feasibility study on a new pomelo peel derived biochar for tetracycline antibiotics removal in swine wastewater. *Science of the Total Environment* 720:137662. DOI:10.1016/j.scitotenv.2020.137662
- CUERVO-LÓPEZ, F.M., S. MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, A.C. TEXIER & J. GÓMEZ. 2009. Principles of denitrifying processes. In: Cervantes F.J. (ed.). *Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution*. IWA Publishing, pp: 41-66.
- CUERVO-LÓPEZ, F.M., F. MARTÍNEZ, M. GUTIÉRREZ-ROJAS, R.A. NOYOLA & J. GÓMEZ. 1999. Effect of nitrogen loading rate and carbon source on denitrification and sludge settleability in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Water Science and Technology* 40(8):123-130. DOI:10.1016/S0273-1223(99)00617-4
- CUONG, N.V., P. PADUNGTO, G. THWAITES & J.J. CARRIQUE-MAS. 2018. Antimicrobial usage in animal production: a review of the literature with a focus on low-and middle-income countries. *Antibiotics* 7(3):75. DOI:10.3390/antibiotics7030075
- DE LA MONTE, S.M., A. NEUSNER, J. CHU & M. LAWTON. 2009. Epidemiological trends strongly suggest exposures as etiologic agents in the pathogenesis of sporadic Alzheimer's disease, diabetes mellitus, and non-alcoholic steatohepatitis. *Journal of Alzheimer's Disease* 17(3):519-529. DOI:10.3233/JAD-2009-1070
- DING, H., Y. WU, B. ZOU, Q. LOU, W. ZHANG, J. ZHONG, L. LU & G. DAI. 2016. Simultaneous removal and degradation characteristics of sulfonamide, tetracycline, and quinolone antibiotics by laccase-mediated oxidation coupled with soil adsorption. *Journal of hazardous materials* 307:350-358. DOI:10.1016/j.jhazmat.2015.12.062
- DORIVAL-GARCÍA, N., A. ZAFRA-GÓMEZ, A. NAVALÓN, J. GONZÁLEZ-LÓPEZ, E. HONTORIA & J.L. VILCHEZ. 2013. Removal and degradation characteristics of quinolone antibiotics in laboratory-scale activated sludge reactors under aerobic, nitrifying and anoxic conditions. *Journal of environmental management* 120:75-83. DOI:10.1016/j.jenvman.2013.02.007
- ELEFSINIOTIS, P. & D. LI. 2006. The effect of temperature and carbon source on denitrification using volatile fatty acids. *Biochemical Engineering Journal* 28(2):148-155. DOI:10.1016/j.bej.2005.10.004
- ETEBU, E. & I. ARIKEPAR. 2016. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research* 4(2016):90-101.
- FAN, N.S., Y.H. BAI, Q.Q. CHEN, Y.Y. SHEN, B.C. HUANG & R.C. JIN. 2020. Deciphering the toxic effects of antibiotics on denitrification: Process performance, microbial community and antibiotic resistance genes. *Journal of environmental management* 262:110375. DOI:10.1016/j.jenvman.2020.110375
- FENG, L., J. YANG, H. YU, Z. LAN, X. YE, G. YANG, Q. YANG & J. ZHOU. 2020. Response of denitrifying community, denitrification genes and antibiotic resistance genes to oxytetracycline stress in polycaprolactone supported solid-phase denitrification reactor. *Bioresource technology* 308:123274. DOI:10.1016/j.biortech.2020.123274
- FERNÁNDEZ-NAVA, Y., E. MARANON, J. SOONS & L. CASTRILLÓN. 2008. Denitrification of wastewater containing high nitrate and calcium concentrations. *Bioresource Technology* 99(17):7976-7981. DOI:10.1016/j.biortech.2008.03.048
- FEWTELL, L. 2004. Drinking-water nitrate, methemoglobinemia, and global burden of disease: a discussion. *Environmental health perspectives* 112(14):1371-1374. DOI:10.1289/ehp.7216
- FRAQUEZA, M.J. 2015. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from dry-fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology* 212:76-88. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.035
- GAMBIH, R.S., V. KAPOOR, A. NIROLA, R. SOHI & V. BANSAL. 2012. Water pollution: Impact of pollutants and new promising techniques in purification process. *Journal of Human Ecology* 37(2):103-109. DOI:10.1080/09709274.2012.11906453

- GAO, P., D. MAO, Y. LUO, L. WANG, B. XU & L. XU. 2012. Occurrence of sulfonamide and tetracycline-resistant bacteria and resistance genes in aquaculture environment. *Water research* 46 (7): 2355-2364. DOI:10.1016/j.watres.2012.02.004
- GUI, M., Q. CHEN & J. NI. 2017. Effect of sulfamethoxazole on aerobic denitrification by strain *Pseudomonas stutzeri* PCN-1. *Bioresource technology* 235:325-331. DOI:10.1016/j.biortech.2017.03.131
- HANCOCK, R.E. & D.P. SPEERT. 2000. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and impact on treatment. *Drug resistance updates* 3(4):247-255. DOI:10.1054/drup.2000.0152
- HASSAN, M., G. ZHU, Z. YANG, Y. LU, Y. LANG, L. GONG & H. SHAN. 2020. Effect of the C/N Ratio on Biodegradation of Ciprofloxacin and Denitrification from Low C/N Wastewater as Assessed by a Novel 3D-BER System. *Sustainability* 12(18):7611. DOI:10.3390/su12187611
- HOFF, R. & T.B. KIST. 2009. Analysis of sulfonamides by capillary electrophoresis. *Journal of separation science* 32(5-6):854-866. DOI:10.1002/jssc.200800738
- HOU, L., G. YIN, M. LIU, J. ZHOU, Y. ZHENG, J. GAO, H. ZONG, Y. YANG, L. GAO & C. TONG. 2015. Effects of sulfamethazine on denitrification and the associated N₂O release in estuarine and coastal sediments. *Environmental science & technology* 49(1):326-333. DOI:10.1021/es504433r
- HOU, L., J. LI, Z. ZHENG, Q. SUN, Y. LIU & K. ZHANG. 2019a. Cultivating river sediments into efficient denitrifying sludge for treating municipal wastewater. *Royal Society open science* 6(9):190304. DOI:10.1098/rsos.190304
- HOU, J., Z. CHEN, J. GAO, Y. XIE, L. LI, S. QIN, Q. WANG, D. MAO & Y. LUO. 2019b. Simultaneous removal of antibiotics and antibiotic resistance genes from pharmaceutical wastewater using the combinations of up-flow anaerobic sludge bed, anoxic-oxic tank, and advanced oxidation technologies. *Water research* 159:511-520. DOI:10.1016/j.watres.2019.05.034
- HU, J., J. ZHOU, S. ZHOU, P. WU & Y.F. TSANG. 2018. Occurrence and fate of antibiotics in a wastewater treatment plant and their biological effects on receiving waters in Guizhou. *Process Safety and Environmental Protection* 113:483-490. DOI:10.1016/j.psep.2017.12.003
- ISLAS-GARCÍA, I., C. ROMO-GÓMEZ & F.M. CUERVO-LÓPEZ. 2017. Ampicillin mineralization by denitrifying process: kinetic and metabolic effects. *Applied biochemistry and biotechnology* 183(3):1049-1061. DOI:10.1007/s12010-017-2483-7
- JALAL, S., O. GIOFU, N. HØIBY, N. GOTOH & B. WRETJUND. 2000. Molecular mechanisms of fluoroquinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 44(3):710-712. DOI:10.1128/AAC.44.3.710-712.2000
- KATIPOGLU-YAZAN, T., C. MERLIN, M.N. PONS, E. UBAY-COKGOR & D. ORHON. 2016. Chronic impact of sulfamethoxazole on the metabolic activity and composition of enriched nitrifying microbial culture. *Water research* 100:546-555. DOI:10.1016/j.watres.2016.05.043
- KIM, S., P. EICHHORN, J.N. JENSEN, A.S. WEBER & D.S. AGA. 2005. Removal of antibiotics in wastewater: effect of hydraulic and solid retention times on the fate of tetracycline in the activated sludge process. *Environmental science & technology* 39(15):5816-5823. DOI:10.1021/es050006u
- KIMOSOP, S.J., Z.M. GETENGA, F. ORATA, V.A. OKELLO & J.K. CHERUIYOT. 2016. Residue levels and discharge loads of antibiotics in wastewater treatment plants (WWTPs), hospital lagoons, and rivers within Lake Victoria Basin, Kenya. *Environmental Monitoring and Assessment* 188(9):1-9. DOI:10.1007/s10661-016-5534-6
- KNOWLES, R. 1982. Denitrification. *Microbiological reviews* 46(1):43-70.
- KOVALAKOVA, P., L. CIZMAS, T.J. McDONALD, B. MARSALEK, M. FENG & V.K. SHARMA. 2020. Occurrence and toxicity of antibiotics in the aquatic environment: A review. *Chemosphere* 251:126351. DOI:10.1016/j.chemosphere.2020.126351
- KÜMMERER, K. 2009. Antibiotics in the aquatic environment—a review—part I. *Chemosphere* 75(4):417-434. DOI:10.1016/j.chemosphere.2008.11.086
- LARIOS-ORTIZ, L. 2009. Contaminación del agua por nitratos: significación sanitaria. *Revista Archivo Médico de Camagüey* 13(2):6.
- LI, B. & T. ZHANG. 2010. Biodegradation and adsorption of antibiotics in the activated sludge process. *Environmental science & technology* 44(9):3468-3473. DOI:10.1021/es903490h
- LI, T., C. LIU, J. LU, G.K. GAURAV & W. CHEN. 2020. Determination of how tetracycline influences nitrogen removal performance, community structure, and functional genes of biofilm systems. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 106:99-109. DOI:10.1016/j.jtice.2019.10.004
- LI, Z.L., R. CHENG, F. CHEN, X. Q. LIN, X.J. YAO, B. LIANG, C. HUANG, K. SUN & A.J. WANG. 2021. Selective stress of antibiotics on microbial denitrification: inhibitory effects, dynamics of microbial community structure and function. *Journal of Hazardous Materials* 405:124366. DOI:10.1016/j.jhazmat.2020.124366
- LIU, C., G. H. RUBÆK, F. LIU & M. N. ANDERSEN. 2015. Effect of partial root zone drying and deficit irrigation on nitrogen and phosphorus uptake in potato. *Agricultural Water Management* 159:66-76. DOI:10.1016/j.agwat.2015.05.021
- LIU, C., J. XU, D.J. LEE, D. YU & L. LIU. 2016. Denitrifying sulfide removal process on high-tetracycline wastewater. *Bioresource technology* 205:254-257. DOI:10.1016/j.biortech.2016.01.026
- LIU, Z., P. SUN, S.G. PAVLOSTATHIS, X. ZHOU & Y. ZHANG. 2013. Inhibitory effects and biotransformation potential of ciprofloxacin under anoxic/anaerobic conditions. *Bioresource technology* 150:28-35. DOI:10.1016/j.biortech.2013.09.125
- LUO, Y., W. GUO, H.H. NGO, L.D. NGHIEM, F.I. HAI, J. ZHANG, S. LIANG & X.C. WANG. 2014. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of the total environment* 473:619-641. DOI:10.1016/j.scitotenv.2013.12.065
- MA, Y., X. ZHENG, Y. FANG, K. XU, S. HE & M. ZHAO. 2020. Autotrophic denitrification in constructed wetlands: Achievements and challenges. *Bioresource Technology* 123778. DOI:10.1016/j.biortech.2020.123778
- MARTÍNEZ, E., A.C. TEXIER, F.M. CUERVO-LÓPEZ & J. GOMEZ. 2017. Denitrification in the Presence of Chlorophenols: Progress and Prospects. *In:*

- Zhu, I. (ed.). *Nitrification and Denitrification*. Vol. 5. Intech Open, pp: 75-92.
- MATEJČ, V., S. ČIŽINSKÁ, J. KREJČÍ & T. JANOCH. 1992. Biological water denitrification—a review. *Enzyme and microbial technology* 14(3):170-183.
- MIAO, X.S., F. BISHAY, M. CHEN, C.D. METCALFE. 2004. Occurrence of antimicrobials in the final effluents of wastewater treatment plants in Canada. *Environmental science & technology* 38(13):3533-3541. DOI:10.1021/es030653q
- MORAES, B.D.S., T.S.O. SOUZA & E. FORESTI. 2012. Effect of sulfide concentration on autotrophic denitrification from nitrate and nitrite in vertical fixed-bed reactors. *Process Biochemistry* 47(9):1395-1401. DOI:10.1016/j.procbio.2012.05.008
- MORENO, B., K. SOTO & D. GONZÁLEZ. 2015. El consumo de nitrato y su potencial efecto benéfico sobre la salud cardiovascular. *Revista chilena de nutrición* 42(2):199-205. DOI:10.4067/S0717-75182015000200013
- MORITA, Y., J. TOMIDA & Y. KAWAMURA. 2014. Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials. *Frontiers in microbiology* 4:422. DOI:10.3389/fmicb.2013.00422
- MOZUMDER, M.S.I. & M.D. HOSSAIN. 2020. Interaction between Biological Nitrogen Removal Processes and Operating Parameters: A Review. *Journal of Scientific Research* 12(4):757-774. DOI:10.3329/jsr.v12i4.46092
- NABEELA, F., A. AZIZULLAH, R. BIBI, S. UZMA, W. MURAD, S.K. SHAKIR, W. ULLAH, M. QASIM & D.P. HÄDER. 2014. Microbial contamination of drinking water in Pakistan—a review. *Environmental Science and Pollution Research* 21(24):13929-13942. DOI:10.1007/s11356-014-3348-z
- OBEROI, A.S., Y. JIA, H. ZHANG, S.K. KHANAL & H. LU. 2019. Insights into the fate and removal of antibiotics in engineered biological treatment systems: a critical review. *Environmental science & technology* 53(13):7234-7264. DOI:10.1021/acs.est.9b01131
- PERINI, J.A.L., A.L. TONETTI, C. VIDAL, C.C. MONTAGNER & R.F.P. NOGUEIRA. 2018. Simultaneous degradation of ciprofloxacin, amoxicillin, sulfathiazole and sulfamethazine, and disinfection of hospital effluent after biological treatment via photo-Fenton process under ultraviolet germicidal irradiation. *Applied Catalysis B: Environmental* 224:761-771. DOI:10.1016/j.apcatb.2017.11.021
- QIN, Q., X. CHEN & J. ZHUANG. 2015. The fate and impact of pharmaceuticals and personal care products in agricultural soils irrigated with reclaimed water. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 45(13):1379-1408. DOI:10.1080/10643389.2014.955628
- RAHMAN, M.M., J. SHAN, P. YANG, X. SHANG, Y. XIA & X. YAN. 2018. Effects of long-term pig manure application on antibiotics, abundance of antibiotic resistance genes (ARGs), anammox and denitrification rates in paddy soils. *Environmental Pollution* 240:368-377. DOI:10.1016/j.envpol.2018.04.135
- ROOSE-AMSALEG, C., V. DAVID, F. ALLIOT, E. GUIGON, O. CROUZET & A.M. LAVERMAN. 2021. Synergetic effect of antibiotic mixtures on soil bacterial N₂O-reducing communities. *Environmental Chemistry Letters* 19(2):873-1878. DOI:10.1007/s10311-020-01117-3
- RUAN, Y., M.K. AWASTHI, L. CAI, H. LU, X. XU & W. LI. 2020. Simultaneous aerobic denitrification and antibiotics degradation by strain *Mari-nobacter hydrocarbonoclasticus* RAD-2. *Bioresource Technology* 313:123609. DOI:10.1016/j.biortech.2020.123609
- SEMEDO, M., B. SONG, T. SPARRER & R.L. PHILLIPS. 2018. Antibiotic effects on microbial communities responsible for denitrification and N₂O production in grassland soils. *Frontiers in microbiology* 9:2121. DOI:10.3389/fmicb.2018.02121
- SHIN, J., C. RHEE, J. SHIN, H.M. JANG, S.G. SHIN & Y.M. KIM. 2020. Determining the composition of bacterial community and relative abundance of specific antibiotics resistance genes via thermophilic anaerobic digestion of sewage sludge. *Bioresource Technology* 311:123510. DOI:10.1016/j.biortech.2020.123510
- SUAREZ, S., J.M. LEMA & F. OMIL. 2010. Removal of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions. *Water research* 44(10):3214-3224. DOI:10.1016/j.watres.2010.02.040
- SUN, M., M. YE, K. LIU, A.P. SCHWAB, M. LIU, J. JIAO, Y. FENG, J. WAN, D. TIAN, J. WU, H. LI, F. HU & X. JIANG. 2017. Dynamic interplay between microbial denitrification and antibiotic resistance under enhanced anoxic denitrification condition in soil. *Environmental Pollution* 222:583-591. DOI:10.1016/j.envpol.2016.10.015
- TONG, X., X. WANG, X. HE, K. XU & F. MAO. 2019. Effects of ofloxacin on nitrogen removal and microbial community structure in constructed wetland. *Science of the Total Environment* 656:503-511. DOI:10.1016/j.scitotenv.2018.11.358
- TSIAKA, P., V. TSARPALI, I. NTAIKOU, M.N. KOSTOPOULOU, G. LYBERATOS & S. DAILIANIS. 2013. Carbamazepine-mediated pro-oxidant effects on the unicellular marine algal species *Dunaliella tertiolecta* and the hemocytes of mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Ecotoxicology* 22(8):1208-1220. DOI:10.1007/s10646-013-1108-3
- VICENTE, D. & E. PÉREZ-TRALLERO. 2010. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* 28(2):122-130. DOI:10.1016/j.eimc.2009.10.002
- WANG, Y., Y. ZHAO, M. JI & H. ZHAI. 2015. Nitrification recovery behavior by bio-accelerators in copper-inhibited activated sludge system. *Bioresource technology* 192:748-755. DOI:10.1016/j.biortech.2015.06.015
- WATKINSON, A.J., E.J. MURBY, D.W. KOLPIN & S.D. COSTANZO. 2009. The occurrence of antibiotics in an urban watershed: from wastewater to drinking water. *Science of the total environment* 407(8):2711-2723. DOI:10.1016/j.scitotenv.2008.11.059
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). 2019. Drinking water. Available online at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water> (downloaded May 20, 2021).
- WU, D., G. CHEN, X. ZHANG, K. YANG & B. XIE. 2017. Change in microbial community in landfill refuse contaminated with antibiotics facilitates denitrification more than the increase in ARG over long-term. *Scientific reports* 7(1):1-9. DOI:10.1038/srep41230
- XIA, S., R. JIA, F. FENG, K. XIE, H. LI, D. JING & X. XU. 2012. Effect of solids retention time on antibiotics removal performance and microbial communities in an A/O-MBR process. *Bioresource technology* 106:36-43. DOI:10.1016/j.biortech.2011.11.112

- XIANG, Q., D. ZHU, Q.L. CHEN, P. O'CONNOR, X.R. YANG, M. QIAO & Y.G. ZHU. 2019. Adsorbed sulfamethoxazole exacerbates the effects of polystyrene (~ 2 µm) on gut microbiota and the antibiotic resistome of a soil collembolan. *Environmental science & technology* 53(21):12823-12834. DOI:10.1021/acs.est.9b04795
- YIN, G., L. HOU, M. LIU, Y. ZHENG, X. LI, X. LIN, J. GAO, X. JIANG, R. WANG & C. YU. 2017. Effects of multiple antibiotics exposure on denitrification process in the Yangtze Estuary sediments. *Chemosphere* 171:118-125. DOI:10.1016/j.chemosphere.2016.12.068
- YU, H., X. YE, L. FENG, J. YANG, Z. LAN, C. REN, W. ZHU, G. YANG & J. ZHOU. 2021. Dynamics of denitrification performance and denitrifying community under high-dose acute oxytetracycline exposure and various biorecovery strategies in polycaprolactone-supported solid-phase denitrification. *Journal of Environmental Management* 279:111763. DOI:10.1016/j.jenvman.2020.111763
- ZHANG, K., J. GU, X. WANG, X. ZHANG, T. HU & W. ZHAO. 2019. Analysis for microbial denitrification and antibiotic resistance during anaerobic digestion of cattle manure containing antibiotic. *Bioresource technology* 291:121803. DOI:10.1016/j.biortech.2019.121803
- ZHANG, L., F. SUN, D. WU, W. YAN & Y. ZHOU. 2020a. Biological conversion of sulfamethoxazole in an autotrophic denitrification system. *Water Research* 185:116156. DOI:10.1016/j.watres.2020.116156
- ZHANG, X., G. CHEN, S. ZHONG, T. WANG, M. JI, X. WU & X. ZHANG. 2020b. Antibiotic-induced role interchange between rare and predominant bacteria retained the function of a bacterial community for denitrifying quinoline degradation. *Journal of Applied Microbiology* 129(6):1598-1608. DOI:10.1111/jam.14755
- ZHANG, R., X. XU, D. JIA, Y. LYU, J. HU, Q. CHEN, W. SUN. 2022. Sediments alleviate the inhibition effects of antibiotics on denitrification: Functional gene, microbial community, and antibiotic resistance gene analysis. *Science of The Total Environment* 804:150092. DOI:10.1016/j.scitotenv.2021.150092
- ZHAO, R., J. FENG, J. HUANG, X. LI & B. LI. 2021. Responses of microbial community and antibiotic resistance genes to the selection pressures of ampicillin, cephalexin and chloramphenicol in activated sludge reactors. *Science of the Total Environment* 755:142632. DOI:10.1016/j.scitotenv.2020.142632
- ZHENG, J., S. WANG, A. ZHOU, B. ZHAO, J. DONG, X. ZHAO, P. LI & X. YUE. 2020. Efficient elimination of sulfadiazine in an anaerobic denitrifying circumstance: Biodegradation characteristics, biotoxicity removal and microbial community analysis. *Chemosphere* 252:126472. DOI:10.1016/j.chemosphere.2020.126472
- ZHI, S., J. ZHOU, F. YANG, L. TIAN & K. ZHANG. 2018. Systematic analysis of occurrence and variation tendency about 58 typical veterinary antibiotics during animal wastewater disposal processes in Tianjin, China. *Ecotoxicology and environmental safety* 165:376-385. DOI:10.1016/j.ecoenv.2018.08.101
- ZHOU, X., M. QIAO, F.H. WANG & Y.G. ZHU. 2017. Use of commercial organic fertilizer increases the abundance of antibiotic resistance genes and antibiotics in soil. *Environmental Science and Pollution Research* 24(1):701-710. DOI:10.1007/s11356-016-7854-z
- ZUCCATO, E., S. CASTIGLIONI, R. BAGNATI, M. MELIS & R. FANELLI. 2010. Source, occurrence and fate of antibiotics in the Italian aquatic environment. *Journal of hazardous materials* 179(1-3):1042-1048. DOI:10.1016/j.jhazmat.2010.03.110