

FÁRMACOS NO MEIO AMBIENTE

Daniele Maia Bila e Márcia Dezotti*

COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, 21945-970 Rio de Janeiro - RJ

Recebido em 29/4/02; aceito em 3/2/03

PHARMACEUTICAL DRUGS IN THE ENVIRONMENT. Pharmaceutical drugs have been detected in sewage treatment plants, surface waters, underground waters and potable waters. Some investigations have been conducted in several countries such as Germany, Brazil, Canada, United States, The Netherlands, England and Italy. Patients and animals excrete part of pharmaceuticals used for human and veterinary medicine after administration in domestic sewage or on the soil. Drugs residues which have not been completely removed during passage through a sewage treatment plant (STP) enter the aquatic environment. The effects of such residual drugs in terrestrial and aquatic organisms are scarcely known.

Keywords: pharmaceutical drugs; water pollution; environment fate.

INTRODUÇÃO

Recentemente, o monitoramento de fármacos residuais no meio ambiente vem ganhando grande interesse devido ao fato de muitas dessas substâncias serem freqüentemente encontradas em efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) e águas naturais, em concentrações na faixa de $\mu\text{g/L}$ e ng/L . Stumpf *et al.*¹ relataram em seu estudo que a presença de fármacos residuais em águas superficiais pode ser um indicativo de contaminação por esgoto das ETEs.

Após a administração, uma parte significativa dos fármacos é excretada por humanos no esgoto doméstico. Estudos demonstram que várias dessas substâncias parecem ser persistentes no meio ambiente e não são completamente removidas nas ETEs¹⁻³. Sendo assim, muitos fármacos residuais resistem a vários processos de tratamento convencional de água.

Em todo mundo, fármacos, tais como, antibióticos^{4,7-10}, hormônios^{2,11-15}, anestésicos^{1,2,6,16}, antilipêmicos^{1,2,6}, meios de contraste de raios-X¹⁷⁻¹⁹, antiinflamatórios^{1,2,20-22} entre outros, foram detectados no esgoto doméstico, em águas superficiais e de subsolo. Na Alemanha, 18 antibióticos foram identificados em efluentes de ETEs e águas superficiais por Hirsch *et al.*⁸. Ternes *et al.*^{3,12} detectaram estrogênios em concentrações na ordem de $\mu\text{g/L}$ em efluentes de ETEs. O ácido clofibrico, um metabólico de três antilipêmicos, foi identificado em rios, águas de subsolo e água potável na Alemanha, em concentrações na faixa de $\mu\text{g/L}$ por Sacher *et al.*⁶ e Ternes².

Os fármacos são desenvolvidos para serem persistentes, mantendo suas propriedades químicas o bastante para servir a um propósito terapêutico. Porém, segundo Mulroy⁵, 50% a 90% de uma dosagem do fármaco é excretado inalterado e persiste no meio ambiente. O uso desenfreado de antibióticos acarreta dois problemas ambientais: um, é a contaminação dos recursos hídricos e o outro, é que alguns microorganismos criam resistência a esses fármacos. As bactérias podem fazer, e freqüentemente o fazem, mudanças no seu material genético, adquirindo resistência aos fármacos. Assim, uma bactéria presente em um rio que contenha traços de antibióticos pode adquirir resistência a essas substâncias²³.

De acordo com Kummerer²⁴ alguns grupos de fármacos residuais merecem uma atenção especial, dentre eles estão os antibióticos

e os estrogênios. Os antibióticos têm sido amplamente discutidos na literatura, devido ao seu potencial de desenvolvimento de bactérias resistentes no meio ambiente^{23,25-28} e por serem usados em grandes quantidades, tanto na medicina humana, quanto na medicina veterinária (crescimento do gado, na aquicultura e produção avícola e suína)²⁹⁻³¹.

A importância dos estrogênios reside no seu potencial de afetar adversamente o sistema reprodutivo de organismos aquáticos como, por exemplo, a feminização de peixes machos presentes em rios contaminados com descarte de efluentes de ETEs³²⁻³⁷.

A presença desses fármacos residuais na água pode causar efeitos adversos na saúde, seja humana ou de outros organismos presentes nas águas, como os peixes. Os efeitos causados no sistema reprodutivo de organismos aquáticos são demonstrados em alguns estudos^{33,36,37}. Kang *et al.*³⁶ e Gimeno *et al.*³⁷ examinaram o efeito do estrogênio natural 17 β -estradiol no sistema reprodutor dos peixes. Sumpter³³ descreve a feminização de peixes machos expostos a estrogênios lançados nos rios através dos efluentes de ETE.

Atualmente, existe uma preocupação no desenvolvimento de métodos analíticos suficientemente sensíveis na determinação dos fármacos residuais em ambientes aquáticos, com limites de detecção na ordem de $\mu\text{g/L}$ e ng/L ^{4,6,7,38}.

OCORRÊNCIA DE FÁRMACOS EM AMBIENTES AQUÁTICOS

Algumas toneladas de medicamentos são produzidas por ano e aplicadas na medicina humana e veterinária. Geralmente, a produção exata não é publicada na literatura.

A ocorrência de fármacos residuais no esgoto doméstico e águas naturais é um importante tópico internacional. Estudos demonstram que esses fármacos e seus metabólitos estão presentes em ambientes aquáticos em várias partes do mundo, como Alemanha^{3,4,6,10,12,18}, Brasil^{11,3}, Canadá^{3,21}, Holanda¹³, Inglaterra¹⁴, Itália^{13,15}, Suécia^{16,20,39}, Estados Unidos⁹ e Reino Unido⁴⁰.

Kolpin *et al.*⁹ detectaram antibióticos, como tetraciclina (oxitetraciclina, tetraciclina e clorotetraciclina), sulfonamidas (sulfadimetoxina, sulfametazina, e sulfametoxazol), macrolídeos (roxitromicina, claritromicina), fluoroquinolonas (ciprofloxacina, norfloxacina), lincomicina, trimetoprim e tilosina, em amostras de águas superficiais nos Estados Unidos.

*e-mail: mdezotti@peq.coppe.ufrj.br

Sacher *et al.*⁶ reportaram a ocorrência de sulfametoxazol em amostras de águas de subsolo na Alemanha. Roxitrocina, trimetoprim e sulfametoxazol foram detectados em concentrações na faixa de $\mu\text{g/L}$ em efluentes de ETE e águas superficiais na Alemanha por Hirsch *et al.*⁸. Hartig *et al.*¹⁰ detectaram antibióticos sulfonamidas (sulfadiazina, sulfametoxazol) em águas superficiais e efluentes de ETE na Alemanha.

Tanto os estrogênios naturais (estrona e 17β -estradiol), como o sintético (17α -etinilestradiol) foram detectados em esgoto doméstico e efluentes de ETE em várias investigações. Ternes *et al.*³ identificaram a presença de vários estrogênios no esgoto doméstico e efluentes de ETE na Alemanha, Brasil e Canadá. Concluíram que esses estrogênios são freqüentemente detectados nos descartes de ETE e águas naturais devido à sua remoção incompleta na passagem pela ETE.

Investigações sobre a contaminação de diferentes ambientes aquáticos por fármacos residuais revelam que esses contaminantes estão presentes em faixas de concentrações de $\mu\text{g/L}$ e ng/L . A Tabela 1 apresenta um resumo das concentrações médias de fármacos detectados no meio ambiente.

Fármacos residuais monitorados no Brasil

Em 1997, antilipêmicos, antiinflamatórios e alguns metabólitos foram detectados em esgoto, em efluente de ETE e em águas de rios no estado do Rio de Janeiro por Stumpf *et al.*¹. A concentração média, nos efluentes da ETE, da maioria dos fármacos investigados esteve na faixa de 0,1 a 1,0 $\mu\text{g/L}$. Nos rios, as concentrações médias situaram-se entre 0,02 e 0,04 $\mu\text{g/L}$, como consequência da remoção incompleta dos fármacos durante sua passagem pela ETE e pelo descarte de esgoto *in natura*. A taxa de remoção de fármacos individuais durante a passagem pela ETE variou de 12 a 90%.

Em outro estudo também relacionado ao Brasil, realizado por Ternes *et al.*³ em 1997, foram encontrados estrogênios naturais e contraceptivos sintéticos na ETE da Penha/RJ. Em esgoto bruto, os estrogênios 17β -estradiol e estrona foram detectados nas concentrações de 0,021 $\mu\text{g/L}$ e 0,04 $\mu\text{g/L}$, respectivamente. As taxas de remoção de estrona observadas foram de 67% para o efluente tratado em filtro biológico e 83% para o efluente tratado pelo processo de lodos ativados. Para o 17β -estradiol, estas taxas foram de 92 e 99,9% para o efluente tratado em filtro biológico e para o efluente tratado pelo processo de lodos ativados, respectivamente. Para o estrogênio contraceptivo 17α -etinilestradiol, as taxas de remoção na ETE foram de 64 e 78% para o efluente do filtro biológico e para o efluente do tanque de lodo ativado.

DESTINO DOS FÁRMACOS NO MEIO AMBIENTE

Geralmente, os fármacos são absorvidos pelo organismo e estão sujeitos a reações metabólicas. Entretanto, uma quantidade significativa dessas substâncias originais e seus metabólitos são excretados na urina, fezes ou esterco animal, sendo freqüentemente encontrados no esgoto doméstico.

De acordo com Richardson *et al.*⁴¹, nas ETEs há três destinos possíveis para qualquer fármaco individual:

1. pode ser biodegradável, ou seja, mineralizado a gás carbônico e água, como por exemplo, o ácido acetilsalicílico;
2. pode passar por algum processo metabólico ou ser degradado parcialmente, como as penicilinas;
3. pode ser persistente como o clofibrato, que é um antilipêmicos.

Pouco se conhece sobre as rotas dos fármacos no meio ambiente. A Figura 1 apresenta um esquema que sugere possíveis caminhos para os fármacos, quando descartado no meio ambiente^{8,42-44}.

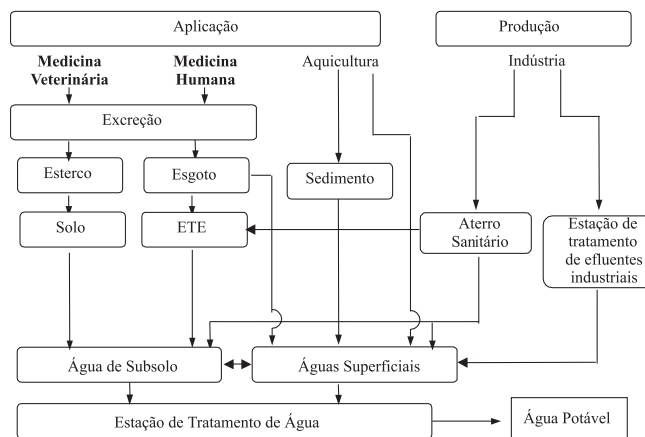


Figura 1. Possíveis rotas de fármacos no meio ambiente

Um caminho de fármacos residuais no ambiente aquático pode ser devido ao esterco ser usado como fertilizantes e, dessa forma, ocorre a contaminação das águas de subsolo. Outra contaminação pode ser devido ao uso do lodo digestivo proveniente das ETEs na agricultura.

Os antibióticos são usados como promotores de crescimento na produção de gado, na produção avícola e são intensivamente usados como aditivos de alimento de peixe na aquicultura e criação de porcos²⁹⁻³¹. Sendo assim, podem contaminar o solo, águas de subsolo e superficiais. Devido ao uso na cultura de peixes, alguns antibióticos como o cloranfenicol e o oxitetraciclina são detectados em sedimentos de origem marinha^{45,46}.

Uma outra fonte de contaminação ambiental que tem sido observada é consequente da disposição de resíduos provenientes de indústrias farmacêuticas em aterros sanitários, contaminando as águas de subsolo nas cercanias do aterro.

POSSÍVEIS EFEITOS DE FÁRMACOS NO MEIO AMBIENTE

A ocorrência de fármacos residuais no meio ambiente pode apresentar efeitos adversos em organismos aquáticos e terrestres. O efeito pode ser em qualquer nível da hierarquia biológica: célula - órgãos - organismo - população - ecossistema. De acordo com Jorgensen *et al.*⁴³, alguns desses efeitos podem ser observados em concentrações na ordem de ng/L . Pouco é conhecido sobre o destino e o comportamento dessas substâncias no ambiente aquático, assim como não está claro quais organismos são afetados e em que grau.

Os antibióticos têm diferentes efeitos sobre o meio ambiente, e um deles é a contribuição no desenvolvimento de bactérias resistentes, assunto que tem sido largamente discutido^{27,28,47-53}. Segundo Jorgensen *et al.*⁴², há indícios de que o desenvolvimento de resistência antibiótica é favorecido por baixas concentrações.

Miranda *et al.*²⁸ investigaram a incidência de resistência microbiana em uma espécie de *Aeromonas* isolada de ambientes aquáticos, constatando que a resistência ocorreu com vários antibióticos testados, dentre esses, cloranfenicol, trimetoprim, sulfametoxazol e tetraciclina.

Kolár *et al.*⁴⁸ avaliaram o desenvolvimento da resistência bacteriana aos antibióticos usados em hospitais, os quais são poderosos focos de desenvolvimento de resistência bacteriana. Mckee *et al.*²⁷ constataram a resistência bacteriana da espécie *Escherichia coli*, isolada de águas de subsolo de uma região rural, frente a 16 antibióticos.

Tabela 1. Concentrações médias de fármacos detectados no meio ambiente

Substâncias	Classe das Substâncias	Concentrações médias no ambiente	Condições	Referência
Ácido Acetilsalicílico	Analgésico	0,22 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	2
Ácido Clofibrato	Maior metabólico de 3 antilipêmicos	0,36 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	2
		0,066 µg/L	Água superficial/Alemanha	2
		1,0 µg/L	Esgoto doméstico/Brasil	1
		0,02 a 0,03 µg/L	Água superficial/Brasil	1
		0,049 µg/L	Água superficial/Canadá	21
		0,01 – 18 ng/L	Água superficial/Mar do Norte	22
Ácido Fenofibrato	Maior metabólico de 3 antilipêmicos	0,38 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	2
		0,45 µg/L	Água superficial/Alemanha	2
Betaxolol	β-bloqueador	0,057 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	2
Bisoprolol	β-bloqueador	0,057 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	2
Bezafibrato	Antilipêmicos	2,2 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	2
		0,35 µg/L	Água superficial/Alemanha	2
		1,2 µg/L	Esgoto doméstico/Brasil	1
Bezafibrato	Antilipêmicos	1,0 µg/L	Efluente de ETE/Brasil	1
		0,025 µg/L	Água superficial/Brasil	1
Carbamazepina	Anticonvulsivante	2,1 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	2
		0,25 µg/L	Água superficial/Alemanha	2
Cetoprofeno	Antiinflamatório	0,20 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	2
Ciprofloxacina	Antibiótico	0,02 µg/L	Água natural/EUA	9
Clorotetraciclina	Antibiótico	0,42 µg/L	Água natural/EUA	9
Diazepam	Droga Psiquiátrica	0,033 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	7
		0,053 µg/L	Água superficial/Alemanha	7
Diclofenaco	Antiinflamatório	0,02 a 0,06 µg/L	Água superficial/Brasil	1
		0,81 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	2
		0,15 µg/L	Água superficial/Alemanha	2
		200-370 ng/L	Efluente de ETE/Suécia	16
		<1-12ng/L	Água superficial/Suécia	16
		6,2 ng/L	Água superficial/Mar do Norte	22
Eritromicina	Antibiótico	0,1 µg/L	Água natural/EUA	9
		0,15 µg/L	Água superficial/Alemanha	8
		2,5 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	8
17α-Etinilestradiol	Hormônio	0,005 µg/L	Esgoto doméstico/Brasil	3
		0,001 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	3
		0,45 µg/L	Água superficial/Alemanha	3
		0,009 µg/L	Efluente de ETE/Canadá	3
		0,073 µg/L	Água natural/EUA	9
		< 0,5 – 10 ng/L	Esgoto doméstico/Itália e Holanda	13
		< 0,2 – 2,2 ng/L	Efluente de ETE/Itália e Holanda	13
		0,2 – 7,0 ng/L	Efluente de ETE/Inglaterra	14
		0,3 – 1,7 ng/L	Efluente de ETE/Itália	15
		4,5 ng/L	Esgoto doméstico/Suécia	72
2 ng/L	Efluente de ETE/Suécia	72		
17β-Estradiol	Hormônio	0,015 µg/L	Esgoto doméstico/Alemanha	3
		0,006 µg/L	Efluente de ETE/Canadá	3
		0,021 µg/L	Esgoto doméstico/Brasil	3
		0,009 - 0,16 µg/L	Água natural/EUA	9
		2-12 µg//mulher/dia	Naturalmente excretado por uma mulher por dia	11

Tabela 1. continuação

Substâncias	Classe das Substâncias	Concentrações médias no ambiente	Condições	Referência
17 β -Estradiol	Hormônio	<0,5 – 17 ng/L	Esgoto doméstico/Itália e Holanda	13
		<0,5 – 7 ng/L	Efluente de ETE/Itália e Holanda	13
		2,7 – 48 ng/L	Efluente de ETE/Inglaterra	14
		1,1 ng/L	Esgoto doméstico/Suécia	72
		0,5 ng/L	Efluente de ETE/Suécia	72
Estrona	Hormônio	0,02 a 0,05 μ g/L	Água superficial/Brasil	3
		0,04 μ g/L	Esgoto doméstico/Brasil	3
		0,027 μ g/L	Esgoto doméstico/Alemanha	3
		0,009 μ g/L	Efluente de ETE/Alemanha	3
		0,003 μ g/L	Efluente de ETE no Canadá	3
		0,7 – 1,6 ng/L	Água superficial/Alemanha	3
		0,027 μ g/L	Água natural/EUA	9
		<0,5 – 38 ng/L	Esgoto doméstico/Itália e Holanda	13
		<0,5 – 54 ng/L	Efluente de ETE/Itália e Holanda	13
		20 – 132 ng/L	Esgoto doméstico/Itália	15
2,5 – 82,1 ng/L	Efluente de ETE/Itália	15		
Estrona	Hormônio	6,4 – 29 ng/L	Efluente de ETE/Alemanha	40
		0,2 – 17 ng/L	Água natural/Inglaterra	40
		5,8 ng/L	Esgoto doméstico/Suécia	72
		0,5 ng/L	Efluente de ETE/Suécia	72
Estriol	Hormônio	2 – 4 ng/L	Efluente de ETE/Inglaterra	40
		1,2 – 3,1 ng/L	Água natural/Inglaterra	40
		24 – 188 ng/L	Esgoto doméstico/Itália	15
		0,43 – 18 ng/L	Efluente de ETE/Itália	15
		0,019 μ g/L	Água natural/EUA	9
Indometacina	Antiinflamatório	0,95 μ g/L	Esgoto doméstico/Brasil	2
		0,27 μ g/L	Efluente de ETE/Alemanha	2
		0,17 μ g/L	Águas superficial/Alemanha	2
Iopamidol	Meio de contraste de Raios-X	4,3 \pm 0,9 μ g/L	Esgoto doméstico/Alemanha	18
		0,66 μ g/L	Efluente de ETE/Alemanha	18
		0,49 μ g/L	Água superficial/Alemanha	18
Iopromida	Meio de contraste de Raios-X	7,5 \pm 1,5 μ g/L	Esgoto doméstico/Alemanha	18
		0,75 μ g/L	Efluente de ETE/Alemanha	18
		0,10 μ g/L	Água superficial/Alemanha	18
Iopromida	Meio de contraste de Raios-X	1,6 μ g/L	Água superficial/Alemanha	19
Iomeprol	Meio de contraste de Raios-X	1,6 \pm 0,4 μ g/L	Esgoto doméstico/Alemanha	18
		0,37 μ g/L	Efluente de ETE/Alemanha	18
		0,10 μ g/L	Água superficial/Alemanha	18
Ibuprofeno	Antiinflamatório	0,087 μ g/L	Água superficial/Canadá	21
		0,07 μ g/L	Águas superficiais/Alemanha	2
		0,37 μ g/L	Efluente de ETE/Alemanha	2
		0,01 μ g/L	Águas superficiais/Brasil	1
		1-3,3 μ g/L	Esgoto doméstico/Suécia	20
		2-81 ng/L	Efluente de ETE/ Suécia	20
1,5-7,8ng/L	Água superficial/ Suécia	20		
Lincomicina	Antibiótico	0,06 μ g/L	Água natural/EUA	9
Norfloxacina	Antibiótico	0,12 μ g/L	Água natural/EUA	9
Oxitetraciclina	Antibiótico	0,34 μ g/L	Água natural/EUA	9
Penicilina	Antibiótico	1,8 a 5,9 ng/L	Água superficial/Alemanha	5
Progesterona	Hormônio	0,11 μ g/L	Água natural/EUA	9
Propanolol	β -bloqueador	0,17 μ g/L	Efluente de ETE/Alemanha	2
		0,012 μ g/L	Água superficial/Alemanha	2

Tabela 1. continuação

Substâncias	Classe das Substâncias	Concentrações médias no ambiente	Condições	Referência
Roxitrocina	Antibiótico	0,05 µg/L	Água natural/EUA	9
		0,68 – 1,0 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	8
		0,56 µg/L	Água superficial/Alemanha	8
Sulfametoxazol	Antibiótico	30 – 85 ng/L	Água superficial/Alemanha	10
		300±12 - 1500±320 ng/L	Efluente de ETE/Alemanha	10
		0,006 - 0,15 µg/L	Água natural/EUA	9
		410 ng/L	Água de subsolo/Alemanha	6
		0,4 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	8
		0,03 µg/L	Água superficial/Alemanha	8
Testosterona	Hormônio	0,116 µg/L	Água natural/EUA	9
Tetraciclina	Antibiótico	0,11 µg/L	Água natural/EUA	9
		1,2 a 4,2 µg/L	Água superficial/Alemanha	5
Trimetoprim	Antibiótico	0,013 – 0,15 µg/L	Água natural/EUA	9
		0,32 – 0,66 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	8
		2,5 µg/L	Efluente de ETE/Alemanha	8
		0,15 µg/L	Água superficial/Alemanha	8
Tilosina	Antibiótico	0,04 µg/L	Água natural/EUA	9
Vancomicina	Antibiótico	0,7 a 3,8 µg/L	Água superficial/Alemanha	5

Estudos sobre os efeitos causados ao meio ambiente com o uso de antibióticos na aquicultura foram desenvolvidos por vários pesquisadores^{45,46,54}. Um desses efeitos descreve o desenvolvimento de uma população de bactérias resistentes em sedimentos marinhos⁵⁴. O estudo de Wu⁵⁴ mostrou que o maior impacto é no sedimento marinho, e em menor extensão na qualidade da água.

Recentemente, alguns pesquisadores investigaram um grupo específico de compostos químicos presentes no meio ambiente que são responsáveis por causar perturbações no sistema endócrino (hormonal) de organismos humanos e animais: são os chamados perturbadores endócrinos. Dentre esse grupo de substâncias estão os estrogênios naturais e contraceptivos^{3,11,12}.

Alguns autores relatam que, dependendo da dose e do tempo de exposição, é possível que essas substâncias estejam relacionadas com doenças como câncer de mama, testicular e de próstata, ovários policísticos e redução da fertilidade masculina⁵⁵⁻⁵⁷.

As evidências mostram que os sistemas reprodutivos de certos organismos terrestres e aquáticos são afetados por estrogênios, resultando no desenvolvimento de anormalidades e deterioração reprodutiva nos organismos expostos⁵⁸⁻⁶¹. Conseqüentemente, numerosos testes e biomarcadores têm sido desenvolvidos para detectar a atividade estrogênica dessas substâncias^{34,35,55,62}.

Um marcador bastante usado para a determinação da atividade estrogênica de uma substância é a determinação de níveis de vitelogenina (VTG) no plasma sanguíneo de um organismo^{63,64}. Vitelogenina é uma proteína que desempenha um importante papel no sistema reprodutivo de vertebrados ovíparos fêmeas. É sintetizada no fígado, regulada por estrogênio e transportada através do sangue para os ovários, onde serão incorporados no desenvolvimento dos óvulos⁶⁴⁻⁶⁶. De um modo geral, o gene do VTG também está presente em organismos machos, mas sob condições normais não é expressivo, possivelmente, pela baixa concentração de estrogênio no sangue⁶³. O aumento de VTG no plasma de um organismo é considerada uma evidência da exposição a substâncias com atividade estrogênica^{13,66}.

As conseqüências da presença de estrogênios em organismos aquáticos, em concentrações ambientalmente relevantes, não são com-

pletamente conhecidas. Entretanto, tem sido observado que alguns organismos aquáticos respondem com um aumento na síntese de VTG como resposta à exposição a determinadas concentrações de estrogênio^{67,68}. Além disso, essa exposição a estrogênios pode causar a feminização de peixes se a exposição ocorrer durante o período crítico da diferenciação sexual. Isso foi observado em espécies de peixes, como *Cyprinus carpio*⁶⁹ e *Rutilus rutilus*⁷⁰. Efeitos similares (indução do hermafroditismo ou a feminização completa) foram também observados quando peixes da espécie *Oryzias latipes* foram expostos ao estrogênio 17 β-estradiol^{59,71}.

Larsson *et al.*⁷² analisaram a atividade estrogênica do efluente de uma ETE na Suécia, pela quantificação de VTG no plasma de uma espécie de peixe, *Oncorhynchus mykiss*, que foi exposta a este efluente por duas semanas.

Gagné *et al.*⁷³ examinaram o efeito da atividade estrogênica dos efluentes de ETE sobre mexilhões da espécie *Elliptio complanata* proveniente de águas naturais. Os mexilhões foram expostos a um efluente de ETE por aproximadamente dois meses. Os autores observaram um aumento dos níveis de VTG em mexilhões machos e fêmeas, além de anomalias no crescimento da concha dos mexilhões.

Em um experimento com tartarugas da espécie *Chrysemys picta*, Irwin *et al.*⁶⁵ mostraram que as tartarugas fêmeas expostas a estrogênios são afetadas com altos níveis de VTG no plasma. Esses altos níveis de VTG podem alterar o sistema reprodutivo desses animais como, por exemplo, por alterações na produção de ovos.

No estudo de Routledge *et al.*⁷⁴, duas espécies de peixes – *Oncorhynchus mykiss* e *Rutilus rutilus* – foram expostas por 21 dias a concentrações de 17 β-estradiol e estrona ambientalmente relevantes. De acordo com esses pesquisadores, os resultados confirmaram que os estrogênios identificados em efluentes domésticos estão presentes em quantidades suficientes para causar a síntese de VTG nas espécies de peixes estudadas.

Os peixes são um dos grupos de organismos mais completamente estudados em termos de efeito de substâncias com atividade estrogênica no desenvolvimento de anomalias no sistema reprodutivo. De acordo com Sumpter³³, as pesquisas de como substâncias estro-

gênicas afetam o sistema sexual dos peixes começaram na década de 1980.

Kang *et al.*³⁶ mostram claramente que a exposição a concentrações do estrogênio 17 β -estradiol ambientalmente relevantes (na faixa de 30-500 ng/L), por três semanas, induz a concentrações elevadas de VTG e à incidência de hermafroditismo em peixes machos da espécie *Oryzias latipes*.

No estudo de Rodgers-Gray *et al.*⁷⁵, peixes jovens da espécie *Rutilus rutilus* foram expostos a concentrações gradativas de efluente de ETE por 150 dias. Os resultados mostraram que a exposição induziu a feminização de peixes machos. Subseqüentemente, os peixes foram gradativamente expostos a águas naturais por mais 150 dias, resultando na redução de VTG no plasma, porém, não se observou alteração no sistema sexual feminizado dos peixes, indicando que o desenvolvimento da anomalia no sistema reprodutivo foi permanente.

De acordo com estudos de Panter *et al.*⁶⁴, concentrações baixas de 17 β -estradiol e estrona, similares às concentrações encontradas em efluentes, causaram profundos efeitos em peixes machos da espécie *Pimephales promelas*. Os efeitos relatados foram a síntese de VTG e a inibição testicular, quando expostos a concentrações de 17 β -estradiol (10, 32, 100, 320 e 1000 ng/L) e estrona (9,9, 31,8, 99,3, 318, 993 ng/L). Outros estudos^{61,63,76} também observaram a síntese de VTG na exposição da espécie de peixe *Pimephales promelas* a substâncias com atividade estrogênica.

No estudo de Folmar *et al.*⁵⁵, as menores concentrações de substâncias com atividade estrogênica que induziram a síntese de VTG em uma população de peixes machos da espécie *Cyprinodon variegatus* foram de 200 ng/L para o 17 β -estradiol e de 100 ng/L para o 17 α -etil-estradiol.

Embora as concentrações desses hormônios nos efluentes sejam baixas (da ordem de ng/L e μ g/L), estas são suficientemente elevadas para induzir a síntese de VTG em peixes machos em experimentos de laboratório como descrito nos vários estudos citados anteriormente.

Legler *et al.*³³ demonstraram que as substâncias estrogênicas não só são importantes na fase aquosa, mas também podem se acumular em sedimentos marinhos e assim afetar os organismos presentes no meio. Porém, pouco é conhecido sobre a exposição de organismos em ambientes aquáticos a substâncias estrogênicas presentes em sedimentos marinhos.

Pelo número de estudos nesta área, fica evidente que a exposição a substâncias com atividade estrogênica no meio ambiente é um problema de saúde ambiental global. Essas anomalias têm sido atribuídas à presença de substâncias estrogênicas em ambientes aquáticos e são associadas ao descarte de efluentes de ETE em corpos receptores.

Atualmente, dois tópicos sobre o efeito desses fármacos no meio ambiente são os mais discutidos. O desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos^{12,27,28,51-52,77,78} e avaliações de perturbações no sistema endócrino por substâncias como estrogênios^{32,33,36,37}. Outros efeitos possíveis têm sido pouco discutidos.

MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZADOS NA DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS

Para a determinação de fármacos, diferentes métodos analíticos são reportados na literatura, os quais são principalmente válidos para matrizes biológicas como sangue, tecido e urina^{79,81}, sendo que algumas modificações nestes métodos podem ser suficientes para amostras ambientais. No entanto, a análise de fármacos residuais em efluentes de ETE, em águas de rios, de solos e água potável requer ainda o desenvolvimento de métodos mais sensíveis para a detecção de concentrações na faixa de μ g/L e ng/L.

Nos últimos anos, muitos métodos para a análise de fármacos em amostras de águas foram publicados, tais como para antilipêmicos,

β -bloqueadores e antiinflamatórios e alguns na determinação de antibióticos, estrogênios e drogas psiquiátricas. Ternes³⁸ em seu estudo fez uma revisão de todos os métodos analíticos utilizados na determinação de vários fármacos residuais, a níveis de ng/L, em diferentes matrizes aquosas.

Para detecção de fármacos residuais em ambiente aquático na faixa de μ g/L e ng/L, os métodos descritos na literatura são baseados na extração em fase sólida, em alguns casos derivatização da substância ácida e subseqüente determinação do derivado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) ou cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (CLAE/EM). A detecção por espectrometria de massas é usada para assegurar a identificação das substâncias estudadas.

A Tabela 2 apresenta as diferentes técnicas utilizadas na detecção de fármacos em amostras de ambientes aquáticos.

AVALIAÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL DE FÁRMACOS EM AMBIENTES AQUÁTICOS

No momento, um ponto crítico neste tema é saber se existe um nível elevado dessas substâncias no meio ambiente, que sejam suficientes para exercer efeitos adversos em seres vivos. Esta questão estimula o desenvolvimento de estudos de impacto ambiental causado por diferentes fármacos presentes no meio ambiente. Dados ecotoxicológicos têm sido levantados por pesquisadores, para se identificar fármacos que são potencialmente perigosos para o meio ambiente, porém, os dados disponíveis na literatura são insuficientes. A ocorrência desses fármacos residuais em águas superficiais e de subsolo demonstra uma necessidade de estudos que determinem os efeitos tóxicos desses fármacos frente ao meio ambiente.

Neste contexto, alguns pesquisadores analisam riscos em potencial para alguns fármacos no meio ambiente. Henschel *et al.*⁹⁰ analisaram dois fármacos, o paracetamol e o metotrexate, e dois metabólitos, o ácido salicílico e o ácido clofibríco, com relação às suas biodegradabilidades e testes de toxicidade (valores de CE_{50} com algas, microcrustáceo da espécie *Daphnia magna*, embriões de peixe e bactérias luminescentes).

Os dados dos efeitos tóxicos (CE_{50}) de alguns antibióticos em várias espécies aquáticas podem ser encontrados na literatura⁹¹⁻⁹⁴.

Wollenberger *et al.*⁹⁴ investigaram as toxicidades aguda e crônica com o microcrustáceo da espécie *Daphnia magna* para nove antibióticos, dentre esses, oxitetraciclina, sulfadiazina, tetraciclina e tilosina.

Outros estudos^{42,95,96} avaliaram o potencial de impacto do lançamento de fármacos no meio ambiente, com estudos sobre o destino ambiental e efeitos causados em organismos aquáticos. Stuer-Lauridsen *et al.*⁹⁷ realizaram estudo de análise de risco ambiental dos 20 fármacos mais usados na Dinamarca, dentre esses, analgésicos, estrogênios e antiinflamatórios. No estudo de Jones *et al.*⁹⁸ foi apresentada a análise de risco ambiental para os 25 fármacos mais usados na Inglaterra.

Os efeitos tóxicos de fármacos residuais têm sido avaliados utilizando uma biota aquática, no entanto, poucos dados experimentais têm sido obtidos para comunidades terrestres. Como exemplo, o estudo desenvolvido por Migliore *et al.*⁹⁹ avaliou os efeitos do antibiótico sulfonamida na contaminação de um sistema terrestre com três espécies de plantas, fornecendo informações da alteração no desenvolvimento normal, crescimento e a bioacumulação em diferentes compartimentos da planta. Outros problemas observados foram a modificação da comunidade microbiana do solo, incluindo o desenvolvimento de resistência bacteriana e a inibição do mecanismo natural de descontaminação para pesticidas e outros xenobióticos.

Alguns pesquisadores vêm avaliando os possíveis riscos ambientais causados por medicamentos veterinários, por exemplo, aqueles

Tabela 2. Métodos utilizados na determinação de fármacos no ambiente aquático

Método	Substâncias	Referência
CLAE/EM ^a	Ácido salicílico, antiinflamatórios e antipênicos	82
	Ácido clofibríco, antibióticos, antipênicos, antiinflamatórios, anticonvulsivantes	83
	Antibióticos	84
CLAE/EM/EM ^b	Antibióticos	4
	Analgésicos, β -bloqueadores, antipênicos, antibióticos	6
	Antiinflamatórios, drogas psiquiátricas e antidiabéticas	7
	β -bloqueadores, antibióticos	38
	Antibióticos	85
CG/EM ^c	Analgésicos, antipênicos e metabólitos, antiinflamatórios.	1
	Analgésicos, antipiréticos, antiinflamatórios, antipênicos, anticonvulsivantes, drogas psiquiátricas	6
	Estrogênios	40, 86
	Ácido Clofibríco, antiinflamatórios, anticonvulsivantes	87
CG-EM/EM ^d	Antiinflamatórios, anticonvulsivantes, ácido salicílico, ácido clofibríco, antipênicos,	38
	β -bloqueadores, drogas psiquiátricas, estrogênios	
	Estrogênios	3,12, 88, 89

^aCLAE/EM – cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas; ^bCLAE/EM/EM – cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a dois espectrômetros de massas em série; ^cCG/EM -cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas; ^dCG-EM/EM - cromatografia gasosa acoplada a dois espectrômetros de massas em série

usados na criação de gado, no solo, nas águas superficiais e de subsolo. Boxall *et al.*¹⁰⁰ investigaram a adsorção de antibióticos e sulfanamidas pelo solo e o potencial dessas substâncias em serem transportadas para as águas de subsolo e superficiais.

Atualmente, uma avaliação de risco ambiental devido à contaminação por fármacos tem sido requerida em vários países⁹⁶. Com isso, vários pesquisadores vêm desenvolvendo metodologias de testes ecotoxicológicos e modelos para avaliação de risco ambiental para alguns fármacos de uso veterinário¹⁰¹.

CONCLUSÃO

Atualmente, há uma crescente preocupação com a presença de fármacos em ambientes aquáticos e seus possíveis impactos ambientais. A literatura mostra que vários pesquisadores, em todo o mundo, detectaram muitos desses fármacos residuais em águas naturais e em efluentes de ETEs.

Pesquisadores desenvolveram e vem desenvolvendo métodos cromatográficos para a identificação e quantificação de fármacos em efluentes de ETEs e águas naturais, em baixas concentrações.

Pouco é conhecido sobre o efeito dessas substâncias no meio ambiente. Outro ponto pouco explorado refere-se a uma avaliação de impacto no meio ambiente através de dados ecotoxicológicos.

É necessária uma avaliação criteriosa dos efeitos desses fármacos no meio aquático. Uma vez conhecido os efeitos, será necessário estabelecer os limites de concentrações para o descarte seguro de efluentes domésticos tratados em corpos receptores. O monitoramento da eficiência de remoção desses fármacos pelos processos convencionais de tratamento de efluentes domésticos das ETEs é de grande importância pois, no futuro, podem ser necessárias adaptações, ou mesmo implantar outros processos de tratamento que complementem a remoção adequada desses fármacos.

REFERÊNCIAS

1. Stumpf, M.; Ternes, T. A.; Wilken, R.; Rodrigues, S. V.; Baumann, W.; *Sci. Total Environ.* **1999**, 225, 135.

2. Ternes, T. A.; *Water Res.* **1998**, 32, 3245.
3. Ternes, T. A.; Stumpf, M.; Mueller, J.; Haberer, K.; Wilken, R.-D.; Servos, M.; *Sci. Total Environ.* **1999**, 225, 81.
4. Hirsch, R.; Ternes, T. A.; Haberer, K.; Mehlich, A.; Ballwanz, F.; Kratz, K.; *J. Chromatogr., A* **1998**, 815, 213.
5. Mulroy, A.; *Water Environ. Technol.* **2001**, 13, 32.
6. Sacher, F.; Lange, F. T.; Brauch, H.; Blankenhorn, I.; *J. Chromatogr., A* **2001**, 938, 199.
7. Ternes, T.; Bonerz, M.; Schmidt, T.; *J. Chromatogr., A* **2001**, 938, 175.
8. Hirsch, R.; Ternes, T.; Haberer, K.; Kratz, K.-L.; *Sci. Total Environ.* **1999**, 225, 109.
9. Kolpin, D. W.; Furlog, E. T.; Meyer, M. T.; Thurman, E. M.; Zaugg, S. D.; Barber, L. B.; Buxton, H. T.; *Environ. Sci. Technol.* **2002**, 36, 1202.
10. Hartig, C.; Storm, T.; Jekel, M.; *J. Chromatogr., A* **1999**, 854, 163.
11. Belfroid, A. C.; Van Der Horst, A.; Vethaak, A. D.; Schäfer, A. J.; Rijs, G. B. J.; Wegener, J.; Cofino, W. P.; *Sci. Total Environ.* **1999**, 225, 101.
12. Ternes, T. A.; Kreckel, P.; Mueller, J.; *Sci. Total Environ.* **1999**, 225, 91.
13. Jonhson, A. C.; Belfroid, A.; Di Corcia, A.; *Sci. Total Environ.* **2000**, 256, 163.
14. Desbrow, C.; Routledge, E. J.; Brighty, G. C.; Sumpter, J. P.; Waldock, M.; *Environ. Sci. Technol.* **1998**, 32, 1549.
15. Baronti, C.; Curini, R.; D'Ascenzo, G.; Di Corcia, A.; Gentili, A.; Samperi, R.; *Environ. Sci. Technol.* **2000**, 34, 5059.
16. Buser, H.-R.; Poiger, T.; Müller, M. D.; *Environ. Sci. Technol.* **1998**, 32, 3449.
17. Steger-Hatmann, T.; Länge, R.; Schweinfurth, H.; Tschampel, M.; Rehmann, I.; *Water Res.* **2002**, 36, 266.
18. Ternes, T. A.; Hirsch, R.; *Environ. Sci. Technol.* **2000**, 34, 2741.
19. Putschew, A.; Wischnack, S.; Tekel, M.; *Sci. Total Environ.* **2001**, 255, 129.
20. Buser, H.-R.; Poiger, T.; Müller, M. D.; *Environ. Sci. Technol.* **1999**, 33, 2529.
21. Winkler, H.; Lawrence, J. R.; Neu, T. R.; *Water Res.* **2001**, 35, 3197.
22. Weigel, S.; Kuhlmann, J.; Hühnerfuss, H.; *Sci. Total Environ.* **2002**, 295, 131.
23. Bower, C. K.; Daeschel, M. A.; *Int. J. Food Microbiol.* **1999**, 50, 33.
24. Kümmerer, K.; *Chemosphere* **2001**, 45, 957.
25. Guardabassi, L.; Wong, D. M. A. L.; Dalsgaard, A.; *Water Res.* **2002**, 36, 1955.
26. Guillemot, D.; *Curr. Opin. Microbiol.* **1999**, 2, 494.
27. Mckeon, D. M.; Calabrese, J. P.; Bissonnette, G. K.; *Water Res.* **1995**, 29, 1902.
28. Miranda, C. D.; Castillo, G.; *Sci. Total Environ.* **1998**, 224, 167.
29. Ingerslev, F.; Toräng, L.; Loke, M. L.; Halling-Sorensen, B.; Nyholm, N.; *Chemosphere* **2001**, 44, 865.
30. Loke, M. L.; Ingerslev, F.; Halling-Sorensen, B.; Tjornelund, J.; *Chemosphere* **2000**, 40, 759.

31. Rabolle, M.; Spliid, N. H.; *Chemosphere* **2000**, *40*, 715.
32. Fawell, J. K.; Sheahan, D.; James, H. A.; Hurst, M.; Scott, S.; *Water Res.* **2001**, *35*, 1240.
33. Sumpster, J. P.; *Toxicol. Lett.* **1998**, *102-103*, 337.
34. Legler, J.; Dennekamp, M.; Vethaak, A. D.; Browwer, A.; Koeman, J. H.; Van der Burg, B.; Murk, A. J.; *Sci Total Environ.* **2002**, *293*, 69.
35. Zacharewski, T.; *Environ. Sci. Technol.* **1997**, *31*, 613.
36. Kang, I. J.; Yokota, H.; Oshima, Y.; Tzuruda, Y.; Yamaguchi, T.; Maeda, M.; Imada, N.; Tadokoro, H.; Honjo, T.; *Chemosphere* **2002**, *47*, 71.
37. Gimeno, S.; Komen, H.; Jobling, S.; Sumpster, J.; Bowmer, T.; *Aquat. Toxicol.* **1998**, *43*, 93.
38. Ternes, T. A.; *Trends Anal. Chem.* **2001**, *20*, 419.
39. Buser, H.-R.; Müller, M. D.; *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 188.
40. Xiao, X.-Y.; McCalley, D. V.; McEvoy, J.; *J. Chromatogr., A* **2001**, *923*, 195.
41. Richardson, M. L.; Bowron, J. M.; *J. Pharm. Pharmacol.* **1985**, *37*, 1.
42. Halling-Sorensen, B.; Nielsen, S. N.; Lanzky, P. F.; Ingerslev, F.; Lützeft, H. C.; Jorgensen, S. E.; *Chemosphere* **1998**, *36*, 357.
43. Jorgensen, S. E.; Halling-Sorensen, B.; *Chemosphere* **2000**, *40*, 691.
44. Heberer, T.; *Toxicol. Lett.* **2002**, *131*, 5.
45. Chien, Y. H.; Lai, H. T.; Liu, S. M.; *Sci. Total Environ.* **1999**, *239*, 81.
46. Smith, P.; Samuelsen, O. B.; *Aquaculture* **1996**, *144*, 17.
47. Witte, W.; *Int. J. Antimicrob. Agents* **2000**, *14*, 321.
48. Kolár, M.; Urbánec, K.; Látal, T.; *Int. J. Antimicrob. Agents* **2001**, *17*, 357.
49. Visser, M. R.; Fluit, A. C.; *J. Microbiol. Meth.* **1995**, *23*, 105.
50. Chee-Sanford, J. C.; Aminov, R. I.; Krapac, I. J.; Garrigues-Jeanjean, N.; Mackie, R. I.; *Appl. Environ. Microbiol.* **2001**, *67*, 1494.
51. Andersen, T. J.; Schäfer, T.; Jorgensen, P. L.; Moller, S.; *Res. Microbiol.* **2001**, *152*, 823.
52. Ginzburg, E.; Namias, N.; Brown, M. B.; Suzette, H. S. M.; Cohn, S. M.; *Int. J. Antimicrob. Agents* **2000**, *16*, 539.
53. Aburjai, T.; Darwish, R. M.; Al-Khail, S.; Mahafzah, A.; Al-Abbadi, A.; *J. Ethnopharmacol.* **2001**, *76*, 39.
54. Wu, R. S. S.; *Mar. Pollut. Bull.* **1995**, *31*, 159.
55. Folmar, L. C.; Hemmer, M.; Hemmer, R.; Bowman, C.; Kroll, K.; Denslow, N. D.; *Aquatic Toxicol.* **2000**, *49*, 77.
56. Harrison, P. T. C.; Holmes, P.; Humfrey, C. D. N.; *Sci. Total Environ.* **1997**, *205*, 97.
57. Castro, C. M. B.; *Engenharia Sanitária e Ambiental.* **2002**, *7*, 4.
58. Allen, V.; Matthiessen, P.; Scott, A. P.; Haworth, S.; Feist, S.; Thain, J. E.; *Sci. Total Environ.* **1999**, *233*, 5.
59. Patyna, P. J.; Davi, R. A.; Parkerton, T. F.; Brown, R. P.; Cooper, K. R.; *Sci. Total Environ.* **1999**, *233*, 211.
60. Taylor, M. R.; Holmes, P.; Duarte-Davidson, R.; Humfrey, C. D. N.; Harrison, P. T. C.; *Sci. Total Environ.* **1999**, *233*, 181.
61. Hutchinson, T. H.; *Toxicol. Lett.* **2002**, *131*, 75.
62. Solé, M.; Porte, C.; Barceló, D.; *Trends Anal. Chem.* **2001**, *20*, 518.
63. Schmid, T.; Gonzalez-Valero, J.; Ruffli, H.; Dietrich, D. R.; *Toxicol. Lett.* **2002**, *131*, 65.
64. Panter, G. H.; Thompson, R. S.; Sumpster, J. P.; *Aquatic Toxicol.* **1998**, *42*, 243.
65. Irwin, L. K.; Gray, S.; Oberdörster, E.; *Aquatic. Toxicol.* **2001**, *55*, 49.
66. Zerulla, M.; Länge, R.; Steger-Hartmann, T.; Panter, G.; Hutchinson, T.; Dietrich, D. R.; *Toxicol. Lett.* **2002**, *131*, 51.
67. Rodger-Gray, T. P.; Jobling, S.; Morris, S.; Kelly, C.; Kirby, S.; Janbaksh, A.; Harries, J. E.; Waldock, M. J.; Sumpster, J. P.; Tyler, C. R.; *Environ. Sci. Technol.* **2000**, *34*, 1521.
68. Thompson, S.; Tilton, F.; Schlenk, D.; Benson, W. H.; *Mar. Environ. Res.* **2000**, *51*, 185.
69. Gimeno, S.; Komen, A.; Gerritsen, A. G. M.; Bowmer, T.; *Aquatic Toxicol.* **1998**, *47*, 77.
70. Jobling, S.; Nolan, M.; Tyler, C. R.; Brighty, G.; Sumpster, J. P.; *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 2498.
71. Koger, C. S.; Teh, S. J.; Hinton, D. E.; *Mar. Environ. Res.* **2000**, *50*, 201.
72. Larsson, D. G. J.; Adolfsson-Erici, M.; Parkknen, J.; Petersson, M.; Berg, A. H.; Olsson, P.-E.; Forlin, L.; *Aquatic Toxicol.* **1999**, *45*, 91.
73. Gagné, F.; Blaise, C.; Salazar, M.; Hansen, P. D.; *Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol.* **2001**, *128*, 213.
74. Routledge, E. J.; Sheahan, D.; Desbrow, C.; Brighty, G. C.; Waldock, M.; Sumpster, J. P.; *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 1559.
75. Rodger-Gray, T. P.; Jobling, S.; Kelly, C.; Morris, S.; Brighty, G.; Waldock, M. J.; Sumpster, J. P.; Tyler, C. R.; *Environ. Sci. Technol.* **2001**, *35*, 462.
76. Panter, G. H.; Thompson, R. S.; Sumpster, J. P.; *Environ. Sci. Technol.* **2000**, *34*, 2756.
77. Van den Bogaar, A. E. V. D.; Stobberingh, E. E.; *Int. J. Antimicrob. Agents* **2000**, *14*, 327.
78. Witte, W.; *Int. J. Antimicrob. Agents* **2000**, *14*, 321.
79. Vree, T. B.; Van der Ven, A. J. A. M.; Van Ewijk-Beneken Kolmer, E. W. J.; Swolfs, A. E. M.; Van Galen, P. M.; Anatdjais-Groenen, H.; *J. Chromatogr., B* **1994**, *658*, 327.
80. Whitlam, J. B.; Vine, J.; *J. Chromatogr.* **1980**, *181*, 463.
81. Hedenmo, M.; Eriksson, B.-M.; *J. Chromatogr., A* **1995**, *692*, 161.
82. Farré, M.; Ferrer, I.; Ginebreda, A.; Figueras, M.; Olivella, L.; Tirapu, L.; Vilanova, M.; Barceló, D.; *J. Chromatogr., A* **2001**, *938*, 187.
83. Ahrer, W.; Scherwenk, E.; Buchberger, W.; *J. Chromatogr., A* **2001**, *910*, 69.
84. Lindsey, M. E.; Meyer, M.; Thurman, E. M.; *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 4640.
85. Golet, E. M.; Alder, A. C.; Hartmann, A.; Ternes, T. A.; Giger, W.; *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 3632.
86. Mol, H. G. J.; Sunarto, S.; Steijger, O. M.; *J. Chromatogr., A* **2000**, *879*, 97.
87. Öllers, S.; Singer, H. P.; Fässler, P.; Müller, S. R.; *J. Chromatogr., A* **2001**, *911*, 225.
88. Ternes, T. A.; Andersen, H.; Gilberg, D.; Bonerz, M.; *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 3498.
89. Kelly, C.; *J. Chromatogr., A* **2000**, *872*, 309.
90. Henschel, K.-P.; Wenzel, A.; Diedrich, M.; Flidner, A.; *Reg. Toxicol. Pharmacol.* **1997**, *25*, 220.
91. Lanzky, P. F.; Halling-Sorensen, B.; *Chemosphere* **1997**, *35*, 2553.
92. Migliore, L.; Civitareale, C.; Brambilla, G.; Delupis, G. D. D.; *Water Res.* **1997**, *31*, 1801.
93. Halling-Sorensen, B.; *Chemosphere* **2000**, *40*, 731.
94. Wollenberger, L.; Halling-Sorensen, B.; Kusk, K. O.; *Chemosphere* **2000**, *40*, 723.
95. Steger-Hartmann, T.; Länge, R.; Schweinfurth, H.; *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **1999**, *42*, 274.
96. Koschorreck, J.; Koch, C.; Rönnefahrt, I.; *Toxicol. Lett.* **2002**, *131*, 117.
97. Stuer-Lauridsen, F.; Birkved, M.; Hansen, L. P.; Holten Lützhof, H.-C.; Halling-Sorensen, B.; *Chemosphere* **2000**, *40*, 783.
98. Jones, O. A. H.; Voulvoulis, N.; Lester, J. N.; *Water Res.* **2002**, *36*, 5013.
99. Migliore, L.; Brambilla, G.; Cozzolino, S.; Gaudio, L.; *Agricul. Ecosyst. Environ.* **1995**, *52*, 103.
100. Boxall, A. B. A.; Blackwell, P.; Cavallo, R.; Kay, R. P.; Tolls, J.; *Toxicol. Lett.* **2002**, *131*, 319.
101. Jorgensen, S. E.; Lützhof, H. C.; Halling-Sorensen, B.; *Ecolog. Model* **1998**, *107*, 63.