

Utsläpp från läkemedelsindustri påverkar miljön

Antibiotikautsläpp riskerar också vår egen hälsa

DG JOAKIM LARSSON, fil dr, docent i fysiologi, institutionen för neurovetenskap och fysiologi, Sahlgrenska akademien, Göteborgs universitet
joakim.larsson@fysiologi.gu.se

Läkemedel är oundgängliga för att förebygga, lindra och bota sjukdomar. Under senare år har man dock funnit en förbisedd baksida av vår läkemedelsanvändning, nämligen att läkemedel kan ge effekter också när de hamnar i naturen. Läkemedel är, till skillnad från de flesta andra kemikalier, utvalda eller konstruerade för att vara biologiskt aktiva redan vid mycket låga koncentrationer. Många av de enzymer och receptorer som läkemedel verkar på hos oss människor återfinns i snarlika former även hos organismer ute i miljön [1]. En del läkemedel är dessutom ganska motståndskraftiga mot nedbrytning. Dessa omständigheter bidrar till att läkemedel har potential att påverka andra organismer än oss själva om de når den yttre miljön.

Läkemedelsrester som utsöndras via urin och fekalier når våra reningsverk. Reningsverken är dock inte optimerade för att avlägsna läkemedelsrester, och hundratals substanser når därför till slut våra vattendrag. Även om halterna som återfinns där vanligen är mycket låga, i storleksordningen ng/l, kan de i vissa fall vara tillräckliga för att orsaka miljöeffekter. Etinylöstradiol och levonorgestrel är båda syntetiska könsteroïder som påverkar fiskars fertilitet redan vid koncentrationer kring 1 ng/l – halter vi finner i svenskt, renat kommunalt avloppsvatten [2, 3].

Utsläpp bristfälligt reglerade

En alternativ spridningsväg till miljön för såväl human- som veterinärmedicinska läkemedel är via utsläpp från produktionsanläggningar där stora mängder läkemedelssubstanser tillverkas och/eller hanteras. Produktionskedjan för läkemedel omfattar ofta flera företag och länder. Den inbegriper allt ifrån framtagning av råvaror, vidare framställning av intermediärer, syntes av aktiv läkemedelssubstans, formulering, paketering och distribution. Det finns således flera steg i kedjan där specifikt verkande läkemedelssubstanser riskerar att nå miljön.

Utsläpp från läkemedelsindustrier är, liksom utsläpp från annan industri, reglerade. Myndigheternas krav har emellertid i stort sett undantagslöst fokuserat på andra mått än koncentrationer eller volymer av aktiva läkemedelssubstanser, t ex mängd organiskt material, halter av en del olika lösningsmedel och i vissa fall toxicitet hos avloppsvattnet. Publikt tillgängliga data över halter av läkemedel i industriavloppsvatten som kan beskriva omfattningen av denna spridningsväg är därför tyvärr mycket knapphändiga. Fram till för något år sedan var läkemedelsutsläpp från industriell produktion inte heller någon större fråga för vare sig miljöforskare eller regulatoriska myndigheter.

Dokumenterade utsläpp i Patancheru, Indien

Delvis på grund av ökad konkurrens på läkemedelsmarkna-

»Läkemedel är ... utvalda eller konstruerade för att vara biologiskt aktiva redan vid mycket låga koncentrationer.«

den förläggs allt större andel av tillverkningen av aktiva läkemedelssubstanser (bulk drugs) i låglöneländer. Indien är en av världens största exportörer av aktiva läkemedelssubstanser. Vi har under flera år studerat ett reningsverk i Patancheru, ett industriområde strax utanför Hyderabad. Reningsverket tar emot och »renar« processvattnet från ca 90 tillverkare av aktiva substanser i närområdet; läkemedelssubstanser som framför allt går på export, och som även förekommer i produkter godkända för den svenska marknaden [4]. Det renade avloppsvattnet släpps ut i ett flodsystem, som utgör vattenkälla för miljontals indier.

Vår första studie kring utsläpp från läkemedelsproduktion (publicerad 2007) visade att halterna av en lång rad läkemedel var betydligt högre i det renade vattnet än vad som tidigare rapporterats i kommunala avloppsvatten runt om i världen. Ciprofloxacin, ett av flera svårnedbrytbara fluorokinolonantibiotika i avloppsvattnet, fanns i halter om ca 30 mg/l [5]. Det är uppemot 1 miljon gånger högre än de nivåer man finner i renat vatten från svenska reningsverk. Det är till och med högre koncentration än vad en patient som behandlas med ciprofloxacin har i sitt blod. Vi beräknade att det indiska reningsverket släppte ut drygt 44 kg ciprofloxacin under 1 dygn. Det kan jämföras med hela Sveriges dygnskonsumtion av ciprofloxacin om i snitt 9 kg [5].

Avloppsvattenprov tagna vid samma reningsverk 1,5 år senare visade återigen på mycket höga nivåer av flera läkemedel, t ex ciprofloxacin 14 mg/l och cetirizin 2,1 mg/l [6]. Terapeutiska nivåer av läkemedel uppmättes även i vatten nedströms re-

■ sammanfattat

Läkemedel når naturen inte bara genom användning (exkretion) utan även via utsläpp direkt från tillverkning. Koncentrationerna av aktiva läkemedelssubstanser, inklusive antibiotika, i renat avloppsvatten från läkemedelsproduktion överstiger i vissa fall de halter som finns i blodet hos patienter som behandlas med motsvarande läkemedel.

Utsläpp av avloppsvatten med mycket höga halter av läkemedel bedöms kunna ha betydande effekter på miljön

och möjligen även på human hälsa.

Utsläpp av stora mängder antibiotika har visat sig leda till ökad förekomst av resistensfaktorer i bakteriesamhällen nedströms produktionsanläggningar i flera länder.

För att minska risken för att driva på den globala resistensutvecklingen finns goda skäl att tillämpa försiktighetsprincipen och begränsa utsläpp av antibiotika från produktionsanläggningar.

ningsverket och i två mindre sjöar i området som inte mottar avloppsvatten från reningsverket. Således finns det ytterligare källor till förorening med läkemedel i området. En annan möjlig orsak till de mycket höga koncentrationerna av läkemedel i miljön är illegal dumpning av industriellt avfall, något som lokala myndigheter tidigare har dokumenterat som ett problem. Halterna av ciprofloxacin i flodsediment nedströms reningsverket var upp till 0,9 g/kg organiskt material [7].

En studie har dessutom visat att också grundvattnet i regionen är kontaminerat av läkemedel inklusive fluorokinoloner [6]. Koncentrationen av läkemedel i brunnsvatten i sex undersökta byar nådde storleksordningen µg/l, dvs ca 1000 gånger högre än vad vi finner i svenskt dricksvatten.

Studierna gav ökad medvetenhet om riskerna

Våra studier har fått stor uppmärksamhet internationellt och har bidragit till att förändra synen på hur läkemedel når miljön, vilka halter som når miljön och i förlängningen också vilka risker dessa utsläpp medför [8-10]. En tillbakablick i den vetenskapliga litteraturen visar att det finns enstaka rapporter som tidigare dokumenterat utsläpp av läkemedelsrester från produktion, men att dessa ofta har betraktats som »gamla synder» och därför inte rönt någon större uppmärksamhet (Tabell I).

Till exempel rapporterades salicylsyra i koncentrationer om hela 2,27 g/l i renat avloppsvatten från en läkemedelsfabrik i Bangalore i södra Indien i en studie redan 1993, som inte citerades en enda gång förrän 2008 [12, 23]. Utanför Puerto Rico dumpades avfall från flera läkemedelsindustrier i havet under flera år på 1970- och 1980-talen, vilket påverkade miljön negativt, men då studerades inte läkemedelshalter specifikt [24]. I grundvattnet nära en nedlagd fabrik i Danmark som tillverkat antibiotika kunde man senare finna upp till mg/l-nivåer av olika sulfonamider [11]. I ett område av Berlin återfanns läkemedelssubstanserna fenazon och propylfenazon i grundvatten – kontamination som kan härledas till utsläpp från tidigare läkemedelsproduktion [21].

Fler studier i Asien

Utöver exemplet från Patancheru i Indien och ovanstående äldre studier finns det en rad mer aktuella publikationer som dokumenterar betydande utsläpp från läkemedelsproduktion (Tabell I). I renat avloppsvatten från en kinesisk fabrik rapporterades utsläpp av etinylöstradiol, det syntetiska östrogenet i kombinations-p-piller, i halter om 51 ng/l [13]. Det är i sammanhanget en låg nivå, men med tanke på potensen hos etinylöstradiol är det ändå anmärkningsvärt: studier har visat att tillsats av 5 ng/l av etinylöstradiol till en experimentsjö under flera år orsakade en närmast total kollaps av fiskpopulationen [25].

Halter om 20 mg/l av oxitetracyklin (ett relativt svårnedbrytbart antibiotikum) rapporterades nyligen i renat avloppsvatten från en annan kinesisk fabrik, och höga halter kunde fortfarande spåras 20 km nedströms från utsläppspunkten [16].

Kinesiska medier rapporterades 2007 att myndigheterna hotade stänga 117 läkemedelsindustrier om de inte omgäende avsevärt förbättrade miljöförhållandena kring sin produktion [26]. Det framgick dock inte specifikt vilka dessa missförhållanden var. Utsläpp av diosgenin, en naturprodukt med farmakologisk aktivitet och som utgör en intermediär i produktion av olika steroidhormoner, har visats vara ett angeläget miljöproblem i Kina [14]. Enligt studien har kinesiska myndigheter låtit stänga 60 fabriker längs floden Han för att förhindra miljöförstörande utsläpp av diosgenin.

»Våra studier har fått stor uppmärksamhet internationellt och har bidragit till att förändra synen på hur läkemedel når miljön...«

I en aktuell studie från Sydkorea analyserades avloppsvatten från fyra olika läkemedelsindustrier med avseende på ett begränsat antal läkemedel. I en av dessa fann forskarna linkomycin, ett antibiotikum närbesläktat med klindamycin, i renat avloppsvatten i halter upp till 44 mg/l, dvs ca tre gånger högre än humanterapeutiska serumnivåer [17].

Utsläpp även i västvärlden

Västvärlden är inte undantagen från rapporter om utsläpp. En kroatisk studie rapporterade om mycket höga halter av de antibiotiska substanserna sulfametazin (>0,4 mg/l) och sulfaguanidin (>1,1 mg/l) i renat avloppsvatten från en fabrik [18]. Det bör påtalas att de analysmetoder som användes i denna studie, och även i studien av Bisarya och Patil [12], är mindre pålitliga än de metoder som använts i övriga citerade studier.

Schweiziska medier rapporterade 2004 om utsläpp av venlafaxin (ett antidepressivt medel) i floden Rhen, vilket kunde spåras till en fabrik uppströms, varefter åtgärder vidtogs hos tillverkaren [19].

Tyska forskare kunde helt nyligen spåra förhöjda halter av det antivirala läkemedlet oseltamivir i Rhen till produktionsutsläpp [20], vilket sedermera också bekräftades av tillverkaren. I en artikel författad av forskare vid samma läkemedelsföretag bedömdes miljörisken med utsläpp av en rad aktiva substanser från deras fabrik till Rhen vara försumbara [27]. Dock utfördes inga mätningar av läkemedelsrester i avloppsvattnet, utan bedömningen baserades på en teoretisk beräkning av möjliga förluster under produktionen. Det bör också framhållas att studien inte omfattade utsläpp från produktion av aktiv substans (som i tex Patancheru) utan från formulering, dvs blandning av aktiv substans och andra ingredienser till färdiga läkemedel.

Stora utsläpp av narkotiska läkemedel i New York

En av de mer uppmärksammade studierna publicerades av US Geological Survey 2010. Vid en omfattande, flerårig undersökning av avloppsvatten från 23 amerikanska kommunala

TABELL I. Rapporter om utsläpp av aktiva läkemedelssubstanser från produktionsanläggningar.

Land	Exempel på studerade läkemedel	År	Referens
Danmark	Sulfonamider	1995	[11]
Indien	Salicylsyra	1993	[12]
Indien	Ciprofloxacin, cetirizin mm	2007	[5]
Indien	Ciprofloxacin, cetirizin mm	2009	[6]
Indien	Ciprofloxacin	2011	[7]
Kina	Etinylöstradiol	2006	[13]
Kina	Diosgenin	2009	[14]
Kina	Penicillinsyra	2008	[15]
Kina	Oxitetracyklin	2008	[16]
Korea	Linkomycin	2011	[17]
Kroatien	Sulfametazin	2008	[18]
Schweiz	Venlafaxin	2004	[19]
Schweiz	Osetamivir	2010	[20]
Tyskland	Fenazon	2004	[21]
USA	Oxikodon, metaxalon mm	2010	[22]

TABELL II. Rapporter om miljöeffekter kopplade till exponering för avloppsvatten från läkemedelsproduktion.

Land	Effektstudier/organismer	År	Referens
Danmark	Antibiotikaresistens	1998	[29]
Frankrike	Fisk	2011	[28]
Indien	Antibiotikaresistens	2011	[7]
Indien	Vattenloppor, bakterier, växter	2007	[5]
Indien	Fisk	2009	[30]
Indien	Grodor, fisk	2009	[31]
Kina	Antibiotikaresistens	2010	[32]
Kina	Antibiotikaresistens	2009	[33]
Puerto Rico	Planktoniska bakterier	1981	[24]

reningsverk återfanns kraftigt förhöjda halter av läkemedel i två reningsverk i New York. Just dessa två tog emot processvatten från formuleringsindustrier. Upp till 3,8 mg/l av nar-kotiska läkemedel (oxikodon, metaxalon) återfanns i det re-nade vattnet [22].

Under 2011 publicerades en studie om effekter på könsut-veckling hos fisk nedströms en fransk steroidfabrik [28]. För några år sedan skrev norsk dagspress flera artiklar om syste-matiska och tämligen omfattande utsläpp av bacitracin, ett antibiotikum, från en fabrik i Oslo.

AstraZeneca rapporterade 2011 om att orenat processav-loppsvatten innehållande läkemedelsrester under ca 4 måna-der av misstag gått direkt till ett av Stockholms avloppsre-ningsverk utan att först passera deras eget reningsverk i Gär-tuna. Företagets bedömning var dock att halterna inte utgjor-de någon risk för människor eller miljön.

Effekter och risker kopplade till utsläpp

Vi har i flera studier undersökt giftigheten hos avloppsvattnet från reningsverket i Patancheru för en rad olika organismer (Tabell II). Redan vid några få procents inblandning är av-loppsvattnet akut giftigt för fisk, vattenlevande kräddjur och mikroorganismer samt påverkar grobarheten hos växter [5, 31]. Det ska jämföras med en initial spädning om ca 1:5 i vat-tendraget som passerar reningsverket [6]. Tillyväxten hos grod-nygel reduceras med 40 procent vid exponering för avlopps-vatten som späts ut hela 500 gånger med rent vatten [31], och denna spädning påverkar även fiskar [30]. Det tyder på att ut-släppen kan ge effekter även långt från utsläppskällan.

Området kring Patancheru klassificeras som en av Indiens mest förorenade platser. Det är dock inte bara läkemedelsin-dustrins utsläpp som har bidragit till den lokala miljöförstö-ringen, utan även annan industriell verksamhet. Det saknas, så vitt jag vet, oberoende expertgranskade studier av hälsan hos befolkningen. Enligt en studie från Greenpeace 2004 som omfattade ca 11 000 personer rapporterades att en rad olika sjukdomar var kraftigt överrepresenterade hos människor boende i Patancheru-området jämfört med invånare från re-ferensområden [34].

Drivkrafter bakom skenande antibiotikaresistens

För antibiotika finns det en risk att effekterna av utsläpp når långt bortom närområdet. Vi vet att användning, överan-vändning och felanvändning i kombination med bristande hygien och ökat resande är de huvudsakliga drivkrafterna bakom den skenande resistensutvecklingen. Man tror att den yttre miljön tjänar som en reservoar för resistensgener [35]. Det är väl känt att de flesta resistensgener har en betydande genetisk mobilitet och kan överföras mellan arter, tex via plasmider.

Vi vet också att många humanpatogena bakterier har för-värvat resistensgener under de senaste decennierna efter in-förandet av antibiotika i världen. De resistensgener vi finner i många patogener är ofta helt identiska med dem som i låg frekvens finns naturligt i för oss harmlösa bakterier i den ytt-re miljön.

Det tyder på att det finns ett genetiskt flöde mellan bakte-riearter och mellan mikrobiella ekosystem; annars skulle sannolikt generna ha varit mer varierade. Hur stort detta flö-de är och under exakt vilka omständigheter det gynnas är oklart. Det är rimligt att anta att en hög frekvens av resistens-gener i kombination med ett långvarigt selektionstryck av antibiotika ökar risken för horisontell överföring av resi-stensgener mellan arter.

DNA-sekvensering av bakteriesamhällen

Den stora majoriteten av miljöbakterier går inte att odla på la-boratorium och därmed inte heller att resistenstesta med känd standardmetodik. För att kunna studera mer än kanske bara någon procent av bakterierna i ett prov från den yttre miljön, krävs därför ofta DNA-analys av hela bakteriella sam-hällen, och detta är ett angreppssätt som kan ge information om den genetiska basen för resistens.

Analys med PCR-teknik är en metod att leta efter resistens-gener. Den tekniken tillåter dock bara att man analyserar ett begränsat antal gener i taget. Eftersom det finns 1000-tals kända och säkerligen även många okända varianter av resi-stensgener, har PCR därför betydande begränsningar. Olika former av massiv parallell DNA-sekvenseringsteknologi har å andra sidan öppnat för helt nya möjligheter att analysera före-komsten av 1000-tals resistensfaktorer i en och samma ana-lysis.

Vi har sekvenserat DNA från flodsediment upp- och ned-ströms reningsverket i Patancheru och fann en kraftig anrik-ning av flera olika resistensgener och en ökad förekomst av olika genetiska element kopplade till resistensgeners mobili-tet (plasmider, transposaser, integraser) [7]. Sjutton kilome-ter nedströms det indiska reningsverket var resistensgener fortfarande kraftigt överrepresenterade. Ytterligare studier har påbörjats kring resistens och resistensgener hos bakterier från brunsvatten och bevattnad åkerjord samt tarmflora hos den lokala befolkningen.

Aktiv slamrening kan öka risken för antibiotikaresistens

Reningsverket i Patancheru tillämpar aktiv slamrening. Det innebär att slam med bakterier från slutet av processen åter-förs till ett tidigare reningssteg. Även i Sverige är detta en van-lig teknologi vid många reningsverk för att anrika de bakte-rier som kan leva på den näring som inkommande vatten innehåller. Resultatet, och syftet med teknologin, är vanligen en mer effektiv rening av inkommande kemikalier och annat organiskt material. Men om det inkommande vattnet inne-håller höga koncentrationer av antibiotika medför aktiv slam-rening en utpräglad selektion för högresistenta bakteriestam-mar.

Larsson (2008) och Larsson och Fick (2009) har därför fö-reslagit att alternativa metoder borde användas för rening av avloppsvatten med höga halter av antibiotika [4, 23].

Vissa humana patogener, särskilt vattenburna sådana, är vanligt förekommande i den yttre miljön och så även i re-

»För antibiotika finns det en risk att effekterna av utsläpp når långt bortom närområdet.«

ningsverk (*Vibrio cholerae*, *Shigella*, *Salmonella* mfl). För dessa finns en risk att höga halter antibiotika i vattnet direkt kan selektera för resistenta patogena stammar utan att nödvändigtvis involvera horisontell genöverföring.

Det finns ytterligare studier, baserade på odling eller PCR, som visar ökad resistens bland bakterier nedströms produktionsanläggningar för läkemedel, däribland en lite äldre dansk studie [29]. Li et al har visat att resistenta bakterier är mer vanliga nedströms såväl en anläggning för oxitetra-cyclinproduktion som nedströms en fabrik som tillverkar penicillin [15, 32]. Betalaktamer, däribland penicillin, är till skillnad från tetracykliner och fluorokinoloner ofta relativt lättnedbrytbara, och man fann därför endast låga halter av dessa i avloppsvattnet [33]. Dock föreföll det som om det fanns ett selektionstryck för bakterier att utveckla betalaktam-resistens inne i reningsverket och att dessa bakterier sedan spreds nedströms.

Resistenta bakterier kan sprida sig snabbt över jorden

Resistensgener liksom resistenta bakterier har en tendens att sprida sig, ibland ganska snabbt, över jorden. Det berör således även vår hälsa här i Sverige hur länder som Kina och Indien hanterar sin resistensproblematik. Utvecklingen av resistenta patogener är ett av de största hoten mot den globala folkhälsan enligt WHO. Att bakterier utvecklar resistens kan betraktas som ett pris vi betalar för den nytta antibiotika gör i vården. Vilken roll miljön spelar för resistensutvecklingen vet vi inte i dag. Det möjliga priset vi riskerar att betala för att ta denna risk, som inte tillför värden någonting, är mycket stort. I brist på kunskap finns därför goda skäl att tillämpa försik-

tighetsprincipen och begränsa all onödig antibiotikaexpone-ring.

En mer hållbar läkemedelsproduktion är möjlig

Det finns i dag effektiv teknik för att avlägsna aktiva läkemedelssubstanser från avloppsvatten. Tyvärr saknas, överlag, såväl krav från myndigheter som tydliga ekonomiska incitament för investering i grön teknologi. Några initiativ som tillsammans skulle kunna förbättra situationen avsevärt är att

- tydliga miljökrav ställs vid upphandling av läkemedel till vården
- miljöaspekter inkluderas i det europeiska ramverket kring »god tillverkningssed« (GMP)
- transparensen i läkemedelskedjan ökar
- miljöpåverkan vägs in vid prissättning och subventionering av läkemedel
- frivilligt miljöarbete från industrin med sina underleverantörer fördjupas.

Min bedömning är att Sverige har unika förutsättningar att leda utvecklingen mot en mer hållbar läkemedelsproduktion på ett internationellt plan. Genomförandet kräver dock ett gemensamt, aktivt ansvarstagande från många olika aktörer.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

Kommentera denna artikel på Lakartidningen.se

REFERENSER

- Larsson DGJ, de Pedro C, Paxeus N. Effluent from drug manufac-tures contains extremely high levels of pharmaceuticals. *J Hazard Mater.* 2007;148:751-5.
- Fick J, Söderström H, Lindberg RH, et al. Contamination of sur-face, ground, and drinking water from pharmaceutical production. *Environ Toxicol Chem.* 2009;28:2522-7.
- Kristiansson E, Fick J, Janzon A, et al. Pyrosequencing of antibiot-ic-contaminated river sediments reveals high levels of resistance and gene transfer elements. *PLoS One.* 2011;6(2):e17038.
- Holm JV, Rugge K, Bjerg PL, et al. Occurrence and distribution of pharmaceutical organic com-pounds in the groundwater downgradient of a landfill (Grindsted, Denmark). *Environ Sci Technol.* 1995;29:1415-20.
- Bisarya SC, Patil DM. Determination of salicylic acid and phenol (ppm level) in effluent from aspirin plant. *Res Ind.* 1993;38:170-2.
- Cui CW, Ji SL, Ren HY. Determination of steroid estrogens in wastewater treatment plant of a contraceptives producing factory. *Environ Monit Assess.* 2006;121:409-19.
- Wang FQ, Zhang CG, Li B, et al. New microbiological transforma-tions of steroids by streptomyces virginiae IBL-14. *Environ Sci Technol.* 2009;43:5967-74.
- Li D, Yang M, Hu JY, et al. Antibiot-ic-resistance profile in environ-mental bacteria isolated from penicillin production wastewater treatment plant and the receiving river. *Environ Microbiol.* 2009;11:1506-17.
- Li D, Yang M, Hu J, et al. Determi-nation and fate of oxytetracycline and related compounds in oxyte-tracycline production wastewater and the receiving river. *Environ Toxicol Chem.* 2008;27:80-6.
- Sim WJ, Lee JW, Lee ES, et al. Occurrence and distribution of phar-maceuticals in wastewater from households, livestock farms, hos-pitals and pharmaceutical man-ufactures. *Chemosphere.* 2011;82:179-86.
- Babic S, Mutavdzic D, Asperger D, et al. Determination of veterinary pharmaceuticals in production wastewater by HPTLC-videodensitometry. *Chromatographia.* 2007;65:105-10.
- Energie AfUu. Rhein-überwach-ungs-Station Weil am Rhein. Jahresbericht 2003. 2004 [citerat 25 mars 2011]. http://www.aue.bs.ch/jb_2003.pdf
- Prasse C, Schlusener MP, Schulz R, et al. Antiviral drugs in wastewater and surface waters: A new pharma-ceutical class of environmental relevance? *Environ Sci Technol* 2010;44:1728-35.
- Zühlke S, Dünnbier U, Heberer T. Detection and identification of phenazone-type drugs and their microbial metabolites in ground and drinking water applying solid-phase extraction and gas chroma-tography with mass spectrometric detection. *J Chromatogr A.* 2004;1050:201-9.
- Phillips PJ, Smith SG, Kolpin DW, et al. Pharmaceutical formulation facilities as sources of opioids and other pharmaceuticals to waste-water treatment plant effluents. *Environ Sci Technol.* 2010;44:4910-6.
- Peele ER, Singleton FL, Deming JW, et al. Effects of pharmaceu-tical wastes on microbial popula-tions in surface waters at the Puer-to Rico dump site in the Atlantic Ocean *Appl Environ Microb.* 1981;41:873-9.
- Sanchez W, Sremski W, Piccini B, et al. Adverse effects in wild fish living downstream from pharma-ceutical manufacture discharges. *Environ Int.* 2011;37:1342-8.
- Guardabassi L, Petersen A, Olsen JE, et al. Antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. isolated from sewers receiving waste effluent from a hospital and a pharmaceu-tical plant. *Appl Environ Microb.* 1998;64:3499-502.
- Gunnarsson L, Kristiansson E, Rutgersson C, et al. Pharmaceuti-cal industry effluent diluted 1:500 affects global gene expression, cytochrome P450 1A activity, and plasma phosphate in fish. *Environ Toxicol Chem.* 2009;28:2639-47.
- Carlsson G, Örn S, Larsson DGJ. Effluent from bulk drug produc-tion is toxic to aquatic vertebrates. *Environ Toxicol Chem.* 2009;28:2656-62.
- Li D, Yu T, Zhang Y, et al. Antibiot-ic resistance characteristics of environmental bacteria from an oxytetracycline production waste-water treatment plant and the re-ceiving river. *Appl Environ Microb.* 2010;76:3444-51.
- Li D, Yang M, Hu JY, et al. Deter-mination of penicillin G and its degradation products in a penicil-lin production wastewater treat-ment plant and the receiving river. *Water Research.* 2008;42:307-17.