

Toxicidad del Fipronil. Revisión sistemática de la literatura

Eleázar Vargas-Mena¹

Resumen

Introducción: El Fipronil es un pesticida de amplio espectro que pertenece a la familia de los fenilpirazoles. Posee efectos gabaérgicos y glutamatérgicos. Se ha aplicado de manera extensiva, principalmente en cultivos de chontaduro *Bactris gasipaes*, como control al picudo *Rhynchophorus palmarum*. **Objetivo:** La presente revisión tiene como objetivo analizar la información bibliográfica centrada en las investigaciones realizadas acerca de la toxicidad del Fipronil, con especial énfasis en las herramientas de análisis toxicológico, los puntos finales y las rutas de toxicidad en humanos y animales. **Materiales y métodos:** La búsqueda de publicaciones con las palabras clave "Fipronil" y "toxicity", se realizó en las bases de datos *Thomson Reuters Web of Science* (ISI Web of Knowledge) y *Scopus* en el periodo comprendido entre los años 1993 y 2022. Las 1492 referencias se descargaron para su análisis utilizando la teoría de grafos para determinar los artículos y autores relevantes, las palabras clave, la evolución de la temática y las distintas relaciones entre ellos. Se realizó, utilizando un *script* de *RStudio* desarrollado en el *Core of science*. **Resultados y discusión:** Esta revisión permitió identificar tendencias en investigación acerca de los efectos toxicológicos relacionados con la exposición a Fipronil en la reducción de

los niveles hormonales asociados al desarrollo sexual, alteraciones en el sistema nervioso, malformaciones congénitas y alteraciones al del comportamiento, combinando estudios patológicos con aproximaciones metabolómicas, las metodologías analíticas para la identificación y propuestas de desarrollo de metodologías *in silico* para el análisis toxicológico.

Palabras clave: Fipronil, neonicotinoides, agricultura, pesticidas/toxicidad, chontaduro, pesticidas/análisis.

Fipronil toxicity. Systematic review of literature

Abstract

Introduction: Fipronil is a broad-spectrum pesticide belonging to the phenyl pyrazole family. It has GABAergic and glutaminergic effects and has been extensively applied mainly on peach palm *Bactris gasipaes* crops, as a control of the *Rhynchophorus palmarum* weevil. **Objective:** The present review aims to conduct a literature review focused on published papers regarding the toxicity of fipronil, with special emphasis on toxicological analysis tools, endpoints, adverse outcome pathways, and mechanisms of toxicity in humans and

¹ Magister en química. Laboratorio de toxicología forense. Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. Colombia, Pereira. Risaralda. eleazar.vargas@medicinalegal.gov.co

 ORCID: 0000-0002-9164-4076. **Google Scholar**

animals. Materials and methods: The search for publications with the keywords “fipronil” and “toxicity” was carried out in the *Thomson Reuters Web of Science* (ISI Web of Knowledge) and *Scopus* databases between 1993 and 2022. The 1492 references were downloaded for analysis using graph theory to determine among others the relevant articles, authors, keywords, the evolution of the topics, and the different relationships between them, using an *R* studio script developed by the core of science. Results and discussion: This review identified trends in research on toxicological

effects associated with fipronil exposure, in the reduction of hormone levels associated with sexual development, alterations in the nervous system, teratogenesis and behavioral alterations, combining pathological studies with metabolomic approaches, analytical methodologies for identification and proposals for the development of *in silico* methodologies for toxicological analysis.

Key words: Fipronil, neonicotinoids, agriculture, pesticides/toxicity, peach palm, pesticides/analysis.

Introducción.

De acuerdo con la Organización de Alimentos y Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés), un pesticida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias empleadas para prevenir, destruir o controlar una peste, incluyendo vectores de enfermedades en plantas, animales y humanos, es toda especie no deseada de plantas y animales causantes de daño o interferencias durante la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y sus derivados. Incluye sustancias empleadas como reguladores del crecimiento de plantas, defoliantes, desecantes, o productos para el adelgazamiento de frutas o la prevención de caídas prematuras, o sustancias aplicadas a los cultivos, antes o después de la cosecha, o para protección de los productos durante el almacenamiento y transporte (FAO, 1989; Varela-Martínez et al., 2019).

Los pesticidas son entonces agentes dirigidos hacia un organismo viviente con el objeto de controlarlo o erradicarlo. Se clasifican de acuerdo con su función o al organismo sobre el cual presentan toxicidad selectiva, como insecticidas, herbicidas, fungicidas, rodenticidas, nematocidas, entre otros. Su uso

está básicamente asociado a actividades de origen antropogénico o económico; por ejemplo, los herbicidas son aplicados para aumentar el rendimiento y la calidad de la producción agrícola, al eliminar hierbas competitivas que ocupan áreas cultivables y consumen los nutrientes del suelo. Los insecticidas se emplean para erradicar o controlar varios tipos de insectos, los cuales pueden ser vectores de enfermedades en humanos y animales, fitopatógenos o devastadores de alimentos y la producción agrícola (Stefanelli & Barbini, 2022). En Colombia su uso ha aumentado en las últimas tres décadas y se ha mantenido como un medio de control asociado fuertemente a la vocación agrícola del país. Especial atención se presta al uso de herbicidas, los cuales incluso tienen un rol dentro de la erradicación de cultivos ilícitos por parte de las autoridades de antinarcóticos (Acero & Machuca, 2021; Idrovo, 2004; Salcedo & Melo, 2005).

Básicamente, un pesticida consiste en dos componentes principales: el principio activo y los ingredientes de la formulación. Su uso, históricamente, ha estado ligado a preocupaciones de salud, temas ambientales y sociales; lo cual se ha probado en varios estudios y revisiones. En el caso de la salud humana, reportes evalúan el potencial de riesgo

neurotóxico, el rol como potenciales disruptores endocrinos, además de la correlación entre exposición a pesticidas y la aparición de patologías permanentes o transitorias, tales como teratogénesis y cáncer (Bjørling-Poulsen et al., 2008; Fulton & Key, 2001; Milam et al., 2000; Richardson et al., 2019; Stefanelli & Barbini, 2022).

Un ejemplo es el popular y bien conocido herbicida glifosato, su potencial carcinogénico ha llevado a que muchos países prohíban su uso y se generen debates en el seno de la comunidad científica. Por otro lado, muchos estudios reportan la afectación que se produce en insectos, microorganismos y otras especies acuáticas y terrestres de importancia ecológica, agronómica y económica, por exposición a plaguicidas o alguno de los metabolitos producto de degradación (Cox & Sorgan, 2006; Krogh et al., 2003; Oakes & Pollak, 2000; Pereira et al., 2009; Sinclair & Boxall, 2003).

El Fipronil es un pesticida de amplio espectro que pertenece a la familia de los fenilpirazoles,

regularmente se emplea en el control de hormigas, cucarachas, termitas, grillos, gusanos de raíz, gorgojos, entre otros insectos. Su función es perturbar el sistema nervioso central de los insectos al bloquear el canal iónico ligado al receptor GABA A y los canales de cloro abiertos por glutamato (GluCl), esto provoca la hiperexcitación nerviosa y muscular de los insectos expuestos. A pesar de estar prohibida su aplicación, especialmente en los cultivos de chontaduro, ha sido ampliamente aplicado como control al picudo *Rhynchophorus palmarum*; no obstante de su éxito como controlador de la plaga, se han encontrado algunos reportes de afectaciones a la salud de los agricultores y desaparición de abejas en el entorno cercano al ecosistema productivo. Sin embargo, no se ha determinado la magnitud del impacto toxicológico en humanos y el ecosistema asociado a su uso extensivo. Posee un peso molecular de 437.2 g/mol y, coeficiente de partición ($\log_p$) de 4, lo cual hace que se una fácilmente a moléculas ricas en tejido acuoso y graso, y se solubilizan 1.9 mg de Fipronil por cada litro de agua.

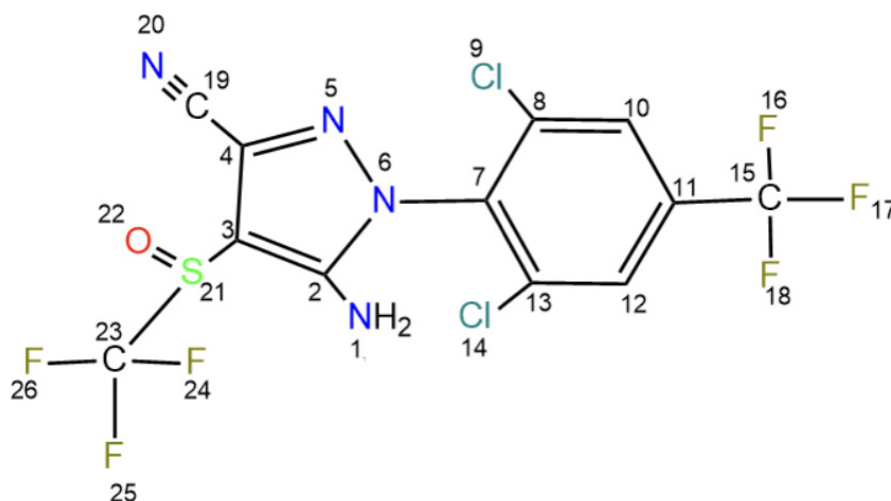


Figura 1. Estructura del Fipronil

Se puede absorber vía gástrica, cutánea, enteral, respiratoria y a través de mucosas, se distribuye principalmente a través del torrente sanguíneo y por tejidos ricos en grasa, se metaboliza principalmente a su derivado sulfonado y se excreta a través de la orina y heces fecales (Blascke et al., 2019; McMahon et al., 2017).

Se encuentra clasificado como un tóxico grupo C. Posiblemente sea carcinogénico para mamíferos, debido a hallazgos en los cuales se reporta aumento en los niveles de la hormona estimulante de la tiroides y tumores en las glándulas tiroideas. Exposiciones crónicas al Fipronil se encontraron asociadas a la disminución en el tamaño de la glándula pituitaria en hembras, aparición de teratogénesis manifestada en signos de retardo en el desarrollo sexual, baja talla, y masa corporal de las crías de hembras expuestas a dosis de Fipronil durante la gestación (De Oliveira et al., 2012; Herin et al., 2011).

La presente revisión permitió identificar tendencias en investigación acerca de los efectos toxicológicos asociados a la exposición al Fipronil, los estudios publicados han estado enfocados en analizar la reducción de los niveles hormonales asociados al desarrollo sexual, alteraciones en el sistema nervioso, alteraciones en el comportamiento, y teratogénesis, combinando estudios patológicos con aproximaciones metabólicas dirigidas y no dirigidas. Las técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas son las principales metodologías analíticas empleadas para la anotación, identificación, confirmación y cuantificación del Fipronil y sus metabolitos en matrices biológicas, alimenticias y ambientales. Finalmente, gran atención se ha prestado a los estudios toxicológicos *in vitro* e *in silico*, empleando relaciones estructura-actividad, analitos-organismos y órganos modelo para la estimación toxicológica como metodologías de reemplazo al uso de pruebas toxicológicas en animales.

Materiales y métodos

El análisis bibliométrico se desarrolló en dos fases. La primera, fue un mapeo científico del área toxicológica relacionada con el Fipronil para la producción científica, registrada en las bases de datos de *Scopus* y *WoS* durante los periodos de tiempo 1993-2022 y 2010--2022 respectivamente, empleando los términos de búsqueda "Fipronil" y "toxicity", analizando los métodos bibliométricos recomendados en la literatura para producción en el tiempo, fuentes más relevantes, número de citaciones, análisis de coocurrencia, nubes de palabras, análisis de cocitaciones, análisis de coautorías y análisis de acoplamiento bibliográfico. Se emplearon estas dos bases de datos, debido a que son consideradas como las principales a nivel mundial, por tanto, se tendría mayor probabilidad de encontrar las publicaciones más representativas (Duque et al., 2021; Hurtado-Marín et al., 2021).

La segunda etapa del análisis bibliométrico consistió en el depurado de los datos, los términos de búsqueda arrojaron 750 referencias en *Scopus* y 742 referencias en *WoS*, las cuales se fusionaron para eliminación de los duplicados y la posterior extracción de las referencias en una estructura de red basada en la teoría de grafos, empleando la herramienta *Bibliometrix* disponible como un paquete en el software *RStudio*, la cual es de acceso abierto, colaborativo, y al estar programada en lenguaje de R, permite de manera flexible y rápida actualizarse e integrarse a paquetes estadísticos nuevos (Aria & Cuccurullo, 2017; González de Dios et al., 2019; Jiménez Noblejas & Perianes Rodríguez, 2014; Katchanov et al., 2019; Soosaraei et al., 2018; Yi et al., 2016).

Resultados y discusión

Artículos generales y tendencias investigativas.

Las tendencias en investigación acerca de los efectos toxicológicos de la exposición a neonicotinoides y pesticidas de tipo fenilpirazol, debido a la similitud de sus efectos toxicológicos, propiedades fisicoquímicas y su presencia en el ambiente, se han asociado más frecuentemente a sus efectos como insecticidas en la reducción de la población de abejas, anfibios, peces y reptiles, y su consecuente impacto ecosistémico. El éxito del Fipronil, como insecticida, se asume principalmente a que aún no se conoce resistencia del organismo que causa la afección fitosanitaria (peste diana),

probablemente debido a su desarrollo reciente. Sus propiedades fisicoquímicas incluyen muchas ventajas sobre previas generaciones de pesticidas tales como organofosforados y organoclorados, y finalmente, a que no hay estudios que indiquen mayor toxicidad hacia el operario, comparado con los pesticidas tradicionales (Simon-Delso et al., 2015).

La figura 2 muestra la nube de palabras del análisis bibliométrico, donde se agrupan principalmente artículos asociados a deterioros en la función motora en abejas expuestas a Fipronil e Imidacloprid a concentraciones letales y subletales de estos pesticidas, encontrando efectos para dosis de Fipronil desde 8×10^{-3} μg fipronil/abeja (Bovi et al., 2018; Simon-Delso et al., 2015).



Figura 2. Nube de palabras del análisis bibliométrico sobre toxicidad de Fipronil.

Las figuras 3 y 4 muestran las redes de co-ocurrencia y el comportamiento en el tiempo o las tendencias de las investigaciones publicadas. La tendencia creciente se muestra hacia publicaciones de estudios enfocados en Fipronil o análogos estructurales como el Imidacloprid, los pirazoles y derivados, y sus efectos toxicológicos en muestras ambientales, animales y humanas. Se muestra, además, gran interés en encontrar metodologías alternativas para el control de plagas, el monitoreo del

efecto toxicológico asociado al uso extensivo de pesticidas empleando organismos modelo y aproximaciones metabolómicas dirigidas y no dirigidas, y el desarrollo de técnicas analíticas novedosas para la extracción selectiva, robusta, económica, rápida y la identificación fehaciente de los xenobióticos mediante cromatografía de gases y líquidos, acopladas a sistemas de detección basados en espectrómetros de masas de baja y alta resolución.

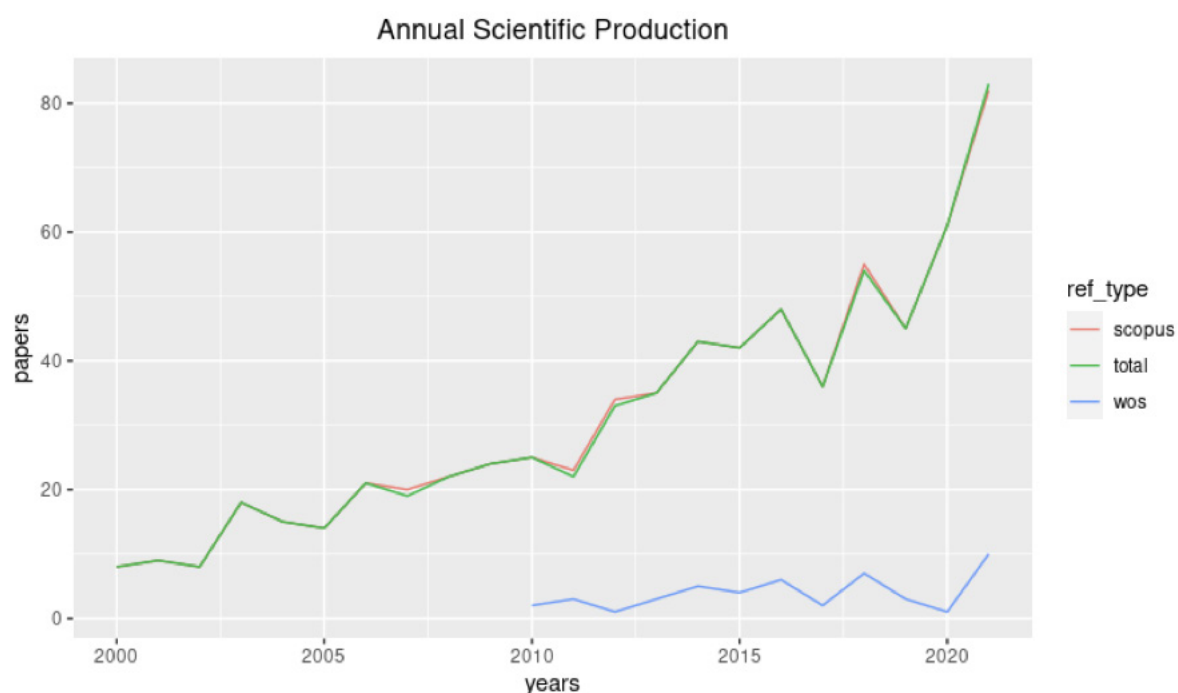


Figura 4. Gráfico comparativo de las tendencias de la producción científica sobre toxicidad de Fipronil.

Algunos estudios analizaron y compararon los perfiles de expresión génica inducidos por bloqueadores de canales de cloruro activados por GABA (Fipronil) y el agonista del receptor nicotínico de acetilcolina nAChR (Imidacloprid) (Eadie et al., 2020; Mohamed et al., 2004; X. Song et al., 2021a). Silva Pinto *et al.*, 2021 evaluaron los marcadores bioquímicos, tasas de alimentación y ciclos de vida parcial de *Hyalella meinerti*, como consecuencia de la exposición

a Fipronil y ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (Pinto et al., 2022). Estudios similares han encontrado que la exposición a Fipronil generó estrés oxidativo en células intestinales de abejas, (Paris et al., 2017) y afectaciones en los patrones de comportamiento, aprendizaje y alimentación de abejas africanizadas (Bovi et al., 2018; Carrillo et al., 2013). Evaldo Espíndola *et al.*, evaluaron los efectos letales (sobrevivencia) y subletales (reproducción

e incrementos intrínsecos de la población) de exposiciones ambientales de mezclas de Fipronil y 2,4-D empleadas como controles para *Ceriodaphnia Silvestri* en los cultivos de caña de azúcar, obteniendo como resultado alta toxicidad aguda para los tratamientos y tasas de supervivencia cercanas a los valores control luego de 75 días de aplicación, manifestado también en la reducción de las tasas de reproducción y de crecimiento de la población, mostrando las bondades de realizar estudios en condiciones realísticas o similares a las naturales (L. C. M. Silva et al., 2021). Similares estudios permitieron observar alteraciones relacionadas con hiperplasia, hipertrofia celular, congestión vascular y cambios en las actividades catalasa, glutatión-s-transferasa

y peroxidación de lípidos (Portruneli et al., 2021), alteraciones en el comportamiento y puntos finales fisiológicos en *Daphnia magna*, evidenciadas en la disminución de la velocidad de nado, las distancias recorridas, frecuencia cardíaca y aumentos de movimientos torácicos (Bownik & Szabelak, 2021).

La tabla 1 resume los aspectos y parámetros toxicológicos más importantes de la toxicología del Fipronil, con base en las consideraciones y recomendaciones en el desarrollo de plataformas para la evaluación moderna y eco-amigable de la toxicología de xenobióticos de interés *tox 21* (Embry et al., 2014; Moretto et al., 2017; Takata et al., 2020).

Tabla 1. Resumen de propiedades toxicológicas de interés para *tox 21*.

Propiedad	Valor	Impacto toxicológico
<i>Log p</i>	4	Se une y bioacumula en diversos tipos de tejidos, indica un medio indirecto para estimar la probabilidad de penetrar la barrera hematoencefálica y placentaria.
TLV (LOAEL)	0,27 mg/kg/día	Exposiciones prolongadas o superiores al TLV están asociadas con aparición de tumores, nefropatías, necrosis y desbalances hormonales (Martin, Judson, et al., 2009). Patologías en órganos reproductivos masculinos y femeninos, crías inviables, teratogénesis (Martin, Mendez, et al., 2009).
Unión a ADN	Positivo	Mutaciones como resultado de la unión al ADN a través de una reacción SN_1 (Benigni & Bossa, 2008).
Clasificación de peligrosidad por Cramer	Clase alta (Clase III)	No es un compuesto endógeno y contiene grupos funcionales asociados con el incremento en la toxicidad (Roberts et al., 2015).

Propiedad	Valor	Impacto toxicológico
Carcinogénesis	Genotóxica y no genotóxica – positivas	Formación de un derivado de hidracina, catalizadas por sistemas enzimáticos tales como citocromo P450, producen daño en el ADN a partir de alquilaciones mediadas por especies reactivas de oxígeno (Kovacic & Osuna Jr., 2005).
EC ₅₀ / LD ₅₀	0.77 mg/L	Toxicidad en abejas y organismos marinos, elimina la mitad de la población y afecta la capacidad de recuperación de las tasas (Lao, 2021; Ou et al., 2022).

La tabla 2 resume las publicaciones más ambientales y organismos modelos para relevantes en materia de toxicidad de Fipronil, estudios *in vivo* e *in vitro*. acorde a investigaciones en humanos, matrices

Tabla 2. Estudios enfocados en la toxicidad de Fipronil

Enfoque	Modelo, métodos y técnicas	Conclusiones y perspectivas
Exposición aguda a dosis subletales de Fipronil		El valor del LC ₅₀ a las 24 horas fue estimado en 220,4 µg/L, valor que ubica a Fipronil con mayor toxicidad que Diazinon y menor que Deltametrina.
	Alevinos del pez cebra (<i>Danio rerio</i>) de similar tamaño y expuestos a 6 niveles por triplicados de concentraciones de Fipronil durante 24 horas. Sobre las muestras de agallas, hígado, cerebro y músculo se realizó <i>quenching</i> y posterior extracción para análisis bioquímicos.	Se observan diferencias en la LC ₅₀ para <i>D. rerio</i> comparado con modelos como <i>Pimephales promelas</i> y <i>Americamysis bahía</i> , mostrando diferencias del efecto entre especies, lo cual podría deberse a variaciones individuales en los niveles de las familias de isoenzimas CYP 450.
		<i>D. rerio</i> es un potencial marcador de exposición ambiental, se requieren mayores estudios sobre los cambios moleculares en CYP 450 bajo estrés inducido por Fipronil (Wu et al., 2014).

Enfoque	Modelo, métodos y técnicas	Conclusiones y perspectivas
Comparación de la toxicidad de Fipronil en comparación con 9 pesticidas convencionales medida como LD ₅₀	<i>Drosophila melanogaster</i> expuestas por triplicados a 200 µL de pesticida y 10 g de dieta convencional, para concentraciones de 0,01 a 10 mg por gramos de dieta, determinando las tasas de mortalidad desde el periodo de larvas y hasta la adultez.	Se comparan las toxicidades de 10 pesticidas con acciones moleculares diferentes, lo que se demuestra en los variados niveles de toxicidad estimados para las larvas y para los adultos. Fipronil es perjudicial para las larvas de <i>D. melanogaster</i> , pero es relativamente seguro para los adultos, indicando que su uso afecta más significativamente en la etapa de forrajeo y ovoposición, dato útil para sus aplicaciones insecticidas (Arain et al., 2014).
Toxicidades acuáticas de Fipronil y 2,4-D en cultivos de caña	Se determinaron las actividades de la catalasa (CAT) y del glutatión S-transferasa (GST) en todo el cuerpo y en las branquias, y la acetilcolinesterasa (AChE) en el músculo de <i>Danio rerio</i> luego de 96 horas de exposición. Se realizó histopatología a las agallas y músculo.	Si bien las dosis suministradas durante 96 horas no mostraron letalidad, indicaron cambios bioquímicos y morfológicos en las agallas. Se produjeron interacciones sinérgicas en la actividad CAT y de las áreas fraccionales en las células ricas en mitocondriales (MRCFA por sus siglas en inglés) tras la exposición a la mezcla de los pesticidas. Los resultados indican que la dosis de aplicación recomendadas de Fipronil y 2,4-D, solas o en mezclas, para los cultivos de caña de azúcar, afecta a esta especie de pez alterando su homeostasis (Viana et al., 2022).
Afectaciones a organismos bentónicos por exposición a Fipronil y 2,4-D	Se evaluaron tres concentraciones de Fipronil (0,1, 0,3 y 0,7 µg/L) y 2,4-D (19, 124 y 654 µg/L), y seis combinaciones de mezclas. El primer experimento se realizó con machos y hembras de <i>Hyalella meinerti</i> , por separado, evaluando las tasas de alimentación, el contenido total de carbohidratos y el perfil lipídico. El segundo (ciclo de vida parcial) duró 49 días, y se evaluaron los puntos finales de supervivencia, crecimiento y reproducción.	Ambos plaguicidas y sus mezclas provocaron disminuciones en las tasas de alimentación, principalmente en hembras. Las hembras también sufrieron un cambio en el contenido total de carbohidratos, en el porcentaje de triacilglicerol y fosfolípidos en machos y hembras. Además, se produjeron alteraciones en el porcentaje de triacilglicerol y fosfolípidos en ambos sexos. En el segundo experimento, el Fipronil y las mezclas causaron disminuciones en la supervivencia de <i>H. meinerti</i> a lo largo del tiempo (Pinto et al., 2022).

Enfoque	Modelo, métodos y técnicas	Conclusiones y perspectivas
Diferenciación toxicogenómica de las respuestas funcionales al Fipronil y al Imidacloprid	Se aplicó un perfilado transcriptómico a una prueba de inmovilización aguda de <i>Daphnia magna</i> para analizar y comparar los perfiles de expresión génica inducidos por bloqueadores de canales de cloruro activados por GABA (Fipronil) y el agonista del receptor nicotínico de acetilcolina nAChR (Imidacloprid)	Para ambos insecticidas, se observó un aumento dependiente de la concentración en el número de genes expresados diferencialmente, cuyos cambios de expresión estaban correlacionados positivamente de forma muy significativa al comparar ambas concentraciones de prueba. Estas huellas de expresión génica no mostraron prácticamente ningún solapamiento entre las sustancias de ensayo y se relacionan bien con los datos anteriores del diazepam y el carbaril, dos sustancias que se dirigen a eventos moleculares claves similares. El Fipronil interfirió predominantemente en las funciones moleculares implicadas en el transporte transmembrana acoplado al Adenosín trifosfato (ATP) transmembrana y la regulación de la transcripción, el Imidacloprid afectó principalmente a la actividad oxidasa y oxidorreductasa. Estos resultados demuestran que los enfoques de biología de sistemas pueden utilizarse para identificar y diferenciar los modos de acción de los estresores químicos en <i>D. magna</i> como organismo acuático invertebrado no objetivo de los pesticidas (Pfaff et al., 2021).
Investigar la bioacumulación y eliminación enantioselectiva de Fipronil y metabolitos	La bioacumulación se evaluó para una solución de 100 µg/L de una mezcla racémica de Fipronil suministrada a 20L de agua que contiene <i>Anodonta woodiana</i> , tomando muestras durante 16 días. La eliminación se estableció midiendo cada 3,2 días hasta el día 46. Las muestras fueron extraídas con éter y analizadas por GC-MS	La degradación de todos los analitos siguió cinética de orden uno, indicando preferencia por la degradación del enantiómero <i>R</i> y una rápida conversión de <i>R</i> -fipronil a <i>S</i> -fipronil. Se pudo detectar Fipronil y sus metabolitos Fipronil sulfona y Fipronil desulfinil (Qu et al., 2016).

Enfoque	Modelo, métodos y técnicas	Conclusiones y perspectivas
Caracterizar el mecanismo de toxicidad de Fipronil y sus productos de biotransformación empleando hepatocitos de rata como organismo modelo.	Las células de hepatocitos fueron incubadas en medio albúmina de suero bovino (BSA), la viabilidad celular se evaluó a concentraciones de Fipronil de 25, 50, 75 y 100 μM , de donde se tomaron alícuotas de 1 mL para evaluar muerte celular y parámetros bioquímicos.	Fipronil redujo la respiración mitocondrial, produjo además una reducción en la concentración de ATP y ocasionó una disrupción de la homeostasis intracelular, llevando, finalmente, a la muerte celular. Los metabolitos de Fipronil son más tóxicos que el compuesto padre (Guelfi et al., 2015).
Evaluar <i>in vitro</i> la neurotoxicidad de Fipronil y Rotenona en humanos	Se analizaron Fipronil y Fipronil sulfona en concentraciones entre 1,98 y 62,5 μM , los cuales fueron adicionados a Ntera2/D1 por 6 replicados técnicos, sobre quienes se realizaron los ensayos histológicos y bioquímicos.	Fipronil y Fipronil sulfona inhiben la migración celular y la diferenciación neuronal, combinando con producción de estrés oxidativo y, mostrando siempre mayor neurotoxicidad en el desarrollo para Fipronil sulfona (Schmitz et al., 2021).
Examinar cómo la exposición a Fipronil afecta la presión sanguínea sistólica y biomarcadores relacionados	Suministro de Fipronil vía oral a ratas (30 mg/kg/día) durante 15 días, medición de la presión arterial, concentraciones de endotelina-1 y MMP-2, medición de la capacidad total antioxidante y concentraciones de óxido nítrico NOx en animales expuestos <i>vs</i> control.	Los animales expuestos mostraron menor ganancia de peso, mayores concentraciones de endotelina-1, reducción en la capacidad de antioxidantes y menores niveles de metalopeptidasa 2 y óxido nítrico comparado con los grupos de control, sugiriendo que la exposición a Fipronil causa hipertensión (Chaguri et al., 2016).
Examinar la influencia de exposición perinatal a Fipronil en el desarrollo del sistema reproductivo femenino	Ratas preñadas expuestas a (0,03; 0,3 o 3 mg/kg) de Fipronil desde el día gestacional hasta el séptimo día luego de nacimiento. Posterior evaluación de signos de inicio de pubertad, ciclo estral, niveles de estradiol y progesterona en suero, comportamiento sexual y test de fertilidad.	Fipronil mostró interferir en el desarrollo neonatal del ciclo de reproducción femenino alterando el inicio de la pubertad y el ciclo estral, sin signos aparentes de afectar la fertilidad (De Barros et al., 2016).

La figura 5 muestra un esquema general de las rutas metabólicas propuestas para Fipronil con base en estudios experimentales y teóricos. Para la molécula precursora se muestran los átomos activos para participar en las diferentes reacciones, la aromaticidad, probabilidad de entrar en resonancia y el entorno químico electronegativo pueden considerarse factores a analizar en la activación de la molécula y por tanto en su toxicidad. Fipronil sulfona es el principal metabolito activo, es producto de la oxidación en el átomo de azufre en la fase I del

metabolismo; dicha reacción regularmente es catalizada por la familia de isoenzimas CYP450, obteniendo un compuesto de mayor polaridad, acorde a sus propiedades fisicoquímicas, se puede predecir que esta se puede encontrar en matrices como suero y orina, y que atraviesa la barrera hematoencefálica y placentaria. Los metabolitos UM1 al 3, sin anotación fehaciente, corresponden a la hidroxilación y N-hidroxilación respectivamente. Es posible encontrar metabolitos minoritarios fase II, producto de la sulfatación y glucuronidación,

estaprecisamenteeslamayorrutadeeliminación de xenobióticos y endobióticos, al convertirlos en compuestos más solubles en agua, ocurre mayoritariamente en el hígado, a pesar de que la enzima principalmente responsable de la catálisis UDP-glucuronil transferasa, se ha encontrado en todos los órganos mayores. La familia UGT cataliza la glucuronidación del grupo glicosil de un nucleótido de azúcar a

un compuesto aceptor en un grupo funcional nucleofílico, principalmente oxígeno de grupos hidroxílicos y carboxílicos, y en menor medida de nitrógenos de aminas primarias y secundarias. Los xenobióticos y endobióticos glucuronidados, regularmente son de alta polaridad y fisiológicamente inactivos (Blascke et al., 2019; Chen et al., 2022a; Lautz et al., 2022; McMahan et al., 2017; X. Song et al., 2021b).

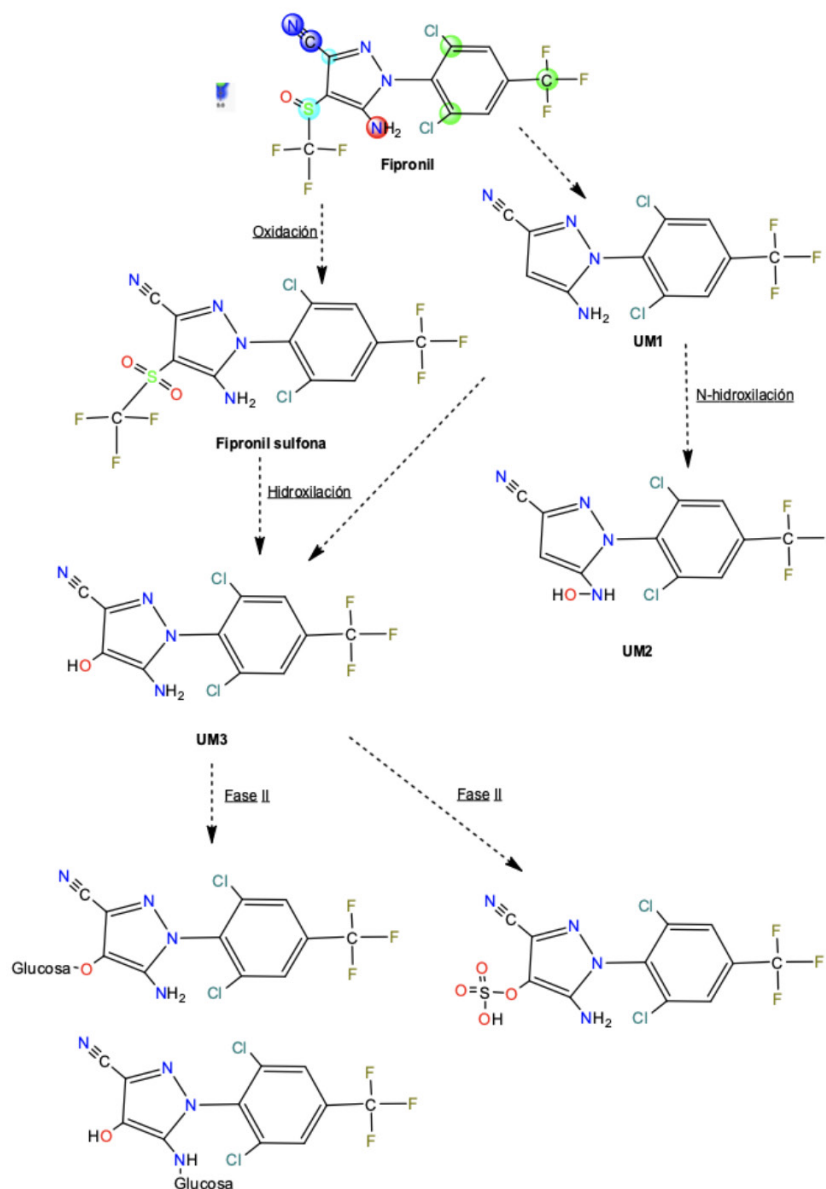


Figura 5. Esquema general del metabolismo propuesto para el Fipronil

La figura 6 resume la huella metabólica toxicológica ambiental y humana por la exposición a Fipronil como parte de las actividades agrícolas, basada en una aproximación meta-metabolómica; es decir, metabolómica para toda la comunidad. Esta tiene como objetivo extraer, analizar y detectar tanto el xenometaboloma, el cual consiste

en el principio activo, los ingredientes de la formulación y los productos de transformación; así como el endometaboloma, o aquellos metabolitos primarios y secundarios con peso molecular menor a 1000 dalton, producidos por aquellos organismos expuestos al xenobiótico (Patil et al., 2016).

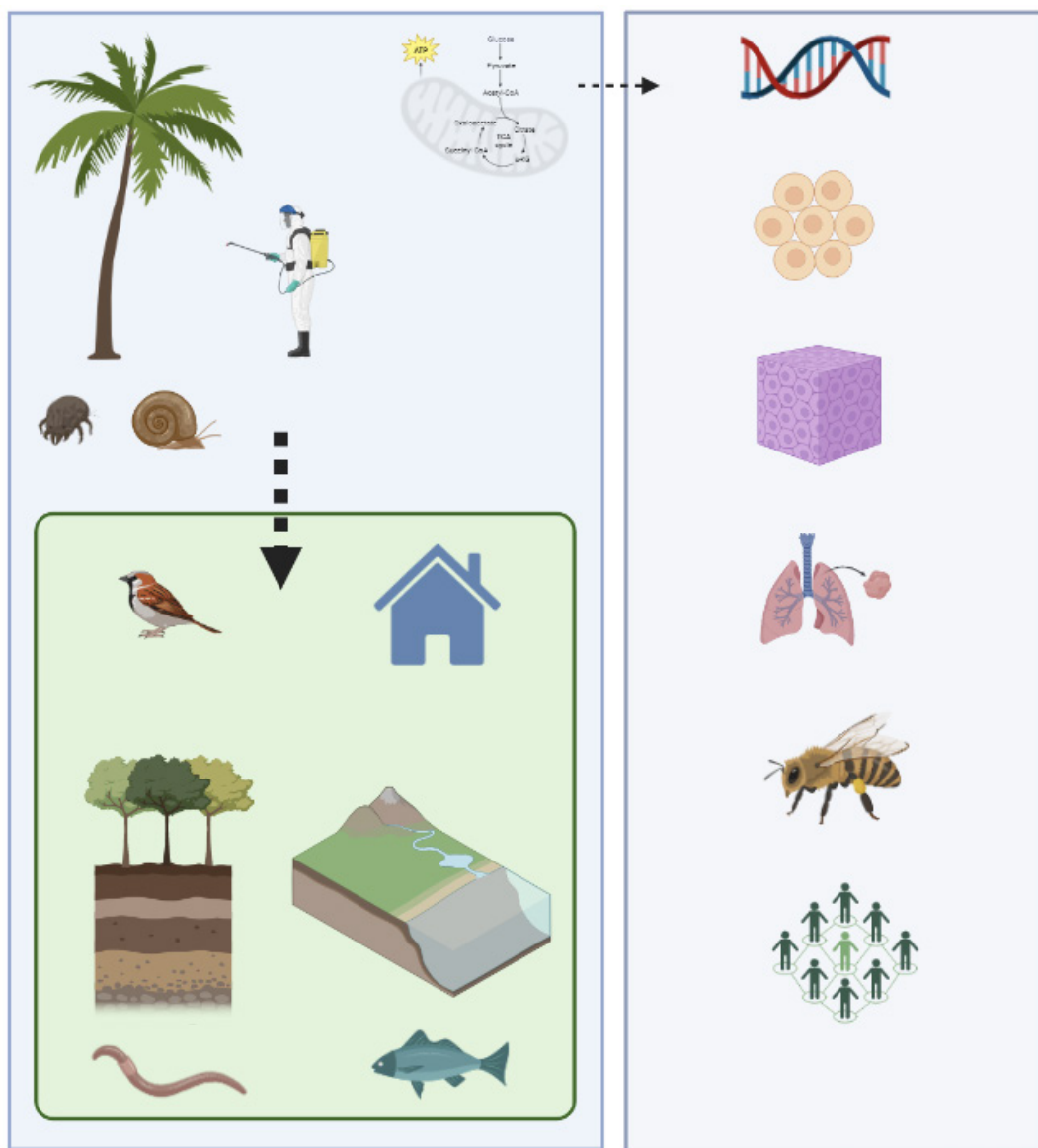


Figura 6. Huella metabólica toxicológica de Fipronil

Las técnicas o prácticas tradicionales de uso del Fipronil generan exposición ocupacional, es tradicional que el agricultor no emplee protección respiratoria, ocular o cutánea. El xenobiótico puede ser transportado vía aérea y afectar a animales aéreos como aves e insectos voladores, principalmente las abejas. El rango de acción de este se puede extender además hacia el suelo, aguas y los organismos que viven allí. La huella metabólica permite investigar la transformación y el impacto del Fipronil a partir de su identificación (o sus metabolitos) en matrices biológicas y ambientales a partir de una aproximación no dirigida. Los metabolitos anotados e identificados permitirán establecer compuestos señalizados y afectaciones a nivel molecular, tejidos, órganos, organismos y poblaciones. La extensión del impacto, o toxicodinamia, se altera por las propiedades fisicoquímicas, la ruta de exposición, dosis absorbida, y la cinética; permite además medir las variables intrínsecas de las fases preanalítica, analítica y post-analítica del ensayo metabólico, llegando finalmente al procesamiento de datos mediante un análisis multivariado y univariado, pruebas de hipótesis, la elucidación del modo de acción y la identificación y validación de biomarcadores de exposición (Lankadurai et al., 2013; Salvia et al., 2018).

Técnicas de laboratorio para el análisis dirigido y no dirigido de Fipronil.

El análisis toxicológico de Fipronil requiere en primera medida su confirmación fehaciente en matrices alimentarias, ambientales y biológicas. Se han realizado investigaciones enfocadas en la identificación y cuantificación de este en productos alimenticios de uso en animales, (Han et al., 2021; Zainudin & Salleh, 2017) en productos derivados de la industria de la caña de azúcar, panificación, avícolas, entre otros, que incorporan productos en los cuales en su producción primaria se empleó el pesticida,

principalmente en el control del picudo *Rhynchophorus palmarum* (Biswas et al., 2019; Castilla-Fernández et al., 2021; Charalampous et al., 2019; Chen et al., 2022b; X. Li et al., 2019). Se reporta principalmente el empleo de cromatografía de gases y cromatografía líquida, acopladas a sistemas de detección de alta y baja resolución, posterior a la extracción de los analitos donde se empleó la tradicional extracción líquido-líquido, y las más novedosas extracciones en fase sólida dispersiva y QuEChERS (X. Li et al., 2020; Mukherjee et al., 2021; Zhao et al., 2021).

La Figura 7 muestra un flujo de trabajo general para las principales técnicas de preparación de muestras reportadas en el análisis de Fipronil o sus metabolitos. En resumen, la extracción por solventes (ejemplo: Soxhlet, extracción líquido-líquido) está basada en la diferencia de las solubilidades de un soluto entre dos fases inmiscibles, es un proceso de partición, donde el soluto se disuelve inicialmente en la fase acuosa previo a la extracción. El metabolito debe ser llevado a su forma neutra para que su equilibrio de partición ($\log P$) sea mayor y se distribuya en el solvente orgánico. Luego de un tiempo de interacción entre las dos fases, el soluto se distribuye hasta el equilibrio, esta partición se mide con un coeficiente que es dependiente de los volúmenes y tipos de muestra y solvente: la temperatura, la superficie de contacto, las especies químicas y el pH de la extracción. A pesar de alcanzar altos factores de concentración, facilidad de automatización, rangos de operación desde microlitros hasta litros, algunos aspectos a mejorar en la extracción con solventes radican en la generación de residuos y rafinatos o co-extractantes de componentes endógenos de matriz tales como ácidos úricos y colesterol, los cuales podrían ser potenciales interferentes en el análisis cromatográfico (Gomes et al., 2022; Grande-Martínez et al., 2015; P. Li et al., 2018; Mandal et al., 2020; Zainudin & Salleh, 2017).

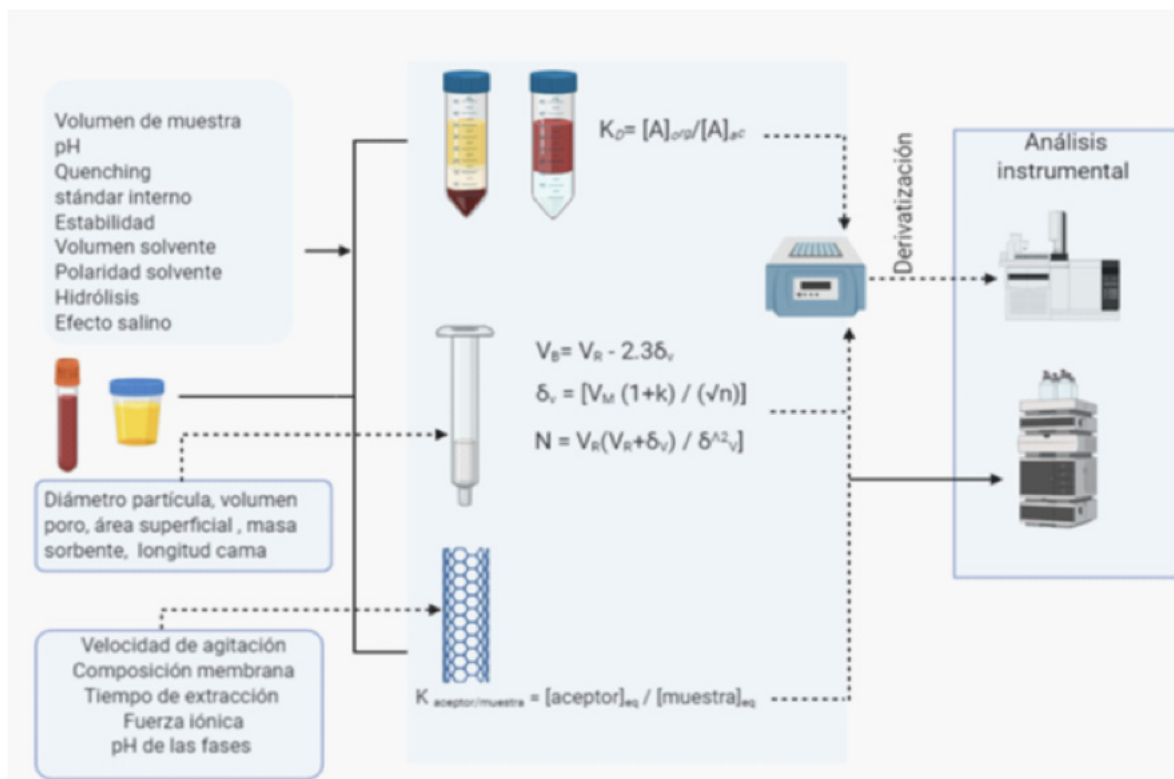


Figura 7. Metodologías más utilizadas para la extracción de Fipronil.

La extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés), permite el aislamiento y concentración del analito en un fluido a través de una fase estacionaria sólida, la cual retiene de manera selectiva los analitos, los cuales serán posteriormente eluidos empleando un solvente. Su eficiencia es comparable en muchos aspectos a la de extracción con solventes, con la ventaja de una mejor limpieza del extracto; sin embargo, la recuperación varía principalmente con respecto a la capacidad de retención de los analitos, afectada por el volumen de ruptura, el cual varía principalmente acorde con el diámetro de la partícula, masa del sorbente y área superficial (Atapattu & Rosenfeld, 2013; Sofalvi et al., 2020; Truver et al., 2021).

La invención de la técnica de micro extracción en fase sólida (SPME) se atribuye al grupo de investigación liderado por Pawliszyn. Con este desarrollo, se pasa de volúmenes de mililitros

a microlitros de solvente, convirtiéndose en la primera aproximación a la química analítica verde, permitiendo que metabolitos de baja o media polaridad se extrajeran de matrices acuosas o gaseosas en una fibra polimérica, unida a una jeringa; la extracción ocurría por difusión pasiva, con una eficiencia dependiente del coeficiente de partición fibra/muestra, pH de las fases, fuerza iónica y tipo de solución aceptora. Posterior a Pawliszyn, se han dado desarrollos como la micro extracción en fase líquida (LPME), la micro extracción en fase líquida con fibra hueca (HF-LPME), la micro extracción de barra de disolvente funcionalizada (HF-SBME) y otros dispositivos que buscan aumentar la superficie de contacto y aprovechar la fuerza electromotriz, tales como discos rotatorios y barras de disolvente funcionalizadas con electro membranas (Asghari et al., 2017; Maddadi et al., 2017; Nazario et al., 2017; Shamsayei et al., 2017;

Sousa et al., 2020). Finalmente, la extracción QuEChERS (por su significado en inglés *quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe*) ha ganado interés en el análisis de pesticidas en general, debido a que combina las bondades de la extracción líquida tradicional con la extracción en fase sólida dispersiva, permitiendo partición de los analitos, y limpieza de los extractos, mientras se logran recuperaciones superiores al 70 %, empleando en algunos diseños bajos volúmenes de solventes y cantidad de muestras, a niveles de micro extracción dispersiva (García-Vara et al., 2023; Q. Li et al., 2023; N. E. Song et al., 2019).

Una vez extraídos y concentrados los analitos, estos deben ingresarse a un sistema analítico que permita su identificación. Por definición, un sistema ideal es aquel que permita el análisis simultáneo de un amplio rango de xenobióticos con diversas propiedades fisicoquímicas (cobertura), de manera robusta, específica, sensible y reproducible. No obstante, debido a que los metabolitos varían ampliamente (ejemplo: peso molecular, polaridad, solubilidad, $\log p$), no existe una sola metodología capaz de cubrir todo el espacio químico, y cada una tiene diferentes limitaciones.

La tabla 3 muestra una comparación de las ventajas y oportunidades de mejora que

poseen las técnicas más reportadas para la identificación de Fipronil y sus metabolitos. Para la identificación de Fipronil, sus metabolitos y componentes endógenos de las matrices (co-extractantes), se ha reportado el uso principalmente de sistemas de cromatografía de líquidos y de gases acoplados a espectrometría de masas. En las investigaciones más recientes se privilegia el uso de sistemas de detección de masas en tándem, tales como triple cuadrupolo (QqQ-MS), ampliamente empleado en cuantificación; sin embargo, este sistema de detección, al igual que el cuadrupolo simple, son considerados de baja resolución, es así como, existe el riesgo de falsos positivos o negativos, al no diferenciar entre compuestos isotérmicos o isobáricos. Por tanto, estos solo brindan una identificación tentativa. Es preferido entonces, por los investigadores, sistemas de alta resolución tales como cuadrupolo acoplado a sistemas de alta resolución (Q-TOF-HRMS y Q-ORBITRAP-HRMS), los cuales además de resolver entre pares críticos al brindar resoluciones superiores a 50.000 FWHM, pueden aportar a una anotación fehaciente. Su gran desventaja es el alto costo de adquisición, mantenimiento y compra de consumibles (Hyötuläinen & Wiedmer, 2013)(Gross, 2017; Komsta et al., 2018; Putri & Fukusaki, 2015).

Tabla 3. Comparación general de las técnicas analíticas publicadas.

Técnica	Ventaja	Desventaja
Espectroscopía de resonancia magnética nuclear RMN	Robusta, no destructiva, compatible con automatización, pretratamiento simple, tiempos de análisis cortos, cuantificación potencial, no requiere derivatización, potencial de elucidación estructural, bajo costo de mantenimiento, reproducibilidad, versatilidad.	Espectros convoluidos, solapamiento de picos, baja resolución, baja sensibilidad, requiere herramientas de análisis multivariado, alto costo de adquisición y mantenimiento, baja capacidad de muestras por día.
Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier FT- IR	Análisis rápido, potencial de entregar composición química, no requiere derivatización, bajo costo de adquisición y mantenimiento, rápida puesta a punto.	Espectros convoluidos, solapamiento de picos, baja resolución, baja sensibilidad, requiere herramientas de análisis multivariado, baja capacidad de muestras por día, análisis no automatizable.
Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas GC-MS	Alta sensibilidad, selectividad, automatización y análisis de gran cantidad de muestras por día, analitos resueltos, identificación de compuestos desconocidos, acoplable a librerías de espectros (comerciales y gratuitas), automatización de análisis de datos o análisis por baches. Aumento de capacidad resolutive para sistemas en tándem.	Largos tiempos de corridas, requiere pretratamiento de muestras (extracción y derivatización)
Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas LC-MS	Alta sensibilidad, selectividad, automatización y análisis de gran cantidad de muestras por día, analitos resueltos, identificación de compuestos desconocidos, acoplable a librerías de espectros (comerciales y gratuitas), automatización de análisis de datos o análisis por baches. Aumento de capacidad resolutive para sistemas en tándem.	Largos tiempos de corridas, a requiere extracción de muestras, corrimientos en los tiempos de retención.
Electroforesis capilar CE-UV or CE-MS	Alta resolución, poco volumen de muestra, tiempo de corrida corto, no requiere derivatización, bajo costo de adquisición y mantenimiento.	Baja sensibilidad y reproducibilidad no existen librerías, baja capacidad de muestras por día.

Herramientas in silico para el análisis de toxicidad de Fipronil.

La aplicación de métodos quimiométricos y computacionales, basados en modelos de relación estructura-actividad (SAR, QSPR, QSAR) para soportar el análisis de riesgo toxicológico asociado al Fipronil, ha permitido generar modelos *in silico*, a partir de una base de datos construida con información experimental estructurada y armonizada que incluye la alineación de descriptores y huellas moleculares o biológicas validadas aplicando modelamiento estadístico (Carnesecchi et al., 2020; Ivanciuc et al., 2012; Stenberg & Andersson, 2008).

Los descriptores moleculares son propiedades estructurales o fisicoquímicas de una molécula o parte de una molécula, y describen la estructura en términos numéricos. Las huellas moleculares corresponden a metodologías de codificación estructural de una molécula, las estructuras más comunes corresponden a una serie de dígitos binarios (bits) que representan la presencia o ausencia de subestructuras particulares, su comparación permitiría establecer la similitud entre dos moléculas y con respecto a una estructura de referencia o de búsqueda. Finalmente, pueden emplearse para predecir la actividad biológica relacionada a un efecto nocivo o a una ruta o rutas o vías para ese resultado o efecto nocivo (Zhang et al., 2015).

Las herramientas computacionales para la predicción de la toxicidad agrupan una amplia variedad de aproximaciones, partiendo desde la formación de una relación simple entre un fragmento estructural y un evento toxicológico, hasta la compleja relación multivariada entre descriptores y valores toxicológicos (Cotterill et al., 2020; Herrmann et al., 2020; Speck-Planche et al., 2012). Estas aproximaciones se usan de manera cada vez más recurrente para predecir la toxicidad como alternativas a experimentación animal. La estrategia read-across es el nuevo paradigma, esta ayuda a predecir toxicidad al identificar similitudes en compuestos y datos experimentales previos. Esta Asume que moléculas similares tienden

a exhibir actividades similares, el objetivo final es desarrollar herramientas globales de modelado capaces de categorizar compuestos químicos estructuralmente diversos en varias categorías y predecir su toxicidad aguda, usando descriptores moleculares. Con los datos experimentales se construyen modelos de regresión, usualmente empleando particiones de entrenamiento, validación, prueba, e inteligencia artificial tales como redes neuronales (ANN), redes neuronales probabilísticas (PNN), redes neuronales de regresión generalizada (GRNN), redes neuronales multicapa perceptrón (MLPN), redes neuronales de base de función radial (RBFN), programación de expresión génica (GEP) y árboles de decisiones (DT) (Benigni, 2019; Kennedy et al., 2020; Marzo et al., 2020; Raitano et al., 2018). La diversidad y falta de linealidad en los datos se prueba usando un índice de similaridad de Tanimoto y estadística de Brock-Dechert-Scheinkman. Finalmente, la capacidad predictora de varios modelos se compara intra e inter-modelo empleando estadísticos como R^2 y Q^2 (Calster et al., 2023).

La figura 8 muestra un diagrama general del flujo de trabajo para establecer y validar un modelo QSAR para evaluación de toxicidad. El primer paso en toda investigación consiste en la revisión del estado del arte y de los supuestos relacionados con el modelo a construir, luego se debe organizar la información experimental de tal forma que los datos queden organizados en una matriz compatible con el sistema analítico, estos son la entrada a la generación del modelo QSAR por vía del análisis estadístico. Este conjunto de datos consiste en las respuestas experimentales a ser modeladas y el correspondiente conjunto de estructuras de descriptores moleculares para cada compuesto químico, los cuales se calcularán usando el software adecuado. El siguiente paso es el análisis de los datos, eso quiere decir probar la distribución de los datos en el espacio químico y experimental, señalando valores atípicos o agrupaciones (*clusters*) particulares.

En la práctica usual de QSAR, los autores recomiendan desarrollar y proponer modelos, siempre verificando su valor predictivo en nuevos compuestos químicos; esto quiere decir, usar una base de datos ya conocida para entrenar el modelo y establecer los algoritmos predictores de las correlaciones estructura-actividad y luego validar analizando contra uno o varios datos externos de valor conocido. Esto se conoce como set de datos de entrenamiento y predicción, estos que son evaluados empleando estadísticos de prueba.

Una vez el análisis estadístico se ha realizado a conformidad, se desarrolla el modelo, los descriptores moleculares pueden ser *a priori*, seleccionados por el analista o por el software. Sería ideal usar todas las combinaciones de descriptores disponibles para el cálculo del modelo, y luego aplicar el procedimiento de algoritmo genético (GA) para el desarrollo final del modelo (Gadaleta et al., 2019; Lévêque et al., 2022; Ruiz et al., 2017; Yousefinejad & Hemmateenejad, 2015; Zhang et al., 2015).

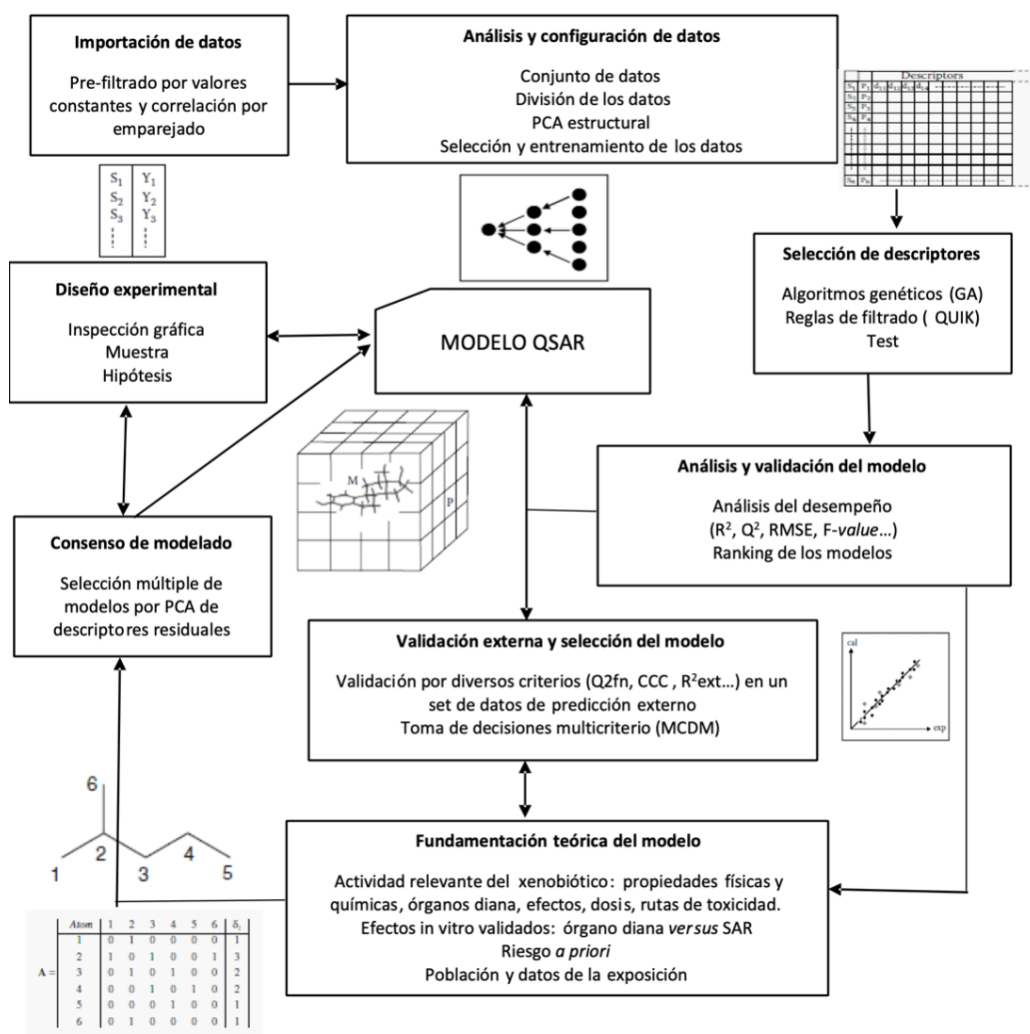


Figura 8. Pasos para construir y validar un modelo QSAR

El análisis basado en la similitud molecular es uno de los conceptos más ampliamente explotados en áreas de la quimio informática, tales como la química medicinal y el diseño de fármacos. Es aplicada a múltiples tareas, incluyendo predicción de propiedades, síntesis, búsqueda de similitud, *screening virtual*, análisis de conglomerados y diversidad molecular. La toxicología del siglo XXI se encuentra con la creciente necesidad de reducir, refinar y reemplazar las pruebas toxicológicas empleando modelos animales para la identificación de riesgos. Los ensayos para toxicidad aguda de compuestos químicos comúnmente están basados en la batería "6 pack" de pruebas, la cual incluye cuatro puntos finales tópicos (sensibilización e irritación cutánea, corrosión e irritación ocular), y 3 puntos finales sistémicos (toxicidad aguda oral, aguda por inhalación y aguda dérmica) (Borba et al., 2022). Finalmente, se genera la necesidad de desarrollar nuevas aproximaciones para el análisis toxicológico que ayuden a reducir el testeo en animales, con este fin algunos autores han propuesto metodologías basadas en inteligencia artificial que generan predicciones de toxicidad, estimando la confianza del modelo, y el dominio de aplicación dentro del espacio químico, indicando además los

segmentos de la molécula que contribuyen a la toxicidad (Borba et al., 2022; Moreira-Filho et al., 2021; A. C. Silva et al., 2021).

EL laboratorio LabMol desarrolló la plataforma *BeeTox^{AI}*, esta se basa en un modelo de inteligencia artificial que permite predecir para los puntos finales LD₅₀ por toxicidad aguda oral, y LD₅₀ por toxicidad aguda por contacto para abejas (*Apis mellifera*), empleando los descriptores moleculares MACCS y Morgan EFCP2, y los algoritmos de aprendizaje automático *Random forest*, redes neuronales profundas DNN, y máquinas de soporte vectorial (SVM), permitiendo estimar LD₅₀ = 1020,418 y 70,0817 µg de Fipronil / abeja para ensayos de toxicidad aguda oral y por contacto respectivamente. La figura 9 muestra la predicción que arroja el software sobre los sitios activos de la molécula de Fipronil en su impacto para la LD₅₀ por toxicidad aguda por contacto. La actividad predicha está asociada con átomos electronegativos y aquellos que poseen pares electrónicos desapareados (flúor, nitrógeno y azufre), estos pueden participar fácilmente en reacciones de oxidación-reducción, y en la activación de la resonancia facilitada por átomos atrayentes de electrones (Moreira-Filho et al., 2021).

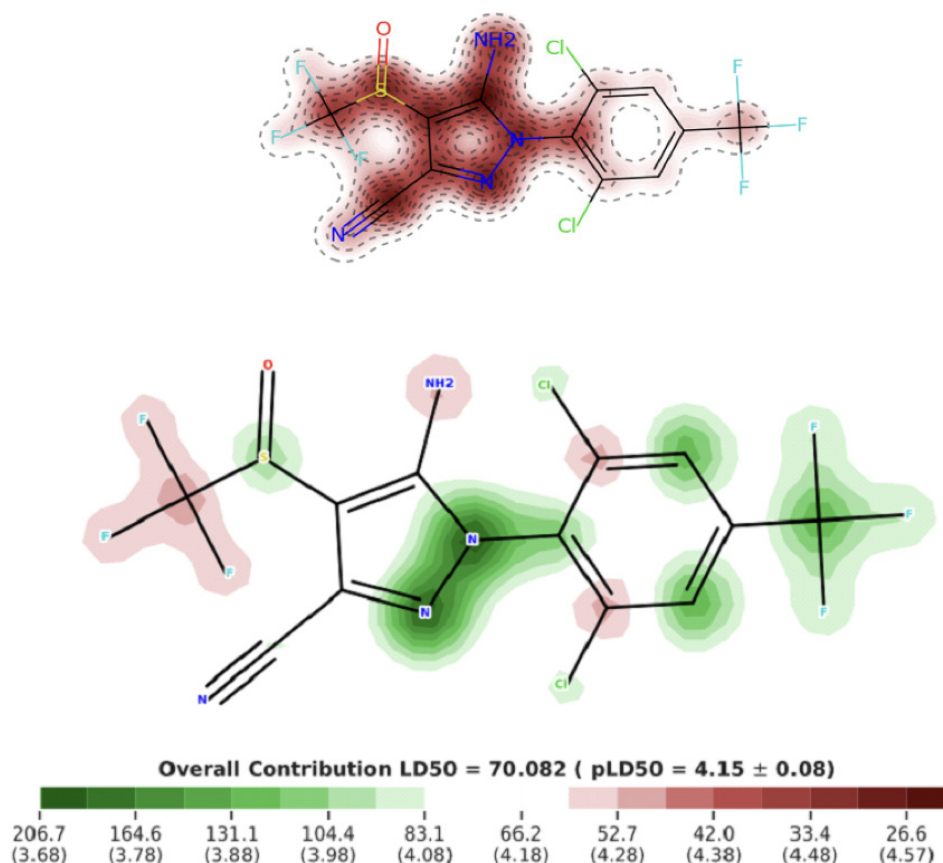


Figura 9. Contribución de los sitios activos predichos para LD_{50} de Fipronil usando el software BeeTox^{AI}

Conclusiones y trabajo futuro

Si bien no se encontraron indicios de la asociación de la exposición a Fipronil y la aparición de cáncer, la exposición aguda y crónica puede producir efectos sistémicos asociados a sistemas GABAérgicos, aumento en la presión arterial, reducción de los niveles hormonales asociados al desarrollo sexual, reducción de los metabolitos asociados con la respiración y la homeóstasis celular, con efectos estadísticamente diferentes en mamíferos comparado con insectos. Se puede inferir gran impacto toxicológico en abejas, para quienes además de disminuir la capacidad

de reproducción, genera malformaciones congénitas, altera el comportamiento y la comunicación entre organismos.

Fipronil elimina cerca del 94 % de la peste, hacia la cual tradicionalmente es dirigido (*Rhynchophorus palmarum*); sin embargo, su falta de selectividad hace que sea altamente tóxico hacia las abejas expuestas por contacto e ingestión, además, puede eliminar cerca del 90 % de los insectos que cohabiten en el ecosistema, con pobres tasas de recolonización. Como aspecto positivo, no ha mostrado letalidad en gusanos de tierra, responsables de aportar a la fertilidad y productividad del suelo.

La principal actividad metabólica para Fipronil está asociada a la S-oxidación del azufre (átomo 21), el cual produce su principal metabolito de fase I, Fipronil-sulfona, el cual es fisiológicamente activo, la reacción en el nitrógeno de la amina primaria (átomo 1) usualmente sigue en fase II la producción de un analito glucuronidado. Acorde a las rutas metabólicas y las propiedades fisicoquímicas, Fipronil y sus metabolitos pueden ser encontrados en bilis, sangre (muestreos cercanos a la exposición) y orina como principal vía de eliminación.

El análisis toxicológico mediante la aplicación de aproximaciones metabolómicas es una técnica analítica relativamente nueva y prometedora, que tiene el potencial de identificar y validar biomarcadores relacionados con la intoxicación, la enfermedad, la contaminación ambiental, y la seguridad de aplicación de Fipronil.

Los estándares para análisis de riesgo de toxicidad relacionada con varios puntos finales aún corresponden a modelos animales, especialmente en conejos, técnica que desde hace años es considerada cruel, poco confiable y con relevancia biológica cuestionable al trasladarse a modelos en humanos. Esto da fuerza a la necesidad de implementar y validar modelos *in vitro* e *in silico* para el análisis de sitios activos, rutas metabólicas señalizadas o impactadas y metabolitos expresados.

Se requieren investigaciones posteriores más profundas en el desarrollo y aplicación de técnicas analíticas miniaturizadas para la cuantificación de Fipronil en diversas matrices alimentarias, ambientales y biológicas, eliminando el efecto de estas en la recuperación analítica. Es una necesidad de la comunidad, la unificación de criterios para el aseguramiento de la calidad de los ensayos y la anotación empleando espectrometría de masas en tándem.

Bibliografía Referencias

1. Acero, C. y Machuca, D. (2021). The substitution program on trial: progress and setbacks of the peace agreement in the policy against illicit crops in Colombia. *International Journal of Drug Policy*, 89, 103158.
2. Arain, M. S., Hu, X. X. y Li, G. Q. (2014). Assessment of toxicity and potential risk of butene-fipronil using *Drosophila melanogaster*, in comparison to nine conventional insecticides. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92(2), 190-195.
3. Aria, M. y Cuccurullo, C. (2017). Bibliometrix: an R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of Informetrics*, 11(4), 959-975. <https://doi.org/10.1016/j.joi.2017.08.007>
4. Asghari, A., Fahimi, E., Bazregar, M., Rajabi, M. y Boutorabi, L. (2017). Rapid determination of some psychotropic drugs in complex matrices by tandem dispersive liquid-liquid microextraction followed by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 1052, 51-59.
5. Atapattu, S. N. y Rosenfeld, J. M. (2013). Solid phase analytical derivatization as a sample preparation method. *Journal of Chromatography A*, 1296, 204-213. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2013.03.020>
6. Benigni, R. (2019). Towards quantitative read across: prediction of Ames mutagenicity in a large database. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 108.
7. Benigni, R. y Bossa, C. (2008). Structure alerts for carcinogenicity, and the Salmonella assay system: a novel insight through the chemical relational databases technology. *Mutation Research*, 659(3), 248-261.
8. Biswas, S., Mondal, R., Mukherjee, A., Sarkar, M. y Kole, R. K. (2019). Simultaneous determination and risk assessment of fipronil and its metabolites in sugarcane, using GC-ECD and confirmation by GC-MS/MS. *Food Chemistry*, 272, 559-567. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.087>
9. Bjørling-Poulsen, M., Andersen, H. R. y Grandjean, P. (2008). Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. *Environmental Health*, 7, 50.
10. Blascke Carrão, D., Dos Reis Gomes, I. C., Barbosa Junior, F. y Moraes de Oliveira, A. R. (2019). Evaluation of the enantioselective in vitro metabolism of the chiral pesticide fipronil employing a human model: risk assessment through in vitro-in vivo correlation and prediction of toxicokinetic parameters. *Food and Chemical Toxicology*, 123, 225-232.
11. Bovi, T. S., Zaluski, R. y Orsi, R. O. (2018). Toxicity and motor changes in africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) exposed to fipronil and imidacloprid. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 90(1), 239-245.
12. Borba, J. V., Alves, V. M., Braga, R. C., Korn, D. R., Overdahl, K., Silva, A. C., Hall, S. U., Overdahl, E., Kleinstreuer, N., Strickland, J., Allen, D., Andrade, C. H., Muratov, E. N. y Tropsha, A. (2022). STopTox: an in silico alternative to animal testing for acute systemic and topical toxicity. *Environmental Health Perspectives*, 130(2).
13. Bownik, A. y Szabelak, A. (2021). Short-term effects of pesticide fipronil on behavioral and physiological endpoints of *Daphnia magna*. *Environmental Science Pollution Research International*, 28(25), 33254-33264.
14. Calster, B., Steyerberg, E. W., Wynants, L. y Van Smeden, M. (2023). There is no such thing as a validated prediction model. *BMC Med*, 21(70).
15. Carnesecchi, E., Toma, C., Roncaglioni, A., Kramer, N., Benfenati, E. y Dorne, J. L. (2020). Integrating QSAR models predicting acute contact toxicity and mode of action profiling in honey bees (*A. mellifera*): data curation using open source databases, performance testing and validation. *Science of the Total Environment*, 735, 139243. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139243>

16. Castilla-Fernández, D., Moreno-Gonzalez, D., Murillo Cruz, M., García-Reyes, J. F. y Molina-Díaz, A. (2021). Appraisal of different clean-up strategies for the determination of fipronil and its metabolites in eggs by UHPLC-MS/MS. *Microchemical Journal*, 166(1).
17. Cotterill, J., Price, N., Rorije, E. y Peijnenburg, A. (2020). Development of a QSAR model to predict hepatic steatosis using freely available machine learning tools. *Food and Chemical Toxicology*, 142, 111494.
18. Cox, C. y Sorgan, M. (2006). Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. *Environmental Health Perspectives*, 114(12), 1803-1806.
19. Chaguri, J. L., Godinho, A. F., Horta, D. F., Gonçalves-Rizzi, V. H., Possomato-Vieira, J. S., Nascimento, R. A. y Dias-Junior, C. A. (2016). Exposure to fipronil elevates systolic blood pressure and disturbs related biomarkers in plasma of rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 42, 63-68.
20. Charalampous, A. C., Liapis, K. S. y Bempelou, E. D. (2019). Fipronil in eggs. Is LC-MS/MS the only option? A comparison study of LC-MS/MS and GC-ECD for the analysis of fipronil. *Journal of Chromatography B*, 1129, 121785. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.121785>
21. Chen, T., Hu, J., Chen, Y., Liu, Y., Li, Y. y Xu, H. (2022). Tracking the environmental fate of fipronil and three of its metabolites in garlic based on sampling reta-corrected in vivo solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 1190, 339263.
22. Da Silva Pinto, T. J., Rocha, G. S., Moreira, R. A., Menezes Da Silva, L. C., Cardoso Yoshii, M. P., Goulart, B. V., Montagner, C. C., Daam, M. A. y Gaeta Espindola, E. L. (2022). Chronic environmentally relevant levels of pesticides disrupt energy reserves, feeding rates, and life-cycle responses in the amphipod *Hyaella meinerti*. *Aquatic Toxicology*, 245, 106117.
23. De Oliveira, P. R., Bechara, G. H., Denardi, S. E., Oliveira, R. J. y Camargo Mathias, M. I. (2012). Genotoxic and mutagenic effects of fipronil on mice. *Experimental and Toxicology Pathology*, 64(6), 569-573. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etp.2010.11.015>
24. Delso, N. S., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J. M., Chagnon, M., Downs, C., Furlan, L., Gibbons, D. W., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreutzweizer, D. P., Krupke, C. H., Liess, M., Long, E., McField, M., Mineau, P., Mitchell, E. A. D., Morrissey, C. A...Wiemers, M. (2015). Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research International*, 22(1), 5-34.
25. Domingues Nazario, C. E., Fumes, B., Da Silva, M. R. y Lanças, F. M. (2016). New materials for sample preparation techniques in bioanalysis. *Journal of Chromatography B*, 1043(945).
26. Duque, P., Meza, O. E., Giraldo, D. y Barreto, K. (2021). Economía social y economía solidaria: un análisis bibliométrico y revisión de literatura. *REVESCO*, (138), 187-212.
27. Eadie, A., Vásquez, I. C., Liang, X., Wang, X., Souders, C. L., Chehouri, J. E., Hoskote, R., Feswick, A., Cowie, A. M., Loughery, J. R. y Martyniuk, C. J. (2020). Transcriptome network data in larval zebrafish (*Danio rerio*) following exposure to the phenylpyrazole fipronil. *Data in Brief*, 33, 106413. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.106413>
28. Embry, M. R., Bachman, A. N., Bell, D. R., Boobis, A. R., Cohen, S. M., Dellarco, M., Dewhurst, C. I., Doerrer, N. G., Hines, R. N., Moretto, A., Pastoor, T. P., Phillips, R. D., Rowlands, J. C., Tanir, J. Y., Wolf, D. C. y Doe, J. E. (2014). Risk assessment in the 21st century: roadmap and matrix. *Critical Reviews in Toxicology*, 44(Suppl.3), 6-16.
29. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (1989). *Guidelines for legislation on the control of pesticides* [Archivo PDF]
30. Fulton, M. H. y Key, P. B. (2001). Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology Chemistry*, 20(1), 37-45.
31. Gadaleta, D., Vuković, K., Toma, C., Lavado, G. J., Karmaus, A. L. y Mansouri, K. (2019). SAR and QSAR modeling of a large collection of LD50 rat acute oral toxicity data. *J Cheminform*, 11(1), 1-16.

32. García-Vara, M., Postigo, C., Palma, P. y López de Alda, M. (2023). Development of QuEChERS-based multiresidue analytical methods to determine pesticides in corn, grapes and alfalfa. *Food Chemistry*, 405, 134870.
33. Gomes, H. O., Cardoso, R., Nonato, C. F., Andrade da Silva, V. P., Nobre, C., Da Costa, J. G., Pereira Teixeira, R. N. y Do Nascimento, R. F. (2023). Optimization and validation of a method using GC-MS and QuEChERS for pesticide determination in banana pulp. *Food Analytical Methods*, 16, 125-131. <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02402-3>
34. González de Dios, J., Alonso-Arroyo, A. y Aleixandre-Benavent, R. (2019). Half a century of Anales de Pediatría. Evolution of its main bibliometric indicators in the Web of Science and Scopus international databases. *Anales de Pediatría*, 90(3), 194.e1-194.e11.
35. Grande Martínez, Á., Arrebola, F. J., Martínez-Vidal, J. L., Hernández-Torres, M. E. y Garrido-Frenich, A. (2015). Optimization and validation of a multiresidue pesticide method in rice and wheat flour by modified QuEChERS and GC-MS/MS. *Food Analytical Methods*, 9(2).
36. Gross, J. H. (2017). *Mass Spectrometry. A textbook*. Springer.
37. Guelfi, M., Tavares, M. A., Mingatto, F. E. y Maioli, M. A. (2015). Citotoxicity of fipronil on hepatocytes isolated from rat and effects of its biotransformation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58(6), 843-853.
38. Han, C., Hu, B., Li, Z., Liu, C., Wang, N., Fu, C. y Shen, Y. (2021). Determination of fipronil and four metabolites in foodstuffs of animal origin using a modified QuEChERS method and GC-NCI-MS/MS. *Food Analytical Methods*, 14(2), 237-249.
39. Herin, F., Boutet-Robinet, E., Levant, A., Dulaurent, S., Manika, M., Galatry-Bouju, F., Caron, P. y Soulat, J. M. (2011). Thyroid function tests in persons with occupational exposure to fipronil. *Thyroid*, 21(7), 701-706.
40. Herrmann, K., Holzwarth, A., Rime, S., Fischer, B. C. y Kneuer, C. (2020). (Q)SAR tools for the prediction of mutagenic properties: Are they ready for application in pesticide regulation? *Pest Management Science*, 76(10), 3316-3325.
41. Hidrovo, A. J. (2004). Plaguicidas usados en la fumigación de cultivos ilícitos y salud humana: ¿Una cuestión de ciencia o política? *Revista Salud Pública*, 6(2), 199-211.
42. Hurtado-Marín, V. A., Agudelo-Giraldo, J. D., Robledo, S. y Restrepo-Parra, E. (2021). Analysis of dynamic networks based on the Ising model for the case of study of co-authorship of scientific articles. *Scientific Reports*, 11(5721). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85041-8>
43. Hyötyläinen, T. y Wiedmer, S. (Eds.). (2013). *Chromatographic Methods in Metabolomics*. Royal Society of Chemistry.
44. Ivanciuc, T., Ivanciuc, O. y Klein, D. (2011). Network-QSAR with reaction poset quantitative superstructure-activity relationships (QSSAR) for PCB chromatographic properties. *Current Bioinformatics*, 6(1), 25-34.
45. Jiménez Noblejas, C. y Perianes Rodríguez, A. (2014). Recuperación y visualización de información en Web of Science y Scopus: una aproximación práctica. *Investigación Bibliotecológica: Archivonomía, Bibliotecología e Información*, 28(64), 15-31.
46. Katchanov, Y. L., Markova, Y. V. y Shmatko, N. A. (2019). Comparing the topological rank of journals in Web of Science and Mendeley. *Heliyon*, 5(7), e02089.
47. Kennedy, M. C., Hart, A. D., Kruisselbrink, J. W., Van Lenthe, M., De Boer, W. J., Van der Voet, H., Rorije, E., Sprong, C. y Van Klaveren, J. (2020). A retain and refine approach to cumulative risk assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 138.
48. Komsta, L., Vander Heyden, Y. y Sherma J. (Eds.). (2018). *Chemometrics in chromatography*. CRC press.
49. Kovacic, P. y Jacintho, J. D. (2001). Mechanisms of carcinogenesis: focus on oxidative stress and electron transfer. *Current Medicinal Chemistry*, 8(7).

50. Krogh, K. A., Halling-Sørensen, B., Mogensen, B. B. y Vejrup, K. V. (2003). Environmental properties and effects of nonionic surfactant adjuvants in pesticides: a review. *Chemosphere*, 50(7), 871-901.
51. Lankadurai, B. P., Nagato, E. G. y Simpson, M. J. (2013). Environmental metabolomics: an emerging approach to study organism responses to environmental stressors. *Environmental Reviews*, 21(3), 180-205.
52. Lao, W. (2021). Fiproles as a proxy for ecological risk assessment of mixture of fipronil and its degradates in effluent-dominated surface waters. *Water Research*, 188, 116510. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116510>
53. Lautz, L. S., Stoopen, G., Ginting, A. J., Hoogenboom, R. y Punt, A. (2022). Fipronil and fipronil sulfone in chicken: from in vitro experiments to in vivo PBK model predictions. *Food and Chemical Toxicology*, 165, 113086.
54. Lévêque, L., Tahiri, N., Goldsmith, M. R. y Verner, M. A. (2022). Quantitative Structure-Activity relationship (QSAR) modeling to predict the transfer of environmental chemicals across the placenta. *Computational Toxicology*, 21, 100211.
55. Li, P., Duan, Y., Ge, H., Zhang, Y. y Wu, X. (2018). Multiresidue analysis of 113 pesticides in different maturity levels of mangoes using an optimized QuEChERS method with GC-MS/MS and UHPLC-MS/MS. *Food Analytical Methods*, 11(26).
56. Li, Q., Zhang, J., Lin, T., Fan, C., Li, Y. y Zhang, Z. (2023). Migration behavior and dietary exposure risk assessment of pesticides residues in honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.) based on modified QuEChERS method coupled with tandem mass spectrometry. *Food Research International*, 166, 112562.
57. Li, X., Li, H., Ma, W., Guo, Z., Li, X., Song, S., Tang, H., Li, X. y Zhang, Q. (2019). Development of precise GC-EI-MS method to determine the residual fipronil and its metabolites in chicken egg. *Food Chemistry*, 281, 85-90. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.041>
58. Li, X., Ma, W., Li, H., Zhang, Q. y Ma, Z. (2020). Determination of residual fipronil and its metabolites in food samples: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 97, 185-195. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.018>
59. Lima de Barros, A., Lima Rosa, J., Cavariani, M. M., Borges, C. S., Villela e Silva, P., Bae, J. H., Anselmo-Franci, J. A. y Arena, A. C. (2016). In utero and lactational exposure to fipronil in female rats: pregnancy outcomes and sexual development. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 79(6), 266-273.
60. Lourenço, C. T., Carvalho, S. M., Malaspina, O. y Nocelli, R. (2012). Determination of fipronil LD50 for the brazilian bee *Melipona scutellaris*. *Julius-Kühn-Archiv*, 437, 174-178.
61. Maddadi, S., Qomi, M. y Rajabi, M. (2017). Extraction, preconcentration, and determination of methylphenidate in urine sample using solvent bar microextraction in combination with HPLC-UV: optimization by experimental design. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 40(15).
62. Mandal, S., Poi, R., Ansary, I., Hazra, D. K., Bhattacharyya, S. y Karmakarm R. (2020). Validation of a modified QuEChERS method to determine multiclass multipesticide residues in apple, banana and guava using GC-MS and LC-MS/MS and its application in real sample analysis. *SN Applied Sciences*, 2(188), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-1990-2>
63. Martin, M. T., Judson, R. S., Reif, D. M., Kavlock, R. J. y Dix, D. J. (2009). Profiling chemicals based on chronic toxicity results from the U.S. EPA ToxRef database. *Environmental Health Perspectives*, 117(3), 392-399.
64. Martin, M. T., Mendez, E., Corum, D. G., Judson, R. S., Kavlock, R. J., Rotroff, D. M. y Dix, D. J. (2009). Profiling the reproductive toxicity of chemicals from multigeneration studies in the toxicity reference database. *Toxicological Science*, 110(1), 181-190.
65. Marzo, M., Lavado, G. J., Como, F., Toropova, A. P., Toropov, A. A. y Baderna, D. (2020). QSAR models for biocides: the example of the prediction of *Daphnia magna* acute toxicity. SAR and QSAR in *Environmental Research*, 31(3), 227-243.

66. McMahan, R. L., Strynar, M. J., Dagnino, S., Herr, D. W., Moser, V. C., Garantziotis, S., Andersen, E. M., Freeborn, D. L., McMillan, L. y Lindstrom, A. B. (2015). Identification of fipronil metabolites by time-of-flight mass spectrometry for application in a human exposure study. *Environment International*, 78, 16-23.
67. Milam, C. D., Farris, J. L. y Wilhide, J. D. (2000). Evaluating mosquito control pesticides for effect on target and nontarget organisms. *Archives on Environmental Contamination and Toxicology*, 39(3), 324-328.
68. Mohamed, F., Senarathna, L., Percy, A., Abeyewardene, M., Cheng, R., Azher, S., (2004). Acute Human Self-Poisoning with the N-Phenylpyrazole Insecticide Fipronil – A GABA A -Gated Chloride Channel Blocker. *J Toxicol Clin Toxicol*, 42(7), 955-963.
69. Moreira-Filho, J. T., Braga, R. C., Lemos, J. M., Medeiros Alves, V., Borba, J. V., Costa, W. S., Kleinstreuer, N., Muratov, E., Horta Andrade, C. y Neves, B. M. (2021). BeeToxAI: an artificial intelligence-based web app to assess acute toxicity of chemicals to honey bees. *Artificial Intelligence Life Sciences*, 1, 100013.
70. Moretto, A., Bachman, A., Boobis, A., Solomon, K. R., Pastoor, T. P., Wilks, M. F. y Embry, M. R. (2017). A framework for cumulative risk assessment in the 21st century. *Critical Reviews in Toxicology*, 47(2), 85-97.
71. Mukherjee, A., Mondal, R., Biswas, S., Saha, S., Ghosh, S. y Koley, R. K. (2021). Dissipation behaviour and risk assessment of fipronil and its metabolites in paddy ecosystem using GC-ECD and confirmation by GC-MS/MS. *Heliyon*, 7(5), e06889. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06889>
72. Oakes, D. J. y Pollak, J. K. (2000). The in vitro evaluation of the toxicities of three related herbicide formulations containing ester derivatives of 2,4,5-T and 2,4-D using sub-mitochondrial particles. *Toxicology*, 151(1-3), 1-9.
73. Ou, Y., Yan, Z., Shi, G., Yu, Z., Cai, Y. y Ma, R. (2022). Enantioselective toxicity, degradation and transformation of the chiral insecticide fipronil in two algae culture. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 235, 113424. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113424>
74. Paris, L., Roussel, M., Pereira, B., Delbac, F. y Diogon, M. (2017). Disruption of oxidative balance in the gut of the western honeybee *Apis mellifera* exposed to the intracellular parasite *Nosema ceranae* and to the insecticide fipronil. *Microbial Biotechnology*, 10(6), 1702-1717.
75. Patil, C., Calvayrac, C., Zhou, Y., Romdhane, S., Salvia, M. V., Cooper, J. F., Dayan, F. E. y Bertrand, C. (2016). Environmental metabolic footprinting: a novel application to study the impact of a natural and a synthetic β -triketone herbicide in soil. *Science of the Total Environment*, 566-567, 552-558. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.071>
76. Pedraza Carrillo, M., De Souza Bovi, T., Fava Negrão, A. y De Oliveira Orsi, R. (2013). Influência dos agroquímicos fipronil e imidaclopride no aprendizado de abelhas *Apis mellifera* L. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 35(4), 431-434.
77. Pereira, J. L., Antunes, S. C., Castro, B. B., Marques, C. R., Gonçalves, A. M. M., Gonçalves, F. y Pereira, R. (2009). Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient. *Ecotoxicology*, 18(4), 455-463.
78. Pfaff, J., Reinwald, H., Ayobahan, S. U., Alvincz, J., Göckener, B., Shomroni, O., Salinas, G., Düring, R. A., Schäfers, C. y Eilebrecht, S. (2021). Toxicogenomic differentiation of functional responses to fipronil and imidacloprid in *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 238.
79. Portruneli, N., Bonansea, R. I., Valdés, M. E., Menezes Da Silva, L. C., Viana, N. P., Goulart, B. V., Da Costa Souza, I., Gaeta Espíndola, E. L., Montagner, C. C., Wunderlin, D. A. y Fernandes, M. N. (2021). Whole-body bioconcentration and biochemical and morphological responses of gills of the neotropical fish *Prochilodus lineatus* exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid or fipronil individually or in a mixture. *Aquatic Toxicology*, 240.
80. Putri, S. P. y Fukusaki, E. (2015). *Mass Spectrometry-Based Metabolomics. A practical guide*. Boca Raton: CRC Press.

81. Qu, H., Ma, R. X., Liu, D. H., Jing, X., Wang, F., Zhou, Z. Q. y Wang, P. (2016). The toxicity, bioaccumulation, elimination, conversion of the enantiomers of fipronil in *Anodonta woodiana*. *Journal of Hazardous Materials*, 312, 169-174. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.03.063>
82. Raitano, G., Goi, D., Pieri, V., Passoni, A., Mattiussi, M., Lutman, A., Romeo, I., Manganaro, A., Marzo, M., Porta, N., Baderna, D., Colombo, A., Aneggi, E., Natolino, F., Lodi, M., Bagnati, R. y Benfenati, E. (2018). (Eco)toxicological maps: a new risk assessment method integrating traditional and in silico tools and its application in the Ledra River (Italy). *Environment International*, 119, 275-286.
83. Richardson, J. R., Fitsanakis, V., Westerink, R. H. S. y Kanthasamy, A. G. (2019). Neurotoxicity of pesticides. *Acta Neuropathologica*, 138, 343-362. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-02033-9>
84. Roberts, D. W., Aptula, A., Schultz, T. W., Shen, J., Api, A. M., Bhatia, S. y Kromidas, L. (2015). A practical guidance for Cramer class determination. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(3), 971-984.
85. Ruiz, P., Sack, A., Wampole, M., Bobst, S. y Vracko, M. (2017). Integration of in silico methods and computational systems biology to explore endocrine-disrupting chemical binding with nuclear hormone receptors. *Chemosphere*, 178, 99-109.
86. Salcedo Monsalve, A. y Melo Trujillo, O. L. (2005). Evaluación del uso de plaguicidas en la actividad agrícola del departamento de Putumayo. *Revista Ciencias de la Salud*, 3(2), 168-185.
87. Salvia, M. V., Ben Jrad, A., Raviglione, D., Zhou, Y. y Bertrand, C. (2018). Environmental Metabolic Footprinting (EMF) vs. half-life: a new and integrative proxy for the discrimination between control and pesticides exposed sediments in order to further characterise pesticides' environmental impact. *Environmental Science and Pollution Research International*, 25(30), 29841-29847.
88. Schmitz, A., Dempewolf, S., Tan, S., Bicker, G. y Stern, M. (2021). Developmental neurotoxicity of fipronil and rotenone on a human neuronal in vitro test system. *Neurotoxicity Research*, 39, 1189-1202. <https://doi.org/10.1007/s12640-021-00364-8>
89. Shamsayei, M., Yamini, Y., Asiabi, H., Rezazadeh, M. y Seidi, S. (2017). Electromembrane surrounded solid-phase microextraction using a stainless-steel wire coated with a nanocomposite composed of polypyrrole and manganese dioxide. *Microchimica Acta*, 184(8).
90. Silva, A. C., Borba, J. V., Alves, V. M., Hall, S. U. S., Furnham, N. y Kleinstreuer, N. (2021). Novel computational models offer alternatives to animal testing for assessing eye irritation and corrosion potential of chemicals. *Artif Intell Life Sci*, 1, 100028.
91. Silva, C. A., Silva-Zacarin, E. C. M., Domingues, C. E., Abdalla, F. C., Malaspina, O. y Nocelli, R. (2015). Fipronil effect on the frequency of anomalous brood in honeybee reared in vitro. *Julius-Kühn-Archiv*, (450).
92. Silva, L., Moreira, R. A., Pinto, T. J., Vanderlei, M. R., Athayde, D. B., Lopes, L., Ogura, A. P., Yoshii, M. P., Freitas, J. S., Montagner, C. C., Goulart, B. V., Schiesari, L., Daam, M. A. y Espíndola, E. L. (2021). Lethal and sublethal toxicity of pesticides and vinasse used in sugarcane cultivation to *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea: Cladocera). *Aquatic Toxicology*, 241, 106017. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.106017>
93. Sinclair, C. J. y Boxall, A. B. A. (2003). Assessing the ecotoxicity of pesticide transformation products. *Environmental Science and Technology*, 37(20), 4617-4625.
94. Sofalvi, S., Lavins, E. S., Kaspar, C. K., Michel, H. M., Mitchell-Mata, C. L., Huestis, M. A. y Apollonio, L. G. (2020). Development and validation of an LC-MS-MS method for the detection of 40 benzodiazepines and three Z-drugs in blood and urine by solid-phase extraction. *Journal of Analytical Toxicology*, 44(7), 708-717.
95. Song, N. E., Lee, J. Y., Mansur, A. R., Jang, H. W., Lim, M. C., Lee, Y., Yoo, M. y Nam, T. G. (2019). Determination of 60 pesticides in hen eggs using the QuEChERS procedure followed by LC-MS/MS and GC-MS/MS. *Food Chemistry*, 298, 125050. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125050>
96. Song, X., Wang, X., Liao, G., Pan, Y., Qian, Y. y Qiu, J. (2021). Toxic effects of fipronil and its metabolites on PC12 cell metabolism. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 224, 112677. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112677>

97. Soosaraei, M., Khasseh, A. A., Fakhar, M. y Hezarjaribi, H. Z. (2018). A decade bibliometric analysis of global research on leishmaniasis in Web of Science database. *Annals of Medicine and Surgery*, 26, 30-37.
98. Sousa, D. V., Pereira, F. V., Nascentes, C. C., Moreira, J. S., Boratto, V. H. y Orlando, R. M. (2020). Cellulose cone tip as a sorbent material for multiphase electrical field-assisted extraction of cocaine from saliva and determination by LC-MS/MS. *Talanta*, 208.
99. Speck-Planche, A., Kleandrova, V. V., Luan, F. y Cordeiro, M. N. (2012). Predicting multiple ecotoxicological profiles in agrochemical fungicides: a multi-species chemoinformatic approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80, 308-313.
100. Stefanelli, P. y Barbini, D. (2022). Advanced and Recent Approaches for Laboratory Methods of Pesticide Residues and Their Metabolites by Mass Spectrometry Techniques. *Pesticide Toxicology. Methods in Pharmacology and Toxicology*. Humana, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1928-5_1.
101. Stenberg, M. y Andersson, P. L. (2008). Selection of non-dioxin-like PCBs for in vitro testing on the basis of environmental abundance and molecular structure. *Chemosphere*, 71(10), 1909-1915.
102. Takata, M., Lin, B. L., Xue, M., Zushi, Y., Terada, A. y Hosomi, M. (2020). Predicting the acute ecotoxicity of chemical substances by machine learning using graph theory. *Chemosphere*, 238.
103. Truver, M. T., Jakobsson, G., Chermà, M. D., Swortwood, M. J., Gréen, H. y Kronstrand, R. (2021). A sensitive LC-MS/MS method for the quantitation of oxycodone, noroxycodone, 6 α -oxycodol, 6 β -oxycodol, oxymorphone, and noroxymorphone in human blood. *Journal of Chromatography B*, 1171, 122625. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122625>
104. Varela-Martínez, D. A., González-Curbelo, M. Á., González-Sálamo, J. y Hernández-Borges, J. (2019). High-throughput analysis of pesticides in minor tropical fruits from Colombia. *Food Chemistry*, 280, 221-230.
105. Viana, N. P., Menezes Da Silva, L. C., Portruneli, N., Soares, M. P., Cardoso, I. L., Bonansea, R. I., Veloso Goulart, B., Montagner, C. C., Gaeta Espíndola, E. L., Wunderlin, D. A. y Fernandes, M. N. (2022). Bioconcentration and toxicological impacts of fipronil and 2,4-D commercial formulations (single and in mixture) in the tropical fish, Danio rerio. *Environmental Science and Pollution Research International*, 29(8), 11685-11698.
106. Wu, H., Gao, C., Guo, Y., Zhang, Y., Zhang, J. y Ma, E. (2014). Acute toxicity and sublethal effects of fipronil on detoxification enzymes in juvenile zebrafish (Danio rerio). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 115, 9-14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.07.010>
107. Yi, F., Yang, P. y Sheng, H. (2016). Tracing the scientific outputs in the field of Ebola research based on publications in the Web of Science. *BMC Research Notes*, 9(221).
108. Yousefinejad, S. y Hemmateenejad, B. (2015). Chemometrics tools in QSAR/QSPS studies: a historical perspective. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 149.
109. Zainudin, B. H. y Salleh, S. (2017). Method development, optimization and validation of matrix hydration effect on pesticide residues in cocoa beans using modified QuEChERS method and gas chromatography tandem mass spectrometry. *Food Analytical Methods*, 10(2), 3874-3885.
110. Zhang, C., Cheng, F., Sun, L., Zhuang, S., Li, W., Liu, G., Lee, P. W. y Tang, Y. (2015). In silico prediction of chemical toxicity on avian species using chemical category approaches. *Chemosphere*, 122, 280-287.
111. Zhao, Y., Bai, X. L., Liu, Y. M. y Liao, X. (2021). Determination of fipronil and its metabolites in egg samples by UHPLC coupled with Q-Exactive high resolution mass spectrometry after magnetic solid-phase extraction. *Microchemical Journal*, 169, 106540. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106540>
112. Acero, C., & Machuca, D. (2021). The substitution program on trial: progress and setbacks of the peace agreement in the policy against illicit crops in Colombia. *International Journal of Drug Policy*, 89. <https://doi.org/10.1016/j.drugpo.2021.103158>

113. Arain, M. S., Hu, X. X., & Li, G. Q. (2014). Assessment of toxicity and potential risk of butene-fipronil using *Drosophila melanogaster*, in comparison to nine conventional insecticides. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92(2), 190–195. <https://doi.org/10.1007/s00128-013-1155-8>
114. Aria, M., & Cuccurullo, C. (2017). bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of Informetrics*, 11(4), 959–975. <https://doi.org/10.1016/j.joi.2017.08.007>
115. Asghari, A., Fahimi, E., Bazregar, M., Rajabi, M., & Boutorabi, L. (2017). Rapid determination of some psychotropic drugs in complex matrices by tandem dispersive liquid–liquid microextraction followed by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1052, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.03.012>
116. Atapattu, S. N., & Rosenfeld, J. M. (2013). Solid phase analytical derivatization as a sample preparation method. *Journal of Chromatography A*, 1296, 204–213. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.03.020>
117. Benigni, R. (2019). Towards quantitative read across: Prediction of Ames mutagenicity in a large database. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 108(June). <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2019.104434>
118. Benigni, R., & Bossa, C. (2008). Structure alerts for carcinogenicity, and the Salmonella assay system: A novel insight through the chemical relational databases technology. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 659(3), 248–261. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.05.003>
119. Biswas, S., Mondal, R., Mukherjee, A., Sarkar, M., & Koley, R. K. (2019). Simultaneous determination and risk assessment of fipronil and its metabolites in sugarcane, using GC-ECD and confirmation by GC-MS/MS. *Food Chemistry*, 272(July 2018), 559–567. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.087>
120. Bjørling-Poulsen, M., Andersen, H. R., & Grandjean, P. (2008). Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 7. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-7-50>
121. Blascke, D., Gomes, I., Fernando, B., & Anderson, M. (2019). Evaluation of the enantioselective in vitro metabolism of the chiral pesticide fipronil employing a human model: risk assessment through in vitro-in vivo correlation and prediction of toxicokinetic parameters. *Food and Chemical Toxicology*, 123, 225–232.
122. Borba, J. V. B., Alves, V. M., Braga, R. C., Korn, D. R., Overdahl, K., Silva, A. C., Hall, S. U. S., Overdahl, E., Kleinstreuer, N., Strickland, J., Allen, D., Andrade, C. H., Muratov, E. N., & Tropsha, A. (2022). SToxTox: An in Silico Alternative to Animal Testing for Acute Systemic and Topical Toxicity. *Environmental Health Perspectives*, 130(2), 1–12. <https://doi.org/10.1289/EHP9341>
123. Bovi, T. S., Zaluski, R., & Orsi, R. de O. (2018). Toxicity and motor changes in africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) exposed to fipronil and imidacloprid. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 90(1), 239–245. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820150191>
124. Bownik, A., & Szabelak, A. (2021). Short-term effects of pesticide fipronil on behavioral and physiological endpoints of *Daphnia magna*. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(25), 33254–33264. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13091-6>
125. Calster, B. Van, Steyerberg, E., Wynants, L., & Van Smeden, M. (2023). There is no such thing as a validated prediction model. *BMC Medicine*, 21(70). <https://doi.org/10.1016/j.jacr.2015.03.015>
126. Carnesecchi, E., Toma, C., Roncaglioni, A., Kramer, N., Benfenati, E., & Dorne, J. L. C. M. (2020). Integrating QSAR models predicting acute contact toxicity and mode of action profiling in honey bees (*A. mellifera*): Data curation using open source databases, performance testing and validation. *Science of the Total Environment*, 735, 139243. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139243>
127. Carrillo, M. P., Bovi, T. de S., Negrão, A. F., & Orsi, R. de O. (2013). Influência dos agroquímicos fipronil e imidaclopride no aprendizado de abelhas *Apis mellifera* L. *Acta Scientiarum - Animal Sciences*, 35(4), 431–434. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v35i4.18683>

128. Castilla-Fernández, D., Moreno-González, D., Murillo-Cruz, M. C. M. C., García-Reyes, J. F., & Molina-Díaz, A. (2021). Appraisal of different clean-up strategies for the determination of fipronil and its metabolites in eggs by UHPLC-MS/MS. *Microchemical Journal*, 166(March). <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106275>
129. Chaguri, J. L., Godinho, A. F., Horta, D. F., Gonçalves-Rizzi, V. H., Possomato-Vieira, J. S., Nascimento, R. A., & Dias-Junior, C. A. (2016). Exposure to fipronil elevates systolic blood pressure and disturbs related biomarkers in plasma of rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 42, 63–68. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.12.020>
130. Charalampous, A. C., Liapis, K. S., & Bempelou, E. D. (2019). Fipronil in eggs. Is LC-MS/MS the only option? A comparison study of LC-MS/MS and GC-ECD for the analysis of fipronil. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1129(October 2018), 121785. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.121785>
131. Chen, T., Hu, J., Chen, Y., Liu, Y., Li, Y., & Xu, H. (2022a). Tracking the environment fate of fipronil and three of its metabolites in garlic based on sampling rate-corrected in vivo solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 1190(339263).
132. Chen, T., Hu, J., Chen, Y., Liu, Y., Li, Y., & Xu, H. (2022b). Tracking the environmental fate of fipronil and three of its metabolites in garlic based on sampling rate-corrected in vivo solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 1190, 339263. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.339263>
133. Clara T. Lourenço, Stephan M. Carvalho, Osmar Malaspina, R. C. F. N. (2012). Determination of fipronil LD50 for the brazilian bee *Melipona scutellaris*. *Julius-Kühn-Archiv*, 437, 174–178. <https://doi.org/10.5073/jka.2012.437.046>
134. Cotterill, J., Price, N., Rorije, E., & Peijnenburg, A. (2020). Development of a QSAR model to predict hepatic steatosis using freely available machine learning tools. *Food and Chemical Toxicology*, 142(June). <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111494>
135. Cox, C., & Surgan, M. (2006). Unidentified inert ingredients in pesticides: Implications for human and environmental health. *Environmental Health Perspectives*, 114(12), 1803–1806. <https://doi.org/10.1289/ehp.9374>
136. De Barros, A. L., Rosa, J. L., Cavariani, M. M., Borges, C. S., Villela Silva, P., Bae, J. H., Anselmo-Franci, J. A., & Cristina Arena, A. (2016). In utero and lactational exposure to fipronil in female rats: Pregnancy outcomes and sexual development. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, 79(6), 266–273. <https://doi.org/10.1080/15287394.2016.1149132>
137. De Oliveira, P. R., Bechara, G. H., Denardi, S. E., Oliveira, R. J., & Mathias, M. I. C. (2012). Genotoxic and mutagenic effects of fipronil on mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(6), 569–573. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.11.015>
138. Duque, P., Meza, O. E., Giraldo, D., & Barreto, K. (2021). Economía Social y Economía Solidaria: un análisis bibliométrico y revisión de literatura. *REVESCO. Revista de Estudios Cooperativos*, 138(138), e75566. <https://doi.org/10.5209/reve.75566>
139. Eadie, A., Vásquez, I. C., Liang, X., Wang, X., Souders, C. L., Chehouri, J. El, Hoskote, R., Feswick, A., Cowie, A. M., Loughery, J. R., & Martyniuk, C. J. (2020). Transcriptome network data in larval zebrafish (*Danio rerio*) following exposure to the phenylpyrazole fipronil. *Data in Brief*, 33, 106413. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.106413>
140. Embry, M. R., Bachman, A. N., Bell, D. R., Boobis, A. R., Cohen, S. M., Dellarco, M., Dewhurst, I. C., Doerrer, N. G., Hines, R. N., Moretto, A., Pastoor, T. P., Phillips, R. D., Rowlands, J. C., Tanir, J. Y., Wolf, D. C., & Doe, J. E. (2014). Risk assessment in the 21st century: Roadmap and matrix. *Critical Reviews in Toxicology*, 44(SUPPL.3), 6–16. <https://doi.org/10.3109/10408444.2014.931924>
141. FAO. (1989). *Guidelines for legislation on the control of pesticides*.
142. Fulton, M. H., & Key, P. B. (2001). Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(1), 37–45. <https://doi.org/10.1002/etc.5620200104>

143. Gadaleta, D., Vuković, K., Toma, C., Lavado, G. J., Karmaus, A. L., Mansouri, K., Kleinstreuer, N. C., Benfenati, E., & Roncaglioni, A. (2019). SAR and QSAR modeling of a large collection of LD50 rat acute oral toxicity data. *Journal of Cheminformatics*, 11(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0383-2>
144. García-Vara, M., Postigo, C., Palma, P., & López de Alda, M. (2023). Development of QuEChERS-based multiresidue analytical methods to determine pesticides in corn, grapes and alfalfa. *Food Chemistry*, 405(May 2022). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134870>
145. Gomes, H. O., Cardoso, R. S., Nonato, C. F. A., Silva, V. P. A., Nobre, C. A., Costa, J. G. M., Teixeira, R. N. P., & Nascimento, R. F. (2022). Optimization and Validation of a Method Using GC–MS and QuEChERS for Pesticide Determination in Banana Pulp. *Food Analytical Methods*, 15(9), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02402-3>
146. González de Dios, J., Alonso-Arroyo, A., & Aleixandre-Benavent, R. (2019). Half a century of ANALES DE PEDIATRÍA. Evolution of its main bibliometric indicators in the Web of Science and Scopus international databases. In *Anales de Pediatría* (Vol. 90, Issue 3, pp. 194.e1–194.e11). <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2018.12.012>
147. Grande-Martínez, Á., Arrebola-Liébanas, F. J., Martínez-Vidal, J. L., Hernández-Torres, M. E., & Garrido-Frenich, A. (2015). Optimization and validation of a multiresidue pesticide method in rice and wheat flour by modified QuEChERS and GS-MS/MS. *Food Analytical Methods*, 9(2), 548–563. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0214-7>
148. Gross, J. H. (2017). *Mass Spectrometry. A textbook* (Third). Springer Berlin Heidelberg.
149. Guelfi, M. M., Tavares, M. A., Mingatto, F. E., & Maioli, M. A. (2015). Citotoxicity of fipronil on hepatocytes isolated from rat and effects of its biotransformation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58(6), 843–853. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132015060298>
150. Han, C., Hu, B., Li, Z., Liu, C., Wang, N., Fu, C., & Shen, Y. (2021). Determination of Fipronil and Four Metabolites in Foodstuffs of Animal Origin Using a Modified QuEChERS Method and GC–NCI–MS/MS. *Food Analytical Methods*, 14(2), 237–249. <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01872-7>
151. Herin, F., Boutet-Robinet, E., Levant, A., Dulaurent, S., Manika, M., Galatry-Bouju, F., Caron, P., & Soulat, J. M. (2011). Thyroid function tests in persons with occupational exposure to fipronil. *Thyroid*, 21(7), 701–706. <https://doi.org/10.1089/thy.2010.0449>
152. Herrmann, K., Holzwarth, A., Rime, S., Fischer, B. C., & Kneuer, C. (2020). (Q)SAR tools for the prediction of mutagenic properties: Are they ready for application in pesticide regulation? *Pest Management Science*, 76(10), 3316–3325. <https://doi.org/10.1002/ps.5828>
153. Hurtado-Marín, V. A., Agudelo-Giraldo, J. D., Robledo, S., & Restrepo-Parra, E. (2021). Analysis of dynamic networks based on the Ising model for the case of study of co-authorship of scientific articles. *Scientific Reports*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85041-8>
154. Hyötyläinen, T., & Wiedmer, S. (2013). *Chromatographic Methods in Metabolomics* (18th ed.). RSCPublishing.
155. Idrovo, A. J. (2004). Plaguicidas usados en la Fumigación de Cultivos Ilícitos y Salud Humana: ¿una Cuestión de Ciencia o Política? *Rev. Salud Pública*, 6(2), 199–211.
156. Ivanciuc, T., Ivanciuc, O., & J. Klein, D. (2012). Network-QSAR with Reaction Poset Quantitative Superstructure-Activity Relationships (QSSAR) for PCB Chromatographic Properties. *Current Bioinformatics*, 6(1), 25–34. <https://doi.org/10.2174/157489311795222310>
157. Jiménez Noblejas, C., & Perianes Rodríguez, A. (2014). Recuperación y visualización de información en Web of Science y Scopus: una aproximación práctica. In *Investigación Bibliotecológica: Archivonomía, Bibliotecología e Información* (Vol. 28, Issue 64, pp. 15–31). [https://doi.org/10.1016/s0187-358x\(14\)70907-4](https://doi.org/10.1016/s0187-358x(14)70907-4)
158. Katchanov, Y. L., Markova, Y. V., & Shmatko, N. A. (2019). Comparing the topological rank of journals in Web of Science and Mendeley. In *Heliyon* (Vol. 5, Issue 7). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02089>

159. Kennedy, M. C., Hart, A. D. M., Kruisselbrink, J. W., van Lenthe, M., de Boer, W. J., van der Voet, H., Rorije, E., Sprong, C., & van Klaveren, J. (2020). A retain and refine approach to cumulative risk assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 138(October 2019). <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111223>
160. Komsta, L., Heyden, Y. Vander, & Sherma, J. (2018). *Chemometrics in chromatography*. CRC press.
161. Kovacic, P., & Osuna Jr., J. (2005). Mechanisms of carcinogenesis: focus on Oxidative Stress and Electron Transfer. *Current Pharmaceutical Design*, 6(3), 277–309. <https://doi.org/10.2174/1381612003401046>
162. Krogh, K. A., Halling-Sørensen, B., Mogensen, B. B., & Vejrup, K. V. (2003). Environmental properties and effects of nonionic surfactant adjuvants in pesticides: A review. *Chemosphere*, 50(7), 871–901. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00648-3](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00648-3)
163. Lankadurai, B. P., Nagato, E. G., & Simpson, M. J. (2013). Environmental metabolomics: An emerging approach to study organism responses to environmental stressors. *Environmental Reviews*, 21(3), 180–205. <https://doi.org/10.1139/er-2013-0011>
164. Lao, W. (2021). Fiproles as a proxy for ecological risk assessment of mixture of fipronil and its degradates in effluent-dominated surface waters. *Water Research*, 188, 116510. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116510>
165. Lautz, L. S., Stoopen, G., Ginting, A. J., Hoogenboom, R., & Punt, A. (2022). Fipronil and fipronil sulfone in chicken: from in vitro experiments to in vivo PBK model predictions. *Food and Chemical Toxicology*, 165, 113086.
166. Lévêque, L., Tahiri, N., Goldsmith, M.-R., & Verner, M.-A. (2022). Quantitative Structure-Activity relationship (QSAR) modeling to predict the transfer of environmental chemicals across the placenta. *Computational Toxicology*, 21(100211).
167. Li, P., Duan, Y., Ge, H., Zhang, Y., & Wu, X. (2018). Multiresidue Analysis of 113 Pesticides in Different Maturity Levels of Mangoes Using an Optimized QuEChERS Method with GC-MS/MS and UHPLC-MS/MS. *Food Analytical Methods*, 11(10), 2742–2757. <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1263-5>
168. Li, Q., Zhang, J., Lin, T., Fan, C., Li, Y., Zhang, Z., & Li, J. (2023). Migration behavior and dietary exposure risk assessment of pesticides residues in honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.) based on modified QuEChERS method coupled with tandem mass spectrometry. *Food Research International*, 166(February). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112572>
169. Li, X., Li, H., Ma, W., Guo, Z., Li, X., Song, S., Tang, H., Li, X., & Zhang, Q. (2019). Development of precise GC-EI-MS method to determine the residual fipronil and its metabolites in chicken egg. *Food Chemistry*, 281(18), 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.041>
170. Li, X., Ma, W., Li, H., Zhang, Q., & Ma, Z. (2020). Determination of residual fipronil and its metabolites in food samples: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 97(January), 185–195. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.018>
171. Maddadi, S., Qomi, M., & Rajabi, M. (2017). Extraction, preconcentration, and determination of methylphenidate in urine sample using solvent bar microextraction in combination with HPLC-UV: Optimization by experimental design. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 40(15), 806–812. <https://doi.org/10.1080/10826076.2017.1369994>
172. Mandal, S., Poi, R., Ansary, I., Hazra, D. K., Bhattacharyya, S., & Karmakar, R. (2020). Validation of a modified QuEChERS method to determine multiclass multipesticide residues in apple, banana and guava using GC-MS and LC-MS/MS and its application in real sample analysis. *SN Applied Sciences*, 2(2), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-1990-2>
173. Martin, M. T., Judson, R. S., Reif, D. M., Kavlock, R. J., & Dix, D. J. (2009). Profiling chemicals based on chronic toxicity results from the U.S. EPA ToxRef database. *Environmental Health Perspectives*, 117(3), 392–399. <https://doi.org/10.1289/ehp.0800074>

174. Martin, M. T., Mendez, E., Corum, D. G., Judson, R. S., Kavlock, R. J., Rotroff, D. M., & Dix, D. J. (2009). Profiling the reproductive toxicity of chemicals from multigeneration studies in the toxicity reference database. *Toxicological Sciences*, 110(1), 181–190. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfp080>
175. Marzo, M., Lavado, G. J., Como, F., Toropova, A. P., Toropov, A. A., Baderna, D., Cappelli, C., Lombardo, A., Toma, C., Blázquez, M., & Benfenati, E. (2020). QSAR models for biocides: The example of the prediction of *Daphnia magna* acute toxicity. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 31(3), 227–243. <https://doi.org/10.1080/1062936X.2019.1709221>
176. McMahan, R. L., Strynar, M. J., Dagnino, S., Herr, D. W., Virginia, C., Garantziotis, S., Andersen, E. M., Freeborn, D. L., Mcmillan, L., Lindstrom, A. B., Exposure, N., States, U., Environmental, S., Agency, P., Exposure, N., States, U., Environmental, S., Agency, P., Health, N., ... States, U. (2017). Identification of fipronil metabolites by time-of-flight mass spectrometry for application in a human exposure study. *Environ Int.*, 78, 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.01.016>. Identification
177. Milam, C. D., Farris, J. L., & Wilhide, J. D. (2000). Evaluating mosquito control pesticides for effect on target and nontarget organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39(3), 324–328. <https://doi.org/10.1007/s002440010111>
178. Mohamed, F., Senarathna, L., Percy, A., Abeyewardene, M., Cheng, R., Azher, S., Hittarage, A., & Dissanayake, W. (2004). Acute Human Self-Poisoning with the N-Phenylpyrazole Insecticide Fipronil – A GABA A -Gated Chloride Channel Blocker. *J Toxicol Clin Toxicol*, 42(7), 955–963.
179. Moreira-Filho, J. T., Braga, R. C., Lemos, J. M., Alves, V. M., Borba, J. V. V. B., Costa, W. S., Kleinstreuer, N., Muratov, E. N., Andrade, C. H., & Neves, B.J. (2021). BeeToxAI: An artificial intelligence-based web app to assess acute toxicity of chemicals to honey bees. *Artificial Intelligence in the Life Sciences*, 1(November), 100013. <https://doi.org/10.1016/j.ailsci.2021.100013>
180. Moretto, A., Bachman, A., Boobis, A., Solomon, K. R., Pastoor, T. P., Wilks, M. F., & Embry, M. R. (2017). A framework for cumulative risk assessment in the 21st century. *Critical Reviews in Toxicology*, 47(2), 85–97. <https://doi.org/10.1080/10408444.2016.1211618>
181. Mukherjee, A., Mondal, R., Biswas, S., Saha, S., Ghosh, S., & Kole, R. K. (2021). Dissipation behaviour and risk assessment of fipronil and its metabolites in paddy ecosystem using GC-ECD and confirmation by GC-MS/MS. *Heliyon*, 7(5), e06889. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06889>
182. Nazario, C. E. D., Fumes, B. H., da Silva, M. R., & Lanças, F. M. (2017). New materials for sample preparation techniques in bioanalysis. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1043, 81–95. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.10.041>
183. Oakes, D. J., & Pollak, J. K. (2000). The in vitro evaluation of the toxicities of three related herbicide formulations containing ester derivatives of 2,4,5-T and 2,4-D using sub-mitochondrial particles. *Toxicology*, 151(1–3), 1–9. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00244-4](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00244-4)
184. Ou, Y., Yan, Z., Shi, G., Yu, Z., Cai, Y., & Ma, R. (2022). Enantioselective toxicity, degradation and transformation of the chiral insecticide fipronil in two algae culture. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 235(December 2021), 113424. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113424>
185. Paris, L., Roussel, M., Pereira, B., Delbac, F., & Diogon, M. (2017). Disruption of oxidative balance in the gut of the western honeybee *Apis mellifera* exposed to the intracellular parasite *Nosema ceranae* and to the insecticide fipronil. *Microbial Biotechnology*, 10(6), 1702–1717. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12772>
186. Patil, C., Calvayrac, C., Zhou, Y., Romdhane, S., Salvia, M. V., Cooper, J. F., Dayan, F. E., & Bertrand, C. (2016). Environmental Metabolic Footprinting: A novel application to study the impact of a natural and a synthetic β -triketone herbicide in soil. *Science of the Total Environment*, 566–567, 552–558. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.071>
187. Pereira, J. L., Antunes, S. C., Castro, B. B., Marques, C. R., Gonçalves, A. M. M., Gonçalves, F., & Pereira, R. (2009). Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: Commercial formulation versus active ingredient. *Ecotoxicology*, 18(4), 455–463. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0300-y>

188. Pfaff, J., Reinwald, H., Ayobahan, S. U., Alvincz, J., Göckener, B., Shomroni, O., Salinas, G., Düring, R. A., Schäfers, C., & Eilebrecht, S. (2021). Toxicogenomic differentiation of functional responses to fipronil and imidacloprid in *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 238(February). <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105927>
189. Pinto, T. J. da S., Rocha, G. S., Moreira, R. A., da Silva, L. C. M., Yoshii, M. P. C., Goulart, B. V., Montagner, C. C., Daam, M. A., & Espindola, E. L. G. (2022). Chronic environmentally relevant levels of pesticides disrupt energy reserves, feeding rates, and life-cycle responses in the amphipod *Hyaella meinerti*. *Aquatic Toxicology*, 245(September 2021). <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2022.106117>
190. Portruneli, N., Bonansea, R. I., Valdés, M. E., da Silva, L. C. M., Viana, N. P., Goulart, B. V., Souza, I. da C., Espindola, E. L. G., Montagner, C. C., Wunderlin, D. A., & Fernandes, M. N. (2021). Whole-body bioconcentration and biochemical and morphological responses of gills of the neotropical fish *Prochilodus lineatus* exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid or fipronil individually or in a mixture. *Aquatic Toxicology*, 240(September). <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105987>
191. Putri, S. P., & Fukusaki, E. (2015). *Mass Spectrometry-Based Metabolomics. A practical guide*. CRC Press.
192. Qu, H., Ma, R. xue, Liu, D. hui, Jing, X., Wang, F., Zhou, Z. qiang, & Wang, P. (2016). The toxicity, bioaccumulation, elimination, conversion of the enantiomers of fipronil in *Anodonta woodiana*. *Journal of Hazardous Materials*, 312, 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.03.063>
193. Raitano, G., Goi, D., Pieri, V., Passoni, A., Mattiussi, M., Lutman, A., Romeo, I., Manganaro, A., Marzo, M., Porta, N., Baderna, D., Colombo, A., Aneggi, E., Natolino, F., Lodi, M., Bagnati, R., & Benfenati, E. (2018). (Eco)toxicological maps: A new risk assessment method integrating traditional and in silico tools and its application in the Ledra River (Italy). *Environment International*, 119(June), 275–286. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.06.035>
194. Richardson, J. R., Fitsanakis, V., Westerink, R. H. S., & Kanthasamy, A. G. (2019). Neurotoxicity of pesticides. *Acta Neuropathologica*, 138(3), 343–362. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-02033-9>
195. Roberts, D. W., Aptula, A., Schultz, T. W., Shen, J., Api, A. M., Bhatia, S., & Kromidas, L. (2015). A practical guidance for Cramer class determination. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(3), 971–984. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.017>
196. Ruiz, P., Sack, A., Wampole, M., Bobst, S., & Vracko, M. (2017). Integration of in silico methods and computational systems biology to explore endocrine-disrupting chemical binding with nuclear hormone receptors. *Chemosphere*, 178, 99–109. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.026>
197. Salcedo, A., & Melo, O. (2005). Evaluación del uso de plaguicidas en la actividad agrícola del departamento de Putumayo. *Rev. Cienc. Salud.*, 3(2), 168–185.
198. Salvia, M. V., Ben Jrad, A., Raviglione, D., Zhou, Y., & Bertrand, C. (2018). Environmental Metabolic Footprinting (EMF) vs. half-life: a new and integrative proxy for the discrimination between control and pesticides exposed sediments in order to further characterise pesticides' environmental impact. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(30), 29841–29847. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9600-6>
199. Schmitz, A., Dempewolf, S., Tan, S., Bicker, G., & Stern, M. (2021). Developmental Neurotoxicity of Fipronil and Rotenone on a Human Neuronal In Vitro Test System. *Neurotoxicity Research*, 39(4), 1189–1202. <https://doi.org/10.1007/s12640-021-00364-8>
200. Shamsayei, M., Yamini, Y., Asiabi, H., Rezazadeh, M., & Seidi, S. (2017). Electromembrane surrounded solid-phase microextraction using a stainless-steel wire coated with a nanocomposite composed of polypyrrole and manganese dioxide. *Microchimica Acta*, 184(8), 2697–2705. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2244-x>
201. Silva, A. C., Borba, J. V. V. B., Alves, V. M., Hall, S. U. S., Furnham, N., Kleinstreuer, N., Muratov, E., Tropsha, A., & Andrade, C. H. (2021). Novel computational models offer alternatives to animal testing for assessing eye irritation and corrosion potential of chemicals. *Artificial Intelligence in the Life Sciences*, 1, 100028. <https://doi.org/10.1016/j.ailsci.2021.100028>

202. Silva, Carina Aparecida de Souza, Silva-Zacarin, Elaine Cristina Mathias, Domingues, Caio Eduardo da Costa, Abdalla, Fabio, Malaspina, Osmar, N. R. C. F., & Nocelli. (2015). Fipronil effect on the frequency of anomalous brood in honeybee reared in vitro. *Julius-Kühn-Archiv*, 0(450), 140.
203. Silva, L. C. M., Moreira, R. A., Pinto, T. J. S., Vanderlei, M. R., Athayde, D. B., Lopes, L. F. P., Ogura, A. P., Yoshii, M. P. C., Freitas, J. S., Montagner, C. C., Goulart, B. V., Schiesari, L., Daam, M. A., & Espíndola, E. L. G. (2021). Lethal and sublethal toxicity of pesticides and vinasse used in sugarcane cultivation to *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea: Cladocera). *Aquatic Toxicology*, 241(November), 106017. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.106017>
204. Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J. M., Chagnon, M., Downs, C., Furlan, L., Gibbons, D. W., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreutzweiser, D. P., Krupke, C. H., Liess, M., Long, E., Mcfield, M., Mineau, P., Mitchell, E. A., Morrissey, C. A., ... Wiemers, M. (2015). Systemic insecticides (Neonicotinoids and fipronil): Trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 5–34. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3470-y>
205. Sinclair, C. J., & Boxall, A. B. A. (2003). Assessing the ecotoxicity of pesticide transformation products. *Environmental Science and Technology*, 37(20), 4617–4625. <https://doi.org/10.1021/es030038m>
206. Sofalvi, S., Lavins, E. S., Kaspar, C. K., Michel, H. M., Mitchell-Mata, C. L., Huestis, M. A., & Apollonio, L. G. (2020). Development and validation of an LC-MS-MS method for the detection of 40 benzodiazepines and three Z-drugs in blood and urine by solid-phase extraction. *Journal of Analytical Toxicology*, 44(7), 708–717. <https://doi.org/10.1093/jat/bkaa072>
207. Song, N. E., Lee, J. Y., Mansur, A. R., Jang, H. W., Lim, M. C., Lee, Y., Yoo, M., & Nam, T. G. (2019). Determination of 60 pesticides in hen eggs using the QuEChERS procedure followed by LC-MS/MS and GC-MS/MS. *Food Chemistry*, 298(June), 125050. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125050>
208. Song, X., Wang, X., Liao, G., Pan, Y., Qian, Y., & Qiu, J. (2021a). Toxic effects of fipronil and its metabolites on PC12 cell metabolism. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 224, 112677. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112677>
209. Song, X., Wang, X., Liao, G., Pan, Y., Qian, Y., & Qiu, J. (2021b). Toxic effects of fipronil and its metabolites on PC12 cell metabolism. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 224(112677).
210. Soosaraei, M., Khasseh, A. A., Fakhar, M., & Hezarjaribi, H. Z. (2018). A decade bibliometric analysis of global research on leishmaniasis in Web of Science database. In *Annals of Medicine and Surgery* (Vol. 26, pp. 30–37). <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2017.12.014>
211. Sousa, D. V. M., Pereira, F. V., Nascentes, C. C., Moreira, J. S., Boratto, V. H. M., & Orlando, R. M. (2020). Cellulose cone tip as a sorbent material for multiphase electrical field-assisted extraction of cocaine from saliva and determination by LC-MS/MS. *Talanta*, 208(September 2019). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120353>
212. Speck-Planche, A., Kleandrova, V. V., Luan, F., & Cordeiro, M. N. D. S. (2012). Predicting multiple ecotoxicological profiles in agrochemical fungicides: A multi-species chemoinformatic approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80, 308–313. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.03.018>
213. Stefanelli, P., & Barbini, D. (2022). *Pesticide Toxicology. Methods in Pharmacology and Toxicology* (E. Gallardo & M. Barroso, Eds.). Springer Protocols. <https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1928-5>
214. Stenberg, M., & Andersson, P. L. (2008). Selection of non-dioxin-like PCBs for in vitro testing on the basis of environmental abundance and molecular structure. *Chemosphere*, 71(10), 1909–1915. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.01.007>
215. Takata, M., Lin, B. Le, Xue, M., Zushi, Y., Terada, A., & Hosomi, M. (2020). Predicting the acute ecotoxicity of chemical substances by machine learning using graph theory. *Chemosphere*, 238, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124604>

216. Truver, M. T., Jakobsson, G., Chermà, M. D., Swortwood, M. J., Gréen, H., & Kronstrand, R. (2021). A sensitive LC-MS/MS method for the quantitation of oxycodone, noroxycodone, 6 α -oxycodol, 6 β -oxycodol, oxymorphone, and noroxymorphone in human blood. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1171, 122625. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122625>
217. Varela-Martínez, D. A., González-Curbelo, M. Á., González-Sálamo, J., & Hernández-Borges, J. (2019). High-throughput analysis of pesticides in minor tropical fruits from Colombia. *Food Chemistry*, 280(November 2018), 221–230. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.045>
218. Viana, N. P., da Silva, L. C. M., Portruneli, N., Soares, M. P., Cardoso, I. L., Bonansea, R. I., Goulart, B. V., Montagner, C. C., Espíndola, E. L. G., Wunderlin, D. A., & Fernandes, M. N. (2022). Bioconcentration and toxicological impacts of fipronil and 2,4-D commercial formulations (single and in mixture) in the tropical fish, *Danio rerio*. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(8), 11685–11698. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16352-6>
219. Wu, H., Gao, C., Guo, Y., Zhang, Y., Zhang, J., & Ma, E. (2014). Acute toxicity and sublethal effects of fipronil on detoxification enzymes in juvenile zebrafish (*Danio rerio*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 115, 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.07.010>
220. Yi, F., Yang, P., & Sheng, H. (2016). Tracing the scientific outputs in the field of Ebola research based on publications in the Web of Science. In *BMC Research Notes* (Vol. 9, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/s13104-016-2026-2>
221. Yousefinejad, S., & Hemmateenejad, B. (2015). Chemometrics tools in QSAR/QSPS studies: A historical perspective. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 149, 117–204.
222. Zainudin, B. H., & Salleh, S. (2017). Method Development, Optimization and Validation of Matrix Hydration Effect on Pesticide Residues in Cocoa Beans Using Modified QuEChERS Method and Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Food Analytical Methods*, 10(12), 3874–3885. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-0954-7>
223. Zhang, C., Cheng, F., Sun, L., Zhuang, S., Li, W., Liu, G., Lee, P. W., & Tang, Y. (2015). In silico prediction of chemical toxicity on avian species using chemical category approaches. *Chemosphere*, 122, 280–287. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.12.001>
224. Zhao, Y., Bai, X. L., Liu, Y. M., & Liao, X. (2021). Determination of fipronil and its metabolites in egg samples by UHPLC coupled with Q-Exactive high resolution mass spectrometry after magnetic solid-phase extraction. *Microchemical Journal*, 169(May), 106540. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106540>