

EFFECTO ECOTOXICOLÓGICO DE BENZODIACEPINA Y PARA-AMINOFENOL SOBRE LARVAS DE *Aedes aegypti*

Ecotoxicological effect of benzodiazepine and para-aminophenol over larvae of *Aedes aegypti*

Isabel Ríos - Abad; Enrique Padilla – Sagástegui

Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo.

padsag@yahoo.com*

RESUMEN

Se evaluó el efecto ecotoxicológico de la benzodiazepina y para-aminofenol sobre larvas de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio; para lo cual, se siguió la metodología de observación directa en un diseño en bloques con estímulo creciente en base a tres repeticiones, cuyas concentraciones fueron determinadas mediante el método logarítmico y la técnica de Reish y Oshida, en un tiempo de exposición al fármaco de 24 y 48 horas, teniendo como resultados que ambos fármacos presentan efecto letal sobre las larvas de *A. aegypti*, con la diferencia de que a las 48 horas, el efecto letal de la benzodiazepina supera al causado por el para-aminofenol y según los análisis de varianza, existe diferencia significativa entre los tratamientos y tiempos de exposición, comprobado mediante la comparación de promedios de la prueba de la Mínima Diferencia Significativa Honesta, que demuestra que cada concentración tiene un efecto letal, lo que permite concluir que los fármacos tienen efecto letal sobre las larvas de *A. aegypti*.

Palabras clave: Ecotoxicología, *Aedes aegypti*, benzodiazepina, para-aminofenol

ABSTRACT

Ecotoxicological effect of benzodiazepine and para-aminophenol was evaluated on *Aedes aegypti* larvae under laboratory conditions. Direct observation methodology was used in a block design with increased stimulus based on three repetitions, whose concentrations were determined by the logarithmic method and Reish & Oshida technic in a 24 and 48 hour drug exposure time. The results demonstrated that both drugs cause lethal effect on *A. aegypti* larvae, but the lethal effect of benzodiazepine after 48 hours of exposure is higher than the one caused by para-aminophenol and according to the analysis of variance, there is a significant difference between treatments and exposure times. This has been proved by comparing the averages of the Minimal Honest Significant Difference test, which shows that each concentration has a lethal effect. Therefore, it is concluded that evaluated drugs has lethal effect over *A. aegypti*.

Key words: Ecotoxicological, *Aedes aegypti*, benzodiazepine, para – aminophenol

Recibido: 24 Enero de 2015

Aceptado: 02 de Abril de 2015

INTRODUCCIÓN

Los estudios de la toxicidad constituyen un factor clave y trascendental en la evaluación del riesgo ambiental, pues nos permiten establecer la concentración umbral de un determinado compuesto, por encima de la cual se pueden producir efectos adversos en la biota y a la vez garantizar la integridad del ecosistema¹; por ello se han desarrollado muchas experiencias en campo abierto y en pruebas de bioensayos estáticos en el laboratorio, como herramientas adecuadas de diagnóstico, para determinar el efecto de agentes físicos y químicos, sobre organismos de diversas especies tomadas como pruebas experimentales controladas, demostrando inhibición y magnificación de sustancias químicas en los organismos, expresados en el crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos, estructuras sub celulares o sistemas de enzimas, hasta poblaciones y comunidades².

En este sentido se ha demostrado que los bioensayos pueden ser usados para identificar áreas de mayor o menor contaminación; así como ambientes apropiados para los cultivos de especies acuáticas, o en todo caso en programas de monitoreo ambiental, evaluando la calidad del agua y los sedimentos, así como los efluentes residuales vertidos en ríos y zonas costeras, o para determinar la relación entre efectos tóxicos y biodisponibilidad, investigando las interacciones entre contaminantes; asimismo, estimar la distribución espacial y temporal de la contaminación y clasificar áreas para limpieza³.

En estas condiciones los bioensayos han puesto a prueba agentes físicos y químicos diversos, entre los que se han encontrado los llamados contaminantes emergentes, como es el caso de los fármacos, los cuales carecen de regulación y se encuentran diseminados en el ambiente, siendo detectados en fuentes de abastecimiento de agua superficial y subterránea, por ello, en razón de que ocasionan posibles riesgos ambientales, resulta imprescindible el conocimiento de sus múltiples transformaciones físico, químicas y biológicas, complementado con la distribución, comportamiento, destino y efectos tóxicos en el medio ambiente^{4,1}.

En la diversidad de fenómenos y procesos biológicos destacan la proliferación continua de fármacos con desafíos substanciales y quizá insuperables para su regulación y control de daños, cuyas condiciones dificultan la existencia de datos disponibles acerca de su persistencia, de la toxicidad en el medio ambiente y de los riesgos sobre los seres humanos, siendo difícil predecir qué efectos pueden causar efecto sobre la salud humana y otros organismos, con particular trascendencia en los que viven en el agua. Por otro lado, aun cuando la cantidad de un determinado fármaco y sus metabolitos bioactivos liberados al medio ambiente es probablemente baja, su continua liberación puede generar una elevada concentración de ellos, provocando efectos adversos en el ecosistema a través del tiempo, porque tienen la posibilidad de acumularse lentamente y sus efectos perjudiciales no se detectan hasta el momento en que se vuelven irreversibles, debido a que establecen su persistencia en el ambiente⁴.

Entre los diversos fármacos usados para tratamientos con bioensayos estáticos en laboratorio, para los ecosistemas, se encuentran el para-aminofenol “paracetamol” ($C_8H_9NO_2$) y la benzodiazepina “diazepam” ($C_{16}H_{13}ClN_2O$); el primero, porque tiene la particularidad de que actúa inhibiendo la síntesis de prostaglandinas, como mediadores celulares (responsables de la aparición del dolor en humanos); es decir, que tiene propiedades analgésicas, no inflamatorio y no interactúa con la gran mayoría de los medicamentos; a diferencia del “diazepam”, que es una benzodiazepina que actúa como depresor del sistema nervioso central, produciendo, desde una leve sedación hasta hipnosis o estado de coma, dependiendo de la concentración o la dosis; por lo que desencadena acción anticonvulsiva y ansiolítica, dando lugar a que la ciencia médica lo utilice como sedante preoperatorio, para desintoxicación alcohólica o en mejores condiciones para relajación del músculo esquelético humano⁵.

Sin embargo, frente a las posibles consecuencias perjudiciales de la presencia de fármacos en los ecosistemas, se han realizado ensayos biológicos en especies bioindicadoras como son las larvas de

Aedes aegypti "zancudos" que presentan un rol sobresaliente en la comunidad ecológica como especie base de la cadena alimenticia, cuya facilidad de cultivo en condiciones de laboratorio, facilitan su propagación en tiempo corto y su fácil manipulación durante el uso para evaluar sustancias químicas en aguas residuales domésticas, industriales, superficiales o subterráneas por lixiviación y que han permitido establecer criterios de calidad para la protección de la vida acuática, así como para determinar los estándares de calidad ambiental para cada agente químico^{4,5}.

Frente a estos impactos se han desarrollado numerosas investigaciones, como las evaluaciones del efecto ecotoxicológico agudo de siete productos farmacéuticos ampliamente usados en el Perú: cuatro antimicrobianos (Amoxicilina, Ciprofloxacino y Trimetoprima + Sulfametoxazol), dos analgésicos (Ibuprofeno y Paracetamol) y un sedativo (Diazepam) sobre *Daphnia magna* "pulga de agua" (Crustacea: Daphniidae)^{6,7}; así como la ecotoxicidad acuática de dos colorantes y de tres antiparasitarios en acuicultura en la misma especie, comprobándose que los mayores efectos, en cuanto a colorantes, se encontraron con el azul de metileno y en cuanto a antiparasitarios, con la leche de *Ficus*

insipida "ojé". De la misma forma, en la evaluación de la toxicidad del extracto acuoso de la harina de *Lepidium meyenii* "maca" en el invertebrado *Artemia franciscana* y el vertebrado *Poecilia reticulata* "Guppy"⁸; así como la toxicidad aguda por vía intraperitoneal de *Lepidium meyenii* en *Mus musculus* "ratón", se comprobó que existe toxicidad dependiente de la dosis y el tiempo de exposición; dichas investigaciones ponen en evidencia los efectos toxicológicos de ciertas sustancias al ser expuestas al medio ambiente y/o frente a una diversidad de organismos vivos^{6,8}.

Dada la importancia de la presencia de los fármacos y su efecto en el género humano, es posible que su acción se extienda a otros seres vivos (plantas y animales); a su vez, *Aedes aegypti*, es una especie que sirve como vector causante de la enfermedad del "dengue"; por lo que surge la necesidad de hacer experiencias de laboratorio, a fin de conocer la magnitud de los fármacos y la susceptibilidad de la especie; por tal motivo, la investigación plantea como objetivo evaluar el efecto ecotoxicológico de la benzodiacepina y el para-aminofenol sobre larvas de *Aedes aegypti*, tomando como referencia el porcentaje de mortandad de los individuos a diferentes concentraciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las larvas de *A. aegypti* de tercero y cuarto estadio fueron obtenidas de los depósitos de agua estancada ubicadas en la ciudad universitaria de la Universidad Nacional de Trujillo, las mismas que fueron acondicionadas en depósitos de polietileno, identificados con un código para su diferenciación y trasladadas al laboratorio de Ecología y Medio Ambiente de la Facultad de Ciencias Biológicas para su adaptación.

La adaptación de las larvas de *A. aegypti* se realizó en el laboratorio hasta la aparición de los individuos adultos, a partir de los cuales se obtuvo la primera generación en estado larval en contenedores de agua, las mismas que fueron separadas por estadios en bandejas de polietileno transparente, teniendo especial cuidado con las larvas de último estadio debido a su proximidad

con el estado de pupa, las que fueron separadas en una bandeja con agua e introducidas en una jaula entomológica previamente preparada para tal finalidad, para la emergencia de los adultos, que fueron alimentados con agua azucarada y sangre humana, necesaria para la postura de las hembras, las mismas que expulsaron sus huevos en las paredes del recipiente y en la superficie del agua, siendo necesario implementar lámparas de luz de 25 watts a fin de acelerar el proceso de eclosión manteniendo una temperatura promedio de 25°C, con lo que se logró la eclosión de los huevos y la obtención de las larvas de segunda generación, hasta obtener nuevos adultos y así lograr las larvas de tercera generación, con las cuales se llevó a cabo la experiencia⁹.

Con fines de la prueba experimental, se realizaron pruebas piloto, con concentraciones previas a la determinación de los valores finales; para lo cual, se prepararon soluciones “patrón” de diazepam y paracetamol, de 10 y 500 mg respectivamente, a partir de concentraciones de 100 mg/L y 5000 mg/L respectivamente. En el caso del para-aminofenol “paracetamol” se tomaron como referencia la concentración de cinco pastillas de 500 mg cada una, en 0,5 litros de agua destilada y para la benzodiacepina “diazepam” se utilizaron ampollas de 10 mg, debido a la escasa solubilidad de las grageas en agua, cuya solución “patrón” fue disuelta en 100 mg/L en referencia a cinco ampollas, en 0,5 litros de agua destilada.

Para la determinación de los cálculos de las concentraciones iniciales se dispusieron de 10 larvas por recipiente para tomar concentraciones de manera aleatoria para cada fármaco, con la esperanza de aplicar el método logarítmico con la técnica de Reish y Oshida¹⁰, disponiendo de 10 larvas en cada grupo durante 24 horas, de tal manera que en el grupo que causaba muerte al 10 % de unidades fue considerada concentración mínima y en el que causaba muerte al 50 % o más, concentración máxima, estos valores nos sirvieron para determinar las concentraciones intermedias (CI), con la fórmula: $CI = \frac{[\ln \text{máx} - \ln \text{mín}]}{4}$, y por sucesivos agregados a la mínima concentración, se determinaron; para el para-aminofenol: 0, 500, 658, 866, 1140 y 1500 mg/L; y para la benzodiacepina: 0, 6.25, 8.8, 12.5, 17.7 y 14 mg/L., concentraciones con las que se instaló el diseño experimental con tres repeticiones orientadas para un tiempo de exposición de 24 y 48 horas en los seis tratamientos.

Para un análisis completo y ordenado se organizaron los datos tomados en tablas y

procesados en el programa Excel, el análisis de varianza, con la finalidad de conocer la diferencia entre tratamientos y entre fármacos, siguiendo el modelo: $Y_{ijk} = \mu_{ijk} + A_{ijk} + B_{ijk} + C_{ijk} + E_{ijk}$, donde Y_{ijk} , representa la variación experimental en los tratamientos (i), tiempos (j) y repeticiones (k); μ_{ijk} , promedios poblacionales de cada fuente de variación; A_{ijk} , a los tratamientos, variando de 1 a 6; B_{ijk} , a los tiempos de exposición, variando de 1 a 2; C_{ijk} , a las repeticiones, variando de 1 a 3 E_{ijk} , variando en cada fuente de variación.

Asimismo se evaluó de manera conjunta la relación existente entre la acción del para-aminofenol y la benzodiacepina a través de un contraste de medias, tras una exposición de 24 y 48 horas, esta se evaluó valiéndonos de la siguiente fórmula:

$$t_c = \frac{|\bar{X} - \bar{Y}|}{\sqrt{\frac{(n-1)S_1^2 + (m-1)S_2^2}{n+m-2}}} \times \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{m}}$$

Donde: \bar{X} y \bar{Y} = medias de la muestra 1 y 2; S_1^2 y S_2^2 = varianzas de las muestras 1 y 2; n_1 y n_2 = tamaño de las muestras 1 y 2.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de varianza, en los casos que demostró diferencia significativa, se procesó la comparación de medias por el Método de la Mínima Diferencia Significativa Honesta (D) usando la siguiente fórmula:

$$D = \sqrt{\left[\frac{2 \text{ CMe}}{N} \right] [Gl_t]}$$

Donde: D = Mínima Diferencia Significativa Honesta, CMe = Cuadrado medio, N = Número de muestra y Gl_t = Grados de libertad.

RESULTADOS

La evaluación del efecto ecotoxicológico de los fármacos, el para-aminofenol y la benzodiacepina, expuestos a diferentes concentraciones sobre las larvas de *A. aegypti* se presenta en tablas y figuras, los cuales reflejan los

resultados obtenidos de la experimentación tras distintos tiempos de observación; de tal modo que en la Tabla 1, se observa el número de individuos muertos en cada uno de los tratamientos de los fármacos a través del tiempo en sus respectivas

concentraciones; en el caso del tratamiento propuesto para para-aminofenol (paracetamol) se observa un aumento en el número de larvas muertas consecuentemente relacionado con el tiempo de exposición al fármaco, este aumento llega a incrementarse hasta en más de dos veces su número en el caso de los cuatro primeros tratamientos (T1 – T4); de la misma forma, en el tratamiento propuesto para benzodiazepina se obtuvo un resultado similar, sin embargo el aumento en el número de larvas muertas tras 48 horas fue aún mayor.

En la Tabla 2, se muestra el análisis de varianza realizado para ambos fármacos según diferentes fuentes de variación respecto al número de larvas muertas, en donde el cuadrado medio del error experimental es menor que el cuadrado medio de otras fuentes de variación, situación que se repite tanto para diazepam como para paracetamol, dando evidencia de que las unidades experimentales han sido dispuestas y evaluadas adecuadamente, además se observa que el valor de Fisher calculado (F_c) es mayor que el valor de Fisher tabulado (F_t) lo que nos lleva a determinar que tanto para los valores de paracetamol como para los de diazepam existe diferencia

significativa (*) entre tratamientos y entre tiempos.

En la Tabla 3, se observa la comparación de promedios entre tiempos y concentraciones debido a la diferencia significativa hallada en el análisis de varianza, en el caso del paracetamol se halla un valor $D = 0.229$ y en el caso de diazepam $D = 0.361$; en la tabla se indica que los tratamientos T2, T3 y T4, para paracetamol, son similares, así mismo, los tratamientos T2, T3, T4 y T5, para diazepam.

En la Tabla 4, se observa la evaluación de contraste de medias entre los datos obtenidos para paracetamol y para diazepam, se contrastan la media, varianza, tamaño de la muestra y valores de T, determinándose que no existe diferencia significativa de estos últimos valores entre las diferentes horas de exposición al fármaco. Asimismo, en las figuras se reporta la representación gráfica entre el número promedio de larvas muertas contra el tiempo de exposición; así tenemos que la Fig. 1, refiere la muerte de larvas producida a las 24 horas y la Fig. 2, a las 48 horas, ambas tras una exposición al para-aminofenol; del mismo modo, Fig. 3 y 4, refieren a la exposición a la benzodiazepina.

Tabla 1. Número de larvas muertas de *Aedes aegypti*, a las 24 y 48 horas de exposición a seis diferentes concentraciones de paracetamol y diazepam.

Tiempo (horas)	Repeticiones	Paracetamol (mg/L)						Diazepam (mg/L)						T1 – Tratamiento
		T1 (0)	T2 (500)	T3 (658)	T4 (866)	T5 (1140)	T6 (1500)	T1 (0)	T2 (6,25)	T3 (8,8)	T4 (12,5)	T5 (17,7)	T6 (25)	
24	R1	0	2	2	2	5	7	0	2	2	3	3	3	
	R2	0	1	2	2	4	6	0	2	2	2	2	4	
	R3	0	1	2	3	4	7	0	1	3	3	3	4	
48	R1	0	4	4	6	7	9	0	6	7	7	8	8	
	R2	0	4	5	5	7	8	0	6	7	7	7	8	
	R3	0	4	5	6	6	8	0	8	8	9	8	8	

T6 =

Tabla 2. Análisis de varianza del grupo de datos respecto a número de larvas muertas de *Aedes aegypti* tras la acción de paracetamol y diazepam.

Fármacos	FV	SC	GL	CM	FC	FT
Paracetamol	Tratamientos (A)	195,3	5	39,06	70,67	2,57*
	Tiempos (B)	40,11	1	40,11	72,57	4,21*
	Repeticiones (C)	0,667	2	0,334	0,60	3,35
	Error	14,923	27	0,553		
	Total	251	35			
Diazepam	Tratamientos	135,5	5	27,1	19,66	2,57*
	Tiempos	148,03	1	148,03	107,38	4,21*
	Repeticiones	2,889	2	1,445	1,05	3,35
	Error	37,22	27	1,379		
	Total	323,64	35			

*Significancia, FV = Fuentes de variación, SC = Suma de Cuadrados, GL = Grados de Libertad, CM = Cuadrados Medios, FC = F Calculado, FT = F Tabulado

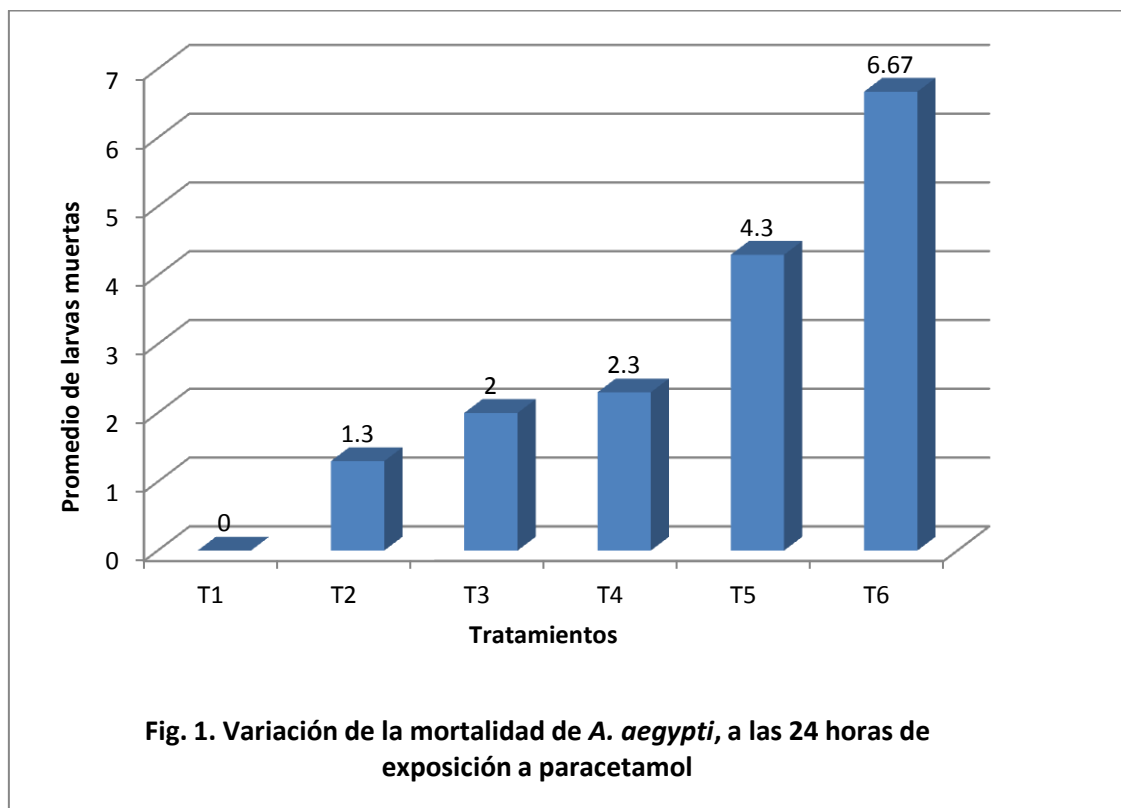
Tabla 3. Comparación de los promedios entre tiempos y concentraciones de paracetamol (D = 0,229) y diazepam (D = 0,361) en larvas de *A. aegypti* usando el Método Mínima Diferencia Significativa Honesta.

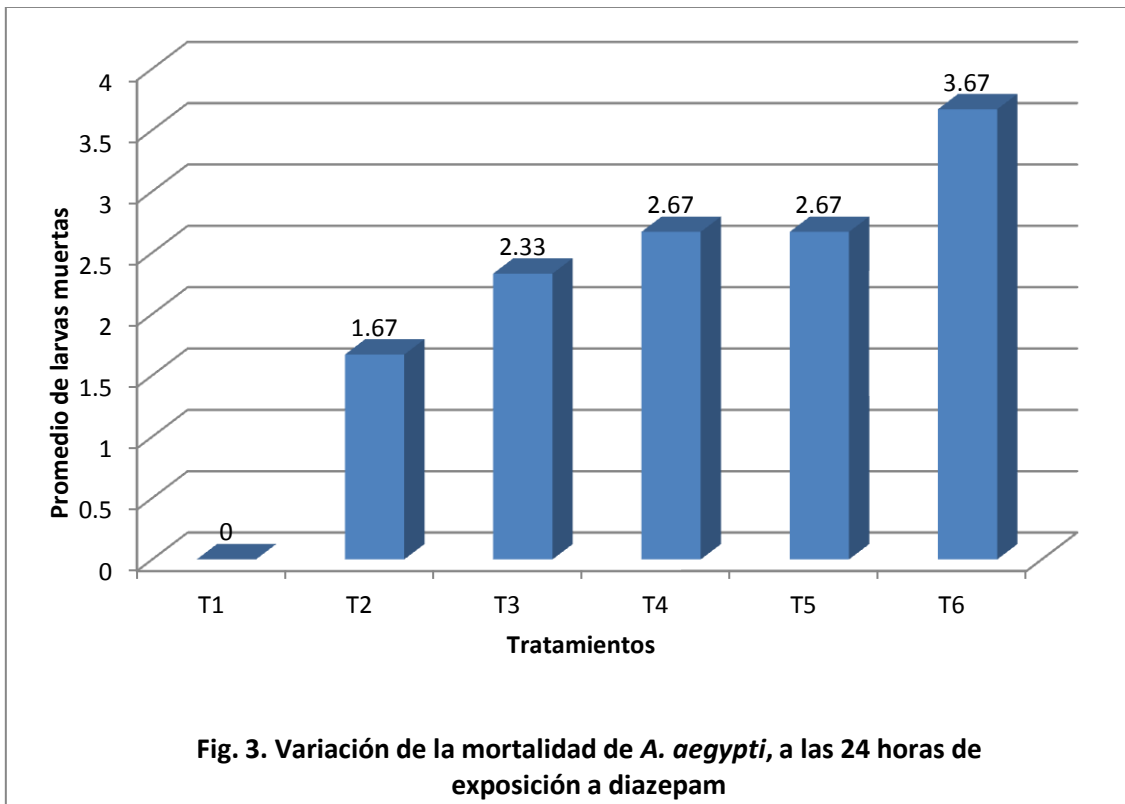
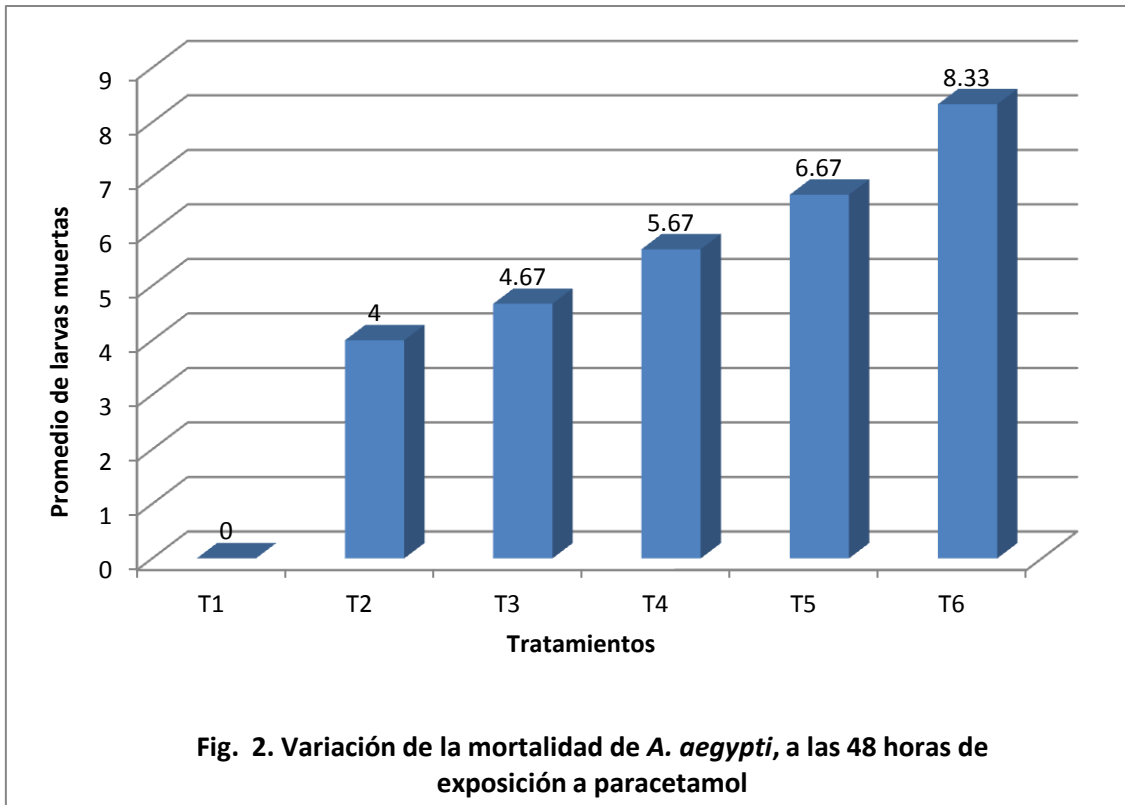
Fuentes de variación		Promedios	Significancia	
Paracetamol	Tratamientos (mg/L)	T1 (0)	0,000 a	
		T2 (500)	0,889 b	
		T3 (658)	1,111 b	
		T4 (866)	1,333 b	
		T5 (1140)	1,833 c	
		T6 (1500)	2,500 d	
	Tiempos (horas)	24	2,778 a	
		48	4,889 b	
	Diazepam	Tratamientos (mg/L)	T1 (0,0)	0,000 a
			T2 (6,25)	1,389 b
			T3 (8,8)	1,611 b
			T4 (12,5)	1,722 b
T5 (17,7)			1,722 b	
T6 (25,0)			1,944 c	
Tiempos (horas)		24	2,170 a	
		48	6,220 b	

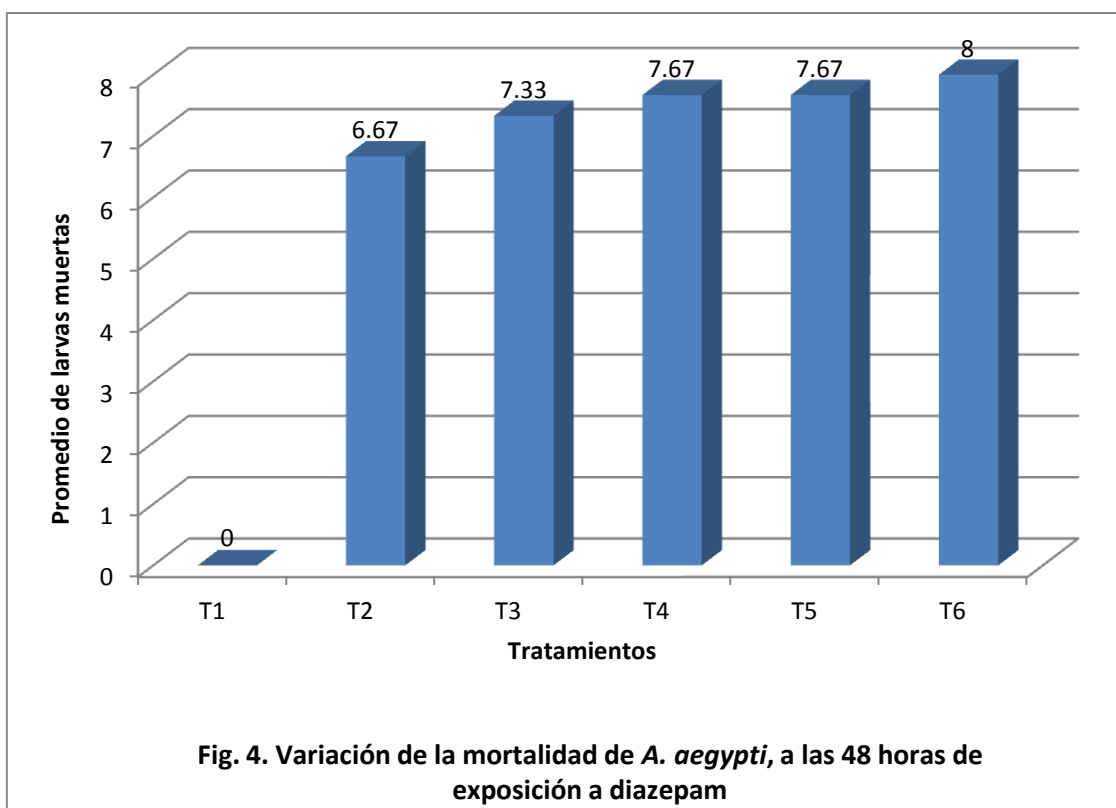
Tabla 4. Evaluación del contraste de medias del grupo de datos entre paracetamol y diazepam

CONTRASTE DE MEDIAS ENTRE FÁRMACOS				
	24 horas		48 horas	
	Paracetamol	Diazepam	Paracetamol	Diazepam
\bar{X}	2,778	2,167	4,889	6,222
S_n^2	5,124	1,559	7,281	8,771
n	18,00	18,00	18,00	18,00
Tc	1,0027		1,4116	
Tt	1,6909**		1,6909**	

\bar{X} = media de la muestra, S_n^2 = varianza de la muestra, n = tamaño de la muestra, Tc = T calculado, Tt = T tabulado, **No existe significancia







DISCUSIÓN

La muerte de las unidades experimentales (larvas) producida por los dos fármacos se da bajo las mismas condiciones medio ambientales de laboratorio, cuyos resultados refieren que el número de muertos en ambos fármacos es similar a las 24 horas; pero aumenta a las 48 horas en cada una de las repeticiones, con la diferencia de que las concentraciones de paracetamol fueron mayores que las de diazepam, lo que significa que este fármaco produce menor efecto, debido a que tiene acción relajante a nivel nervioso y muscular^{11,12}, cuya afirmación se comprueba con los valores referentes al para-aminofenol, donde el número de individuos muertos resulta en relación directa y proporcional al incremento de las concentraciones establecidas, registrando su número más elevado, en la máxima concentración de 1500 mg/L., a diferencia de la benzodiacepina (diazepam), cuyos resultados son similares a las primeras 24 horas, pero alcanza el mayor número de larvas muertas con 25 mg/L; es decir, en este tiempo mueren todas las larvas expuestas en el proceso experimental, a diferencia de las que fueron dispuestas bajo la acción del para-aminofenol, a pesar de que las concentraciones

fueron menores, lo que nos permite deducir, que los fármacos tienen eficacia diferente, cuya función está relacionada con el mecanismo de acción, pues el para-aminofenol, actúa a nivel del sistema nervioso, similar a la acción en humanos, sin embargo, se reconoce que una de sus principales acciones es la inhibición de la enzima ciclo oxigenasa; por lo tanto, es de suponer que la acción en los insectos se produce a nivel del sistema nervioso central e inerva a los apéndices y los órganos sensoriales, que a través del tiempo causa la muerte, con reacciones similares a la benzodiacepina que tiene propiedades nerviosas, ansiolíticas y relajantes musculares, lo que nos permite deducir que para causar la muerte necesita menores concentraciones¹³.

En estas condiciones, la benzodiacepina presenta mayor efecto tóxico que el para-aminofenol; sin embargo, uno de los reportes de Iannacone y Alvaríño⁵, en campo de la ecotoxicología, demuestra el efecto de siete fármacos sobre el cladóceros *Daphnia magna* "pulga de agua", y sostiene que ambos fármacos tienen efectos similares y a la vez afirman que la benzodiacepina es la sustancia química que presenta mayor

ecotoxicidad potencial y la mayor concentración letal media a las 96 horas alcanza 17,1 mg·L⁻¹. Del mismo modo, al aplicar el para-aminofenol sobre *D. magna*, refieren que la concentración letal media (CL50) a 96 horas es de 62,3 mg·L⁻¹ demostrando que es el único fármaco, que presenta un riesgo de alta eficacia (mayor a 1), esta afirmación fue confirmada con los reportes de Touliabah¹⁴, quien concluye que, el para-aminofenol tiene un efecto drástico sobre los organismos planctónicos especialmente luego de exposiciones de larga duración, llegando a observarse efectos tóxicos a concentraciones de 2 mg·L⁻¹ en el zooplancton y en los protozoos.

Los análisis de varianza para determinar si los tratamientos muestran diferencias significativas o sus medias poblacionales no difieren; por lo tanto, permite superar las limitaciones de hacer contrastes por parejas; ya que se está aplicando un modelo de efectos aleatorios para describir situaciones en que ocurren diferencias incomparables en el material o grupo experimental. En este caso, el proceso simple usado es apropiado para estimar la media desconocida de un grupo de tratamientos diferentes; por lo que los resultados observados (Tabla 2), procesados de manera independiente para cada una de los químicos empleados, tomando como fuentes de variación los tratamientos, el tiempo transcurrido y el número de repeticiones experimentales durante la exposición enfrentados al error experimental, demuestran diferencia significativa entre tratamientos (A) y tiempo de exposición (B) (*) en cada fármaco. Pues explica estadísticamente que el error experimental es menor que otras fuentes de variación, que nos permite deducir que la información o datos originales tienen confiabilidad, es decir que cada uno de los tratamientos o concentraciones causan efecto independiente; asimismo, los tiempos de 24 y 48 horas, demuestran diferencia significativa, o dicho de otro modo, a medida que transcurren las horas produce efecto acumulativo y su efecto en la fisiología de los individuos, y al contrastar la prueba de hipótesis entre Fc y Ft, queda confirmado la diferencia significativa, cuya apreciación es concordante con Steel y Torrie¹⁴, quienes explican que la diferencia de los

conceptos estadísticos relacionados con la fisiología de los seres vivos es una respuesta a los fármacos que tengan capacidad de toxicidad. Como consecuencia de la demostración de la diferencia significativa, se ha procesado la comparación de promedios entre tratamientos, usando el Método Mínima Diferencia Significativa Honesta (Tabla 3), que explica que el comportamiento de cada fármaco es similar, a pesar de la diferencia en las concentraciones aplicadas, debido a que el paracetamol es extremadamente tóxico para los mamíferos pero desconocido para insectos, que para la experiencia, las concentraciones fueron mayores que el diazepam por ser un analgésico, pues se refiere que todos los tratamientos que recibieron estímulo con paracetamol o diazepam son diferentes al testigo; sin embargo, para el paracetamol, los tratamientos 2, 3 y 4 son similares entre sí, es decir, que causan efecto idéntico, aunque su valor numérico sea diferente, como se explica en las Fig. 1, 2, 3 y 4; pero a la vez, son diferentes con los tratamientos 5 y 6. Del mismo modo al comparar los tiempos de 24 y 48 horas, queda demostrado que existe diferencia significativa; lo que nos conduce a interpretar que a mayor tiempo, la respuesta de los individuos a la sustancia química disminuye, llegando a la mortalidad, concordante con la apreciación de Touliabah¹⁵ en sus estudios de estrés oxidativo de la comunidad planctónica y algunas especies aisladas durante la prueba de toxicidad del paracetamol.

Sin embargo, al hacer la explicación detallada de los resultados, En la Fig. 1, se observa la representación gráfica del número de muertos causados por efecto del paracetamol, con la que se comprueba que en el tratamiento sin estímulo de la sustancia química (T1), no se encontraron ningún muerto, a diferencia de los tratamientos: T2, T3 y T4, que evidencian un número de muertos de manera ascendente; aunque estadísticamente, que demostrado que tienen efecto sin diferencia significativa, y los tratamientos 5 (T5) y 6 (T6), tienen alta mortalidad y a la vez son diferentes entre sí, lo que queda confirmada a las 48 horas (Fig. 2), don el número de muertos son semejantes, que se explica por la altura de la barra. Del mismo modo

la Fig. 3, que representa la relación entre los tratamientos con diazepam y el número de larvas muertas de *A. aegypti*, existe una evidencia clara sobre el efecto de fármaco, confirmada por el número de muertos en el tratamiento 1 (T1), que

no presentaron larvas muertas, a diferencia de los tratamientos 2, 3, 4 y 5, cuyo número de muertos se observa en forma ascendente a las 24 horas y a las 48 horas es similar en todos los tratamientos.

CONCLUSIONES

- Los fármacos para-aminofenol y benzodiacepina tienen un efecto letal sobre las larvas de *Aedes aegypti*.
- Benzodiacepina tiene mayor eficacia que paracetamol.
- A mayor concentración, aumenta la mortalidad de larvas de *Aedes aegypti*.
- La benzodiacepina causa mortalidad de *Aedes aegypti*, a menor concentración en comparación al para-aminofenol.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sibila M. Evaluación de la biodegradabilidad y ecotoxicidad de tensioactivos en el medio acuático marino (Tesis). Universidad de Cádiz; 2008.
2. Ronco A., Díaz M., Pica Y. Conceptos generales. En: Castillo G. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. 1ª edición. México: Centro Internacional de Investigaciones para el desarrollo; 2004. 17 – 22.
3. Carballo O., Arencibia G., Concepción J., Isla M. Los Bioensayos de Toxicidad en Sedimentos Marinos. Revista de Toxicología en Línea. 2003; 33 – 69.
4. Becerril J. Contaminantes emergentes en el agua. Revista Digital Universitaria. 2009; 10 (8): 2 – 7.
5. Iannacone J., Alvariano L. Evaluación del riesgo acuático de siete productos farmacéuticos sobre *Daphnia magna*. Ecol apl. 2009; 8(1-2): 71 – 80.
6. Iannacone J., Alvariano L. Efecto ecotoxicológico del metomilo en *Corydoras Lacépède*, 1803 (Siluriformes: Callichthyidae) y su caracterización leucocitaria. Ecol apl. 2008; 7(1,2): 55 – 61.
7. Iannacone J., Alvariano L. Ecotoxicidad acuática de dos colorantes y de tres antiparasitarios de importancia en acuicultura en *Daphnia magna*. Ecol apl. 2007; 6 (1,2): 101 – 110.
8. Gutiérrez H., Gutiérrez R., Herles E., Hernández M., Horna P., Hoyos P., Huby C., Jiménez M., Jiménez L., Kollmann A., Castañeda B., Ibáñez L., Scotto C. Análisis comparativo de la toxicidad del extracto acuoso en cocimiento de la harina de maca (*Lepidium meyenii*, Walp) en tres especies de animales modelos: *Artemia franciscana* (Crustácea, Anostraca), pez Guppy (*Poecilia Reticulata*) y ratón (*Mus musculus*). Revista Horizonte Médico. 2007; 7(2): 103 – 108.
9. Pérez R., Rodríguez C., Lara J., Montes R., Ramírez G. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). Acta Zoológica Mexicana. 2004; 20(1): 141 – 152.
10. Reish y Oshida, Descripción de un protocolo estandarizado de toxicidad aguda para cladóceros. 1987.

- Disponible en:
http://www.monografias.com/trabajos11/clado/clado.shtml#ixzz3KK2th2KS_
11. Riou, B., Barrit, P. y Rimailho, A. 1988. Treatment of severe Chloroquine poisoning. p 1 -6. Disponible en <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/d018.html>
 12. Lefebvre, R. A., Flouvat, B. y Karolac-Tamisier, S. 1992. Influence of lansoprazole treatment on diazepam plasma concentrations. Volumen 52: 58 – 63. Disponible en <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/d018.html>.
 13. Keen PM. Clinical pharmacology and therapeutics of the nervous system. En: Wheeler SJ, ed. Manual of small animal neurology. 2^a ed. Gloucestershire: British Small Animal Veterinary Association. 1995: 95-111
 14. Steel, R. G. D. y Torrie, J. H. 1985. Bioestadística: Principios y procedimientos. McGraw-Hill. Interamericana. México.
 15. Touliabah H., El-Bassat R., El-Shimy A., Harisa G. Oxidative stress of plankton community and some isolated species during paracetamol toxicity test. J Biol Sci. 2008; 8(1): 13 – 23.
 16. Arpaillange C, Fanuel-Barret D. Conduite à tenir face à des crises convulsives chez le chien. Point Vét 1994, 25 (157): 853-864.