

## 会議テーマの要約

### テーマ I 「環境におけるヒト及び動物用医薬品の存在とその運命」

今回の Envirpharma で発表された結果や、複数の国家モニタリングプログラム (Kolpin *et al.*, Zuccato *et al.*, 及び Sacher *et al.*) から得られた結果のすべてからみて、ホルモンを含む様々な治療薬分類に属する莫大な数の医薬品及びその他のパーソナルケア製品 (例えば、麝香香水、造影剤) が、農薬、可塑剤、難燃剤など他の種類の有機化合物と共に、我々の水域環境及び陸域環境中に幅広く存在していることが現在確認されている。

環境濃度 (十億分率 (ppb)) でこれらの化合物を検出するには高速液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/質量分析-質量分析 (HPLC/ESI/MS-MS) またはガスクロマトグラフィー-質量分析 (GC-MS) などの強力な分析ツールが必要である。迅速測定法も現在検討されており、例えばラジオイムノアッセイ (RIA) がある (Ingerslev *et al.*)。種々のマトリックス (廃水、土壌、粒子、スラリー) 中の医薬品を分析するために、様々な方法が利用可能である。存在の有無及び濃度には、分析対象の医薬品によっても、また陸上系 (集約農業、繁殖地域) または水域系 (地表水、地下水、都市部、水流…) であるかによっても相違がある。さらに、同じ治療に使用される医薬品あっても存在の如何や、下水処理施設からの流出液中で測定される濃度はその地方の処方習慣に依存することになる。

結果からは、水域系にあってはヒト用医薬品による汚染源は主に下水処理施設 (STP s) とその処理排水 (一部のヒト用医薬品は大部分代謝されずに排泄される) であり、土壌にあっては汚染源は動物用医薬品の残留物を含有する液状堆肥や糞の散布であることが確認される。病院の排水は抗生物質や抗癌剤などの化合物による主な汚染源となり得る。傾斜ろ過中に一部の薬物は除去されるが、都市近郊では傾斜ろ過法による前処理を行っても他の極性化合物が供給飲料水を汚染する可能性がある (Heberer *et al.*)。また、測定された濃度範囲はモニターした水域系によって数オーダーの大きさで異なり、一部の地表水では ng/L 未満~µg/L であり、下水処理施設の処理排水では 10 µg/L 未満程度である。

ヒト用医薬品を効率よく除去し分解するには下水処理施設の能力が低いことが、多くの研究において主な焦点となっている。これらの処理システムにおける医薬品の運命の研究に多くの努力が払われている (Siegriest *et al.*, Alder *et al.*, Paxeus *et al.*)。主な研究結果により、除去効率は薬物 (疎水性の場合は細胞表面に吸着されるか、細胞に吸収される) や、好氣的及び嫌氣的分解への感受性に依存していることが示されている。さらに、化合物の生物による分解は処理施設の特性及び操作条件にも依存する。

例えば、多くの研究例で、カルバマゼピンまたはジアゼパムなどの中性物質は全く除去されないが、塩基性β遮断薬などの塩基性薬物は除去率が低く、酸性化合物 (ジクロフェナク、ベサフィブラート、イブプロフェンなど) は最も効率よく除去されることが示されている。一方、天然または合成エストロゲンは 80%以上が除去されると推定され、最終汚泥中に検出されるステロイド型エストロゲンは 5%未満である。

酸化処理過程は下水処理施設の排水中の薬物除去率を向上させ、給水の品質を保証するのに有用な手段であることが立証されている。オゾン処理は下水処理施設の排水中のエストロゲン

活性 (YES アッセイ) を有意に減少させると思われる (Ternes *et al.*)。酸化処理による薬物除去効率は処理条件に依存している。酸化過程が大幅に改善されれば、対象薬物の如何を問わず、事実上の薬物除去につながる。しかし、分解産物が形成される場合には、分解物の運命とその影響についての情報はない。

排水浄化貯水池や砂礫フィルター、集水池などを用いた下水処理の後処理段階では水域生態系への排出前に効率よく薬物が除去されることが示されているが、それらもまた化合物の特性及び処理条件に依存している (Kreuzinger *et al.*)。

水域環境、特に堆積分画中の医薬品の残留についてのデータはほとんど得られていない。実験室レベルでの水-沈殿系における分解試験に基づいた研究では、一部の薬物には水中及び沈殿中に長時間わたる残留性があることが示された (>100 日間)。代謝物試験とともにそのような分解試験を登録過程の一部として実施するように標準手順書 (OECD No.308) で推奨されている (Rombke *et al.*)。

動物用医薬品 (例えば、抗生物質) については、動物の尿及び糞排泄を介して、または肥料として用いられた堆肥によって環境へばら撒かれる。これらの排泄物質が土壌へ放出された後に地表水及び地下水へと移動する可能性について現地調査及びライシメーター試験によって評価が行われている。(Kay *et al.*, Blackwell *et al.*)。地下水への移動モデルの使用とその有効性の検証について討議が行われた (Montforts *et al.*)。

土壌間隙水中における抗生物質の移動に及ぼす環境因子 (pH、温度、光) の影響が実験室レベルで研究された (Jacobsen *et al.*, Soeborg *et al.*)。

堆肥散布数ヵ月後の砂状土壌中に抗生物質残留物 (オキシテトラサイクリン、スルファクロロピリダジンなど) が認められる (半減期は 2 桁オーダーの範囲で異なる (1~100 日間))。しかし、自然の降雨条件下ではスラリー中で分解するために浸出液中に残留物は検出されなかった。土壌におけるリスク緩和手段や吸収または分解を研究する目的で製品を調査する場合には、このことは重要な過程であると推察される。しかし、現地調査によれば、高い吸着係数の化合物は土壌排水から地表水へと到達するようである。さらに、土壌を耕作することで残留物の地表水への移動を有意に減少させることができる。

## 結 論

現在、下水処理施設の排水及び地表水中に医薬品が存在し、程度はそれより小さいものの地下水にも低濃度で存在することが一般的な認識である (廃水では 50 µg/l 未満、下水処理施設は 10 µg/l 未満、地表水では µg/l 未満)。今後、これらのモニタリングデータをより有効に利用しなければならない。

しかし、淡水だけでなく、海水や土壌、空気、生物相、堆積物などまだデータが得られていない他の媒体を考慮すると、曝露濃度についての知見は非常に異なってくる。同様に、土壌への堆肥散布前後の肥料または汚泥中におけるヒト及び動物用医薬品の濃度及び残留性についても、またそれらの土壌微生物相への影響や土壌及び作物への移動についてもデータはほとんど得られていない。分析手段が有効に機能しつつあるので、モニタリングプログラムにこれらの化合物を組み込む可能性について評価が可能となるであろう。

下水処理施設または環境（水、土壌、堆積物）における医薬品の運命についての知見は、予想以上に未だ不完全である。その運命は、医薬品の物理的・化学的特性（分解、吸収）及び下水処理施設機能に高く依存していることが示されている。従って、その運命及び移動に関するモデルについてさらに広く確認されなければならない。

主な不足情報と今後研究展開が望まれる領域：

- 下水処理施設及び土壌汚染におけるヒト及び動物用医薬品の残留性及びその意味。
- 河口水、海水及び汽水におけるこれらの化合物の残留性及び存在、さらに一般的にはこれらの化合物の環境における半減期。
- 淡水生態系や河口生態系における堆積物の汚染レベル
- 下水処理施設、特に非疎水性化合物の吸着モデルにおける代謝物の運命、及び生物による医薬品の分解性。
- 下水処理施設の処理排水に由来する薬物の生態系への急性作用が疑われない場合でも、例えば、汚泥の拡散によって土壌中で抗生物質耐性が獲得されるというような微妙な環境影響が問題となる。
- 酸化処理で処理排水中の薬物量が効率よく低下した場合でも、分解産物の運命と環境への影響の特定。
- 化合物の移動及び運命に関するモデルの有効性を検証する研究（シナリオ選択、基準の定義、現地調査データの質確保）。

## テーマ II 「環境における医薬品の影響」

標準的な分析手段 (Ferrari *et al.*) または微小生態系などのさらに洗練されたシステム (Solomon *et al.*) を用いて、淡水、堆積物 (水底の)、土壌生物 (土壌及び活性汚泥中にみとめられた微生物を含む)、並びに土壌及び活性汚泥中にみとめられた微生物に及ぼす影響について一部の医薬品を対象に検討されている。特定の問題を対象とし、曝露状態を再現する新しい研究方法を開発する努力がなされている (Doncel *et al.*)。複合効果 (Solomon *et al.*)、モデル開発とその解釈 (Altenburger *et al.*) に取り組んだ研究の成果は、ほとんど得られていない。個別医薬品への曝露について検討しても、その際、代謝物への曝露については考慮されていないのが一般的である。しかし、コルチコステロイド分解産物の毒性に関するある研究によれば誘導体化合物によっては親化合物より高い毒性を発現する可能性があることが示されている (Isidori *et al.*)。

今回発表された結果では、淡水生物に対する急性の影響は、地表水あるいは処理排水中で測定される濃度ではほぼみられないが、急性/慢性の影響比は非常に高い (>1000) 場合があり、環境濃度における長期的にみた影響を除外することはできない。予測無影響濃度(PNEC)を評価するには慢性作用を考慮すべきである。

植物及び藻類 (藍藻など) は抗生物質に対して感受性があると推定されるので、生理学的指標や代謝指標を使用して影響を測定する。一方、淡水微小甲殻類の生殖能力は、評価指標として、他の種類の医薬品を検査するために最も感受性が高いと思われる。ユスリカ及びミミズによる 28 日間試験など、バイオアッセイを用いた堆積物内生物に対する医薬品の毒性に関する試験の結果はまだほとんど得られていない (Nentwig *et al.*)。水生生物に関しては、生殖能力を評価指標として測定した場合、カルバマゼピンには環境レベルに近い濃度で毒性がある。

現在の環境リスクアセスメント(ERA)ガイドラインでは、急性データのみを使用すると医薬品の環境リスクに関する分類が不正確になる可能性があるとするデータが示されている。下水処理施設の汚泥中の微生物活動 (Stamatialeou *et al.*)、微生物耐性及び植物 (Halling-Sorensen *et al.*, Schmitt *et al.*) に対する医薬品の毒性を検討するための研究が行われている。さらに、抗生物質 (クロロテトラサイクリン、チロシン、スルファニルアミド) とその副産物 (Halling-Sorensen *et al.*) の影響に関する研究が行われたが、概して微生物には明らかな影響はみられなかった。土壌中の医薬品の運命及び影響を評価する目的で複数特定種を含有する土壌系及び段階的研究法が開発されている。これらの実験室レベルの研究では、様々な生物種及び評価指標を利用して毒性試験と薬物の迎る運命 (消失及び浸出等) とを統合して捉えることで、土壌生物 (例、植物、ミミズ) 及び水生生物に及ぼす影響を評価している。活性汚泥中の影響に関しては、被験医薬品 (主に抗生物質またはトリクロサンのような殺生物剤) が高濃度 (~10 mg/l) のときのみ、汚泥の生物学的処理反応 (硝化作用、嫌気性消化) に対して有意な影響を及ぼすようである。

土壌生物については、最もよく用いられる動物用医薬品は駆虫薬で、糞甲虫や双翅類などの非標的陸生甲虫へ影響を及ぼす可能性がある。それらの薬剤は投与したウシの糞中に排出され、昆虫の活動を低下させたり、幼虫の死亡率を増加させる。非標的生物に及ぼすそのような影響は、食物資源を減少させることによる生態系構造の変化や、生態系機能の変化 (例えば、糞分

解)として現れる可能性がある(Lumaret *et al.*)。他の試験によれば、いくつかの生物種で有意な減少が観察されたとしても、土壌動物相の群生は一般にクロルテトラサイクリン(CTC)、チロシン、スルファニルアミド及びそれらの分解物などの抗菌薬を含有する堆肥の散布による影響を一般には受けなかったと思われる。穀物(春まき大麦 *Hordeum vulgare*)への汚染の可能性に関する研究では、非常に低含有量のCTC (<1 µg/kg dw)のみが穀物中から検出されたことが示されている。

微生物学的影響に関しては、堆肥の改良が抗菌薬耐性のレベルに影響を及ぼした。しかし、最終的(曝露150日後)には耐性レベルは開始時に観察されたものと同じ範囲内であった。さらに、抗菌薬を散布しても堆肥のみ散布した場合に測定した耐性以上に耐性レベルが高度化することはなかった。しかし、環境関連細菌への遺伝子移行や嫌気性細菌についてのデータはまだない。さらに、細菌の生理学的処理反応を複数調べることによって土壌微生物群生に及ぼす影響を評価する目的でこれらの抗菌薬について試験が行われている(PICT法、Blank 1998年)。その結果、数mg/kgの曝露で土壌生物に対する影響が検出されている。

## 結 論

医薬品の有害性を評価するために“工具箱”(単一種から複数種アプローチまで)から方法の選択ができるが、環境内の妥当な濃度で検討している例はほとんどない。現在、短期間の急性試験は、医薬品などの化合物の影響を予測するには適切でないこと、またこれらの化合物の影響特性はLC50/1000を上回ることを示すデータがある。非殺生物性医薬品の急性毒性は低いが、時として、非常に特異的な評価指標や生態学的受容体に対して特異的な影響を伴った非常に高い急性/慢性毒性比を示すことがある。従って、評価指標、生物種及び曝露期間は慎重に選択しなければならない。

殺生物性医薬品では急性の影響作用が観察されることがあり、高度選択性の薬物は特に生物の多様性に対して影響する。都市下水処理施設では同じ作用機序を持つ複数の医薬品が検出されることが予測され、それも同時に排出されることになる。しかし、医薬品の複合的な影響を評価するための概念及びモデルが利用できるとしても、検討の結果、それも特に環境で妥当な濃度での長期的影響についての結果はまだ得られていない。

主な不足情報と今後の研究展開が望まれる領域：

- 医薬品の長期リスクアセスメントを向上させるために、医薬品の作用様式に基づいた評価指標の開発が必要であること。
- 複合毒性試験の不足情報を補充し格差を埋め、その応用法を開発すること。
- 親化合物とその代謝物への共曝露による毒性作用を評価すること。
- 医薬品の作用様式及び使用法に基づいて評価指標、生物種及び試験期間を選択すること。
- 水及び土壌中にあるヒト及び動物用抗菌薬の遺伝子耐性移行及び微生物群生の変化に及ぼす影響に関する知見の改善を図ること。

### テーマ III 「ヒト及び動物用医薬品の環境リスクアセスメント」

動物用 (Hoogland *et al.*, De Knecht *et al.*, Koschorreck *et al.*) 及びヒト用 (Kolossa-Gehring *et al.*) 医薬品の環境リスクアセスメント (ERA) に関する EU ガイドラインが現在検討されている。他の化学化合物 (農薬、殺生物剤…) と同じ原則に則り、これらの ERA 手順書は推定無影響濃度の算出、推定曝露濃度及び危険指数算出値に基づくものである。

これらのガイドラインの一部 (曝露アセスメントまたは影響アセスメント) は現在入手可能であり、議論の途上にある。新しい動物用医薬品の環境リスクは市販承認の枠内で評価されている。ERA のガイダンスは 2 相の草稿が欧州医薬品評価局 (EMA、ロンドン) によって公表されている (EMA/CVMP/055/96)。このガイダンス文書の第 I 相は 2001 年 VICH (動物用医薬品の承認審査資料のための技術要件のハーモナイゼーションに関する国際協力) ガイドラインによって差し替えられた。VICH 第 II 相ガイドラインは作成中である。第 II 相ガイドラインの策定に利用される予定のトリガー値、方法論及び基準、並びに手順書のハーモナイゼーションのあり方について問題点が提起されている。事例研究 (スルファクロロピリダジン) が 1 件報告された (Boxhall *et al.*)。

ヒト用医薬品の場合、欧州ではガイダンスの最終的枠組みがまだ構築されていない。新しい医薬品の ERA におけるガイダンス文書は目下、2 段階から成るアプローチ法に基づき、EU 専門家グループによって作成中である。第 I 段階目はトリガー値 (地表水) を  $0.01 \mu\text{g/l}$  した推定曝露濃度の算出であり、これが第 II 段階目で評価されることになる。ガイダンス策定に向けた初期の草稿は、準致死量レベルでの影響と慢性作用とを含まない急性データのみに基づいたものであったうえに、特定の生物学的活性 (内分泌攪乱、遺伝毒性) も考慮していない (Knacker *et al.*)。EU 専門家グループが作成中の新しい案は、新規化学物質及び既存化学物質のための技術ガイダンス案 (TGD) で知られているリスクアセスメントアプローチに基づくものである。

ERA 手順書では、医薬品に関する既存の知識を考慮するとともに、魚類への影響や作用機序を予測するために入手可能な毒物学的データを統合することが提案されている (Murray-Smith *et al.*, Hartmann *et al.*)。

#### 結 論

医薬品の ERA は、まず医薬品が排出される環境区画における運命と影響の評価に基づいて行われ、次にリスク特性を明らかにし、必要があればリスク緩和策が講じられる。最初の段階で、予測環境濃度が決定され、トリガー値と比較される。しかし、長期影響データの欠如、下水処理施設における分解または堆肥への吸着や土壌への移行に関する情報の欠如など、満足いく ERA の展開を妨げる情報不足がある。さらに、現在の ERA には、多様な目的をもって使用される医薬品の排出をどう統合して捉えるのかについてガイドラインが提示されていない。

魚類環境毒性を予測するために医薬品の作用機序に関する情報や入手可能な哺乳類毒性データを利用するなど、医薬品ハザードアセスメントに適切と思われる新しいアプローチ法がいくつかある。しかし、これらアプローチ法の ERA における有用性に関する情報は、今後もなお必要である。

農薬、殺生物剤、工業用化学物質及び医薬品に関するリスクアセスメント手順書を統合調和させることの妥当性について問題点が提起されている。

主な不足情報と今後の研究展開が望まれる領域：

- ヒト及び動物用医薬品の ERA を巡るガイダンスの基本概念におけるトリガー値の科学的妥当性の検証、これが徹底した ERA を実施する必要性の有無を決める。
- 長期影響データの欠如
- 次の事項に関する知見：
  - 堆肥及び下水処理施設における医薬品の分解
  - 医薬品の吸着性及び脱着性
- ERA における異なる作用機序の医薬品の使用とそのデータの統合。追加生物種における影響アセスメント、特に無脊椎動物を使用する妥当性のデータ統合。
- 特異的な生物学的メカニズム（例、ホルモン作用、細胞増殖抑制作用及び抗菌作用）を対象とする適切な評価指標の決定及び標準化、並びにリスクアセスメント体系へのこれら特異的作用の統合。糞甲虫に対する動物用駆虫薬の毒性アセスメントのための標準化した試験手順書の開発。
- 排泄された代謝物及び環境中で形成された分解産物の辿る運命とその影響。
- （農薬、殺生物薬及び医薬品に関する）ERA を統合調和させる可能性とその方法。
- 現在、ERA は新しい医薬品の承認審査過程でのみ実施されている。数年前に市販され、様々な環境区画において検出可能な既存医薬品の環境リスクアセスメントが必要であること。
- 医薬品残留物を含有する地下水及び飲料水に関するリスクアセスメントの概念及びリスクマネジメント基準の確立。

## テーマⅣ 「ヒト及び動物用医薬品のリスクマネジメント」

環境中への医薬品残留物の排出を減少させるか、防止するために、医薬品ライフサイクルの様々な段階（すなわち、製造時、流通時、ヒト及び動物用医薬品の使用時、廃棄時）で、リスクマネジメントを実施しなければならない。

欧州の法律では、期限切れ医薬品は一般家庭ごみとして廃棄してよいことになっている。そのため、家庭ごみの埋め立地内で漏れ出して測定できるほどの地下水汚染が生じる可能性がある。

環境曝露を減少させるために、ライフサイクルの全ての段階でヒト及び動物用医薬品の承認審査過程だけでなくそれ以外にも医薬品ライフサイクルの全ての段階において適切なリスク緩和策について慎重な検討が可能である。例えば、対応策としては、使用法及び廃棄法について製品に表示することや農業用地への下水汚泥散布を禁止すること等が提案されている。

現在、ストックホルム州議会では環境分類システムに基づく医薬品残留物の管理が実践されている。このような管理には様々な利害関係者間における様々なレベルの活動と緊密な協力が必要である。製薬産業は医薬品による環境面への懸念を認識しており、環境への負荷を減らすために患者から医薬品廃棄物を回収することを目的に様々な活動（例、フランスでのCYCLAMED）を実践している。

下水及び上水処理において、オゾン処理、光分解及びマイクロ波処理などの様々な酸化処理を適用してヒト用医薬品残留物の低減策が採られた。病院排水中の抗生物質及び細胞毒性医薬品の量の低減策としても酸化処理実験は功を奏している。添加処理した排水を用いて実験室レベルの処理施設で酸化技術を適用すると、排水の一般毒性及び遺伝毒性は低下する。さらに一般的には、下水を酸化処理する方法は下水処理施設排水からのヒト用医薬品の排出を最小限に抑えるための有望な手段である。

飲料水の製造において、他の微小汚染物質に対して一般に活性炭吸着、複合膜濾過またはオゾン処理などの処理工程が実践されているが、これらの処理で医薬品についても同様に有望な成績が得られている。

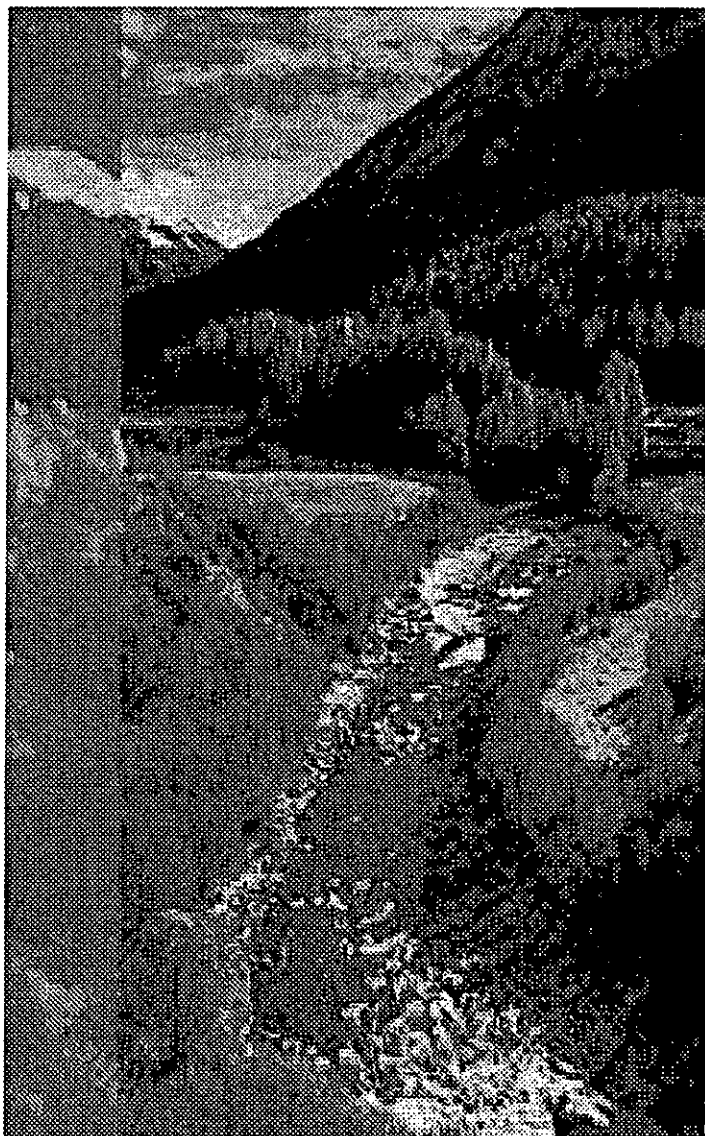
### 結 論

医薬品の除去及び辿る運命については標準化された方法による評価が可能である。現在の方法にも改良の必要性があるが、下水処理施設及び環境において医薬品の辿る運命を十分正確に予測する手段があるのでこれを必ず利用することである。下水及び上水処理時に医薬品残留物を除去するための処理技術が利用可能であるが、処理コストについての検討が必要である。医薬品の使用、特に生活改善薬（抗肥満薬、バイアグラなど）の使用については、環境へのリスクを最小限とするために新たに評価を実施すべきである。医薬品の環境適合性に関する段階的分類システムは費用対効果が大きく、効率のよい管理方法を開発するのに役立つであろう。



主な不足情報と今後の研究展開が望まれる領域：

- 有益なリスク緩和策並びに環境及び許容度に関して段階的な分類システムを医薬品の承認審査過程に組み込む努力がさらに必要であること。• 緩和策を支援するための情報及び教育キャンペーンが有用と推定されること。
- 医薬品残留物による地下水及び飲料水汚染を最小限にする努力が必要であること。上流たる発生源で汚染を最小限に抑えることによって、下流たる後段階で費用のかかる処理を避けることができる。
- しかし、代謝物及び分解産物の辿る運命及び毒性などの、処理排水の毒性の低下に関するデータはなお欠如していること。

**ENVIRPHARMA**  
european conferenceon **Human & Veterinary  
Pharmaceuticals**  
in the **Environment****ENVIRPHARMA****Final report****Authors**

- **Jeanne Garric**  
CEMAGREF, (Lyon) France  
Chair of the scientific committee
- **Ashley Tilghman**  
CEMAGREF, (Lyon) France  
scientific secretary
- **Arnaud Cogoluègnes**  
Computer scientist  
CEMAGREF, (Lyon) France

## Preamble

Pharmaceuticals in the environment represent an emerging environmental issue, and recently a great interest has developed in the scientific community regarding the presence of drugs in the environment. During the last 5 years, several research projects dealing with both human and veterinary drugs have been funded by the European Commission/DG RTD (*Eravmis, Poseidon, Rempharmawater*) or by other national bodies in Europe to fill the gap of information on the occurrence, fate, effects in ecosystems, and removal techniques of human and veterinary drugs. In close collaboration with this Pharma-cluster, the organisation of a conference dealing with the environmental issues of the pharmaceuticals has been proposed.

This conference, completely devoted to the problem of pharmaceuticals in the environment aimed to present to the widest public (scientists, water utilities, industrials and regulators) recent results available about the occurrence, fate, effect and risk management of veterinary and human medicines. This issue is of community wide interest. Comprising presentations of the research performed during European and national projects, as well as on-going works, the conference provided a forum to discuss and identify key issues relating to pharmaceuticals in the environment at the European level. The conference also aimed to promote the development of a network for future research and collaborations.

ENVIRPHARMA, organised by CEMAGREF along with the co-ordinators of the three ongoing European projects, was held at the Ecole Normale Supérieure (ENS) in Lyon, France from April 14 to April 16, 2003.

Four main objectives were mainly pursued :

- From the three European (*Eravmis, Poseidon, Rempharmawater*) and national research projects, to define a state of the art profile,
- To transfer to end-users and to interested parties the available information dealing with veterinary and human pharmaceuticals in the environment,
- To identify the future needs and gaps for research investigations,
- To discuss the aims for an European research network focusing on the environmental risk management of these substances.

At least to provide a forum to allow exchanges between scientists, end –user and regulators working in this field.

From the acceptance of the project the persons who agreed to participate to the committee have been contacted. The final list of the people involved in the committee is displayed below:

**Pr. Andreozzi Roberto**, University of Naples (I)

**Dr. Boxall, Alistair**, Cransfield University, UK

**Dr. Garric Jeanne**, Cemagref, Lyon (F)

**Dr. Grein Kornelian**, EMEA, London (UK)

**Mrs. Haavisto Kirsi**, European Commission, Community research, (Bruxelles (B)),

**Pr. alling-Sørensen Bent**, Royal Danish School for Pharmacy, DK

**Dr. Janex Marie-Laure**, CIRSEE, Suez Environnement Local Services –Pôle Qualité Eau, Paris, (F)

**Dr. Knacker Thomas**, ECT Ecotoxicology, Flörsheim (G)

**Dr. McHenry John G**, Schering-Plough Animal Health, (representing FEDESA), (UK)

**Dr. Rönnefahrt Ines**, Federal Environment agency , Berlin (G)

**Mme Sibenaler Claire**, LEEM (Les Entreprises des médicaments), Paris (F)

**Dr. Ternes Thomas**, German Federal Institute of hydrology (BfG) , Koblenz (G)

Envirpharma Conference was organised in five sessions and held over three days in April 2003. Five sessions were organised and devoted to the following aspects:

- 1) Occurrence and fate of human and veterinary pharmaceuticals in the environment
- 2) Effects of pharmaceuticals in the environment
- 3) Environmental risk assessment for human and veterinary medicines
- 4) Risk management for human and veterinary medicines
- 5) Future research.

The last ½ days (Theme V, Future research) was partly devoted to a large discussion involving all the participants, aiming to summarise the main results of the conference and to discuss their contribution for the environmental risk assessment and management of the human and veterinary pharmaceuticals. The discussion was started by summary papers prepared by the Chairmen of the four sessions of the Conference.

## Introduction

For several years scientists, industries and regulators have been aware of the dispersion of human and veterinarian pharmaceuticals and Personal Care Products in aquatic and terrestrial environments. Even if these substances contribute to the well-being and to human health, nothing assures us that their dispersion under different forms is harmless for the environment and for humans in the years to come. Also at several international conferences, the issues of pharmaceutical substances and, on a wider scale, hygiene products present in the aquatic and terrestrial ecosystems as well as in groundwater sources have become the objects of discussion by the scientific community.

With Envirpharma, the scientific committee wished to enlarge the field of discussion and the audience by associating the presentation of experimental data, such as those obtained from the on-going European projects (Eravmis, Poseidon and Rempharmawater) and national projects focusing on this subject. In addition, they wanted to combine the talks pertaining to developing approaches and to assessment and management of the risks linked to the diffusion of these substances into the environment. Envirpharma was also an opportunity to gather different points of views from scientists, the industry and regulators.

Envirpharma took place from 14 to 16 April 2003 in Lyon. 184 participants attended the conference (19 countries: European and North American).

Themes I and II were dedicated to the presentations of scientific results obtained from EU funded projects as well from national programs.

Themes III and IV were balanced between the communication of scientific results from research projects in the field of risk management and the presentation and discussion about the on-going ERA regulations at an international level.

In theme V, three new research programs were presented and the chairpersons of the previous themes summarised the results obtained during the conference which was followed by a general discussion on future research.

The oral presentations and posters presented during the entire conference provided a noteworthy overview of the most recent issues related to pharmaceuticals in the environment.

### **Theme I “Occurrence and fate of human and veterinary pharmaceuticals in the environment”.**

*(17 oral presentations and 20 posters)*

### **Theme II “Effects of pharmaceuticals in the environment”.**

*(10 oral presentations and 14 posters)*

### **Theme III “Environmental risk assessment for human and veterinary medicines”.**

*(8 oral presentations and 6 posters)*

### **Theme IV “Risk management for human and veterinary medicines”.**

*(9 oral presentations and 2 posters)*

At last, a final session (**Theme V**) was devoted to a general discussion between all the participants about the available results and the “**Future research**”.

This session was introduced by 3 oral presentations, one to present the EU granted research projects<sup>1</sup> dealing with the environmental issues of pharmaceuticals and the developed clustering strategy, two others about on going research projects in Canada and an innovative

---

<sup>1</sup> in the framework of the 5<sup>th</sup> Research Program



management strategy for the residues of medicinal products developed by the Stockholm County Council in Sweden.

All the authorised oral and poster presentations are available on the conference web site:  
[www.envirpharma.org](http://www.envirpharma.org)

## Summaries of conference themes

### Theme I "Occurrence and fate of human and veterinary pharmaceuticals in the environment".

From all the results presented during Envirpharma and obtained from several national monitoring programs (Kolpin *et al*, Zuccato *et al*, and Sacher *et al.*), it is now well established that a great number of pharmaceuticals belonging to various therapeutic classes, including hormones, and several other personal care products (e.g. musk fragrances and contrast media) are widely present in our aquatic and terrestrial environments simultaneously with other types of organic compounds, such as pesticides, plasticizers, fire retardants, etc.

The detection of these compounds at the environmental concentrations (parts per billion (ppb)) need powerful analytical tools such as (high performance liquid chromatography/electrospray ionisation/ mass spectrometry-mass spectrometry (HPLC/ESI/MS-MS) or gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Rapid methodologies are also being explored, for example radio immunoassay (RIA) (Ingerslev *et al.*). A variety of methods are available to analyse pharmaceuticals in different matrixes (wastewater, soils, particles, slurry). The occurrence and the concentrations vary according to the considered pharmaceuticals and the terrestrial (intensive farming, breeding area) or the aquatic receiving system (surface water, ground water, urban area, water flow...). Furthermore, the occurrence of pharmaceuticals with the same therapeutic use and the concentration measured in STP effluent will depend on the local prescription habits.

The results confirm also, for aquatic systems, that the principle sources contaminated by human pharmaceuticals (HP) are sewage treatment plants (STPs) and their effluents, (where some HPs are excreted largely un-metabolised), and, for soils, it is the spreading of liquid manure or dung containing residues of veterinary medicines. Hospital effluent can be a central source of these compounds such as antibiotic and anticancer drugs. Even some drugs are removed during bank filtration, some other polar compounds can contaminate drinking water supply, in spite of bank-filtration pre-treatment near urban areas (Heberer *et al*). The range of the measured concentrations vary also with the monitored receiving system in several orders of magnitude, from less than ng/L to µg/L in some receiving surface waters, and less than 10µg/l in STP effluents.

Due to the low capacity of STPs to efficiently remove and degrade some human pharmaceuticals, they have become a main focal point in numerous studies. An important research effort has been carried out to study the fate of pharmaceuticals in these systems (Siegriest *et al.*, Alder *et al.*, Paxeus *et al.*). The main results show that the removal efficiency is depending on the drugs (which can be adsorbed on cell surfaces or absorbed if hydrophobic) and their susceptibility to aerobic and anaerobic degradation. In addition, biodegradation of the compounds will depend on the characteristics and the operating conditions of the treatment plant.

For example in most studied cases, neutral substances such as Carbamazepine or Diazepam do not show any rates of removal while some basic drugs, such as basic β-blockers, show low removal rates, and acidic compounds (like Diclofenac, Bezafibrate and Ibuprofen) are most efficiently removed. On the contrary it seems that the removal of natural or synthetic estrogens is more than 80%, and less than 5% of steroid estrogens are detected in the final sludge.

Oxidation processes have been demonstrated to be useful tools both to improve the removal of drugs in STPs effluents and to ensure the quality of water supply. It seems that ozonation reduces significantly estrogenic activity (YES assay) of STP effluent (Ternes *et al.*). The efficiency of such processes on drug removal depends on the conditions of treatment. An advanced oxidation process leads to substantial removal whatever the drug studied. However, when degradation products are formed no information is available about their fate and effects.

Other post treatment steps, such as polishing lagoons, gravel filters, and infiltration ponds have been shown to efficiently remove drugs before release into receiving aquatic ecosystems, but again they will depend on the compounds and the treatment conditions (Kreuzinger *et al.*).

Few data are available about the persistence of the pharmaceuticals in the aquatic environment, in particular in sediment compartments. Works, based on laboratory degradation tests in water-sediment systems, showed that some drugs can persist a long time in water and sediment (>100 days). Such degradation tests along with metabolic ones have been recommended to be a part of a process of registration, as presented in the standard procedures (OECD No. 308) (Rombke *et al.*).

As for veterinary medicines (eg antibiotics), their distribution into the environment arises by way of urine and faeces excretions of treated animals or in manure used as fertiliser. Field and lysimeter studies have assessed the potential for these excreted substances to be released to soils and subsequently be transported to surfacewaters and groundwaters. (Kay *et al.*, Blackwell *et al.*). Use and validation of model of transport to groundwater was discussed (Montforts *et al.*).

The effects of environmental factors (pH, temperature, light) on the transformation of antibiotics in soil interstitial water was investigated in laboratory experiments (Jacobsen *et al.*, Soeborg *et al.*).

After manure application, antibiotic residues (such as oxytetracycline and sulfachloropyridazine) can be found in sandy soil after several months (half-time lives can vary in the range of two orders of magnitude (1-100 days)). However no residues were detected in leachates under natural rainfall conditions, due to degradation in slurry. This may be an important process, when investigating products, for studying risk mitigation measures, sorption or degradation on soils. Nonetheless, based on field studies, it appears that compounds with high sorption coefficients may still reach surface waters from soil drainage. Further more, soil tillage can significantly reduce this transport of residues to surface waters.

## Conclusions

There is now a general recognition that pharmaceuticals are present in STP effluents and surface waters, and to a lesser extent ground water at low concentrations (waste water less 50 µg/l, STP less 10 µg/l, Surface water less µg/l). These monitoring data must be use now more effectively.

But knowledge about the exposure concentrations is very different when one considers not only freshwater but also other media, as marine water, soil, air, biota or sediment, where no data have been provided. On the same manner, few data are still available about the concentrations and the persistence of human and veterinary pharmaceutical in the manure or sludge before and after application on the soils, nor about its consequences on the soil microflora and their transfer towards soils and crops. As analytical tools are now functioning the possibility to include these compounds in monitoring programs could be assessed.

Knowledge about the fate of pharmaceuticals either in STPs or in the environment (water, soil, sediment) remains rather sketchy. It has been showed highly dependant on the physico-chemical characteristics of the pharmaceuticals (degradation, adsorption) and the



STPs functioning. Consequently the models of fate and transport must be more widely validated.

**Main gaps and areas for future research development highlighted :**

- The persistence and the role of human and veterinary pharmaceuticals in STPs and in soil contamination.
- *The persistence and the presence of these compounds in the estuarine and marine waters and brackish waters, and more generally the environmental half-lives of these compounds.*
- The level of the sediment contamination in the receiving freshwater or estuarine ecosystems.
- The fate of metabolites in STPs, in particular the sorption models for non – hydrophobic compounds, and the biodegradability of the pharmaceuticals.
- Even if no acute effect on ecosystems can be suspected due to drugs from STP treated effluent, other subtle effects raise questions on the development of antibiotic resistance in soil, due to sludge spreading for instance.
- *The identification of fate and effects of the degradation products, even if oxidation processes are efficient in decreasing the amount of drugs in treated effluents.*
- Efforts to validate the transport and fate models (scenario selection, benchmark definitions, quality of the field data).

## Theme II "Effects of pharmaceuticals in the environment".

Effects of some pharmaceuticals have been considered on freshwater, sediment (benthic) and soil organisms (including micro-organisms found in soils and in activated sludge), and on micro-organisms found in soils and in activated sludge, using standard tools (Ferrari *et al.*) or more sophisticated systems such as microcosms (Solomon *et al.*). Efforts have been made to develop new approaches which target specific concerns and reproduce exposure conditions (Doncel *et al.*). Few results were available focusing on mixture effects (Solomon *et al.*), model development and interpretation (Altenburger *et al.*). Generally, only exposure to single pharmaceuticals is considered without taking into account the exposure to metabolites. However, a study of the toxicity of corticosteroid degradation products indicates that some derivative compounds could exert higher toxicity than their parent compounds (Isidori *et al.*).

The results presented indicate that acute effects on freshwater organisms are unlikely at the concentrations measured in surface water, nor in treated effluent, but the acute/chronic ratio can be very high (> 1000), and a long term effect cannot be excluded at environmental concentrations. Chronic effects must be considered to assess the potential no effect concentration (PNEC).

Plant and algae (such as blue-green algae) seem sensitive to antibiotics, and effects are measured using physiological or metabolic endpoints. On the contrary, reproduction of freshwater micro-crustaceans seem to be the most sensitive endpoints for testing other types of pharmaceuticals. Few results are available for pharmaceutical toxicity on sediment organisms using bioassays, such as 28 day tests on chironomids and oligochaetae (Nentwig *et al.*). As for aquatic organisms, Carbamazepine is toxic at concentrations close to the environmental level, when reproduction endpoints are measured.

Evidence has been shown that the use of acute data only can lead to an inaccurate classification of the pharmaceutical environmental risk, in the framework of the current environmental risk assessment (ERA) guidelines. Several works have been carried out to study toxicity of pharmaceuticals on microbial activities, in STP sludge (Stamataleto *et al.*), on microbial resistance and plants (Halling-Sørensen *et al.*, Schmitt *et al.*). Furthermore studies were carried out on the effects of antibiotics (chlorotetracycline, tylosin, and sulfanilamid) and their by-products (Halling-Sørensen *et al.*), which, in general, showed no apparent impact on the micro-organisms. Specific multi-species soil systems and tiered approaches have been developed to assess fate and effect of pharmaceuticals in soils. These laboratory studies integrate toxicity studies with fate processes (including dissipation and leaching) to measure effects on soils organisms (e.g. plants and earthworms) and aquatic organisms, using various species and endpoints.

Concerning the effects in activated sludge, only high concentrations (~10mg/l) of the tested pharmaceuticals (mainly antibiotics or biocides like triclosan) seem to significantly affect the biological sludge processes (nitrification, anaerobic digestion).

For soil organisms, some other veterinary pharmaceuticals most often used are anti-parasiticides that can affect non target terrestrial insects such as dung beetles or diptera. They are released in dung of treated cattle, reducing insect activity or increasing larvae mortality. Such effects on non target organisms can have consequences on the ecosystem structure, by decreasing food resources, and on ecosystem function (i.e. dung degradation) (Lumaret *et al.*). From other studies, even if a significant reduction of a few species was observed, it appears that the community of soil fauna was generally unaffected by the application of manure containing antibacterial agents such as chlortetracycline (CTC), tylosin, sulphanilamide and some of degradation products. A study of a possible contamination on crops (grain of spring

barley, *Hordeum vulgare*) has showed that only very low contents of CTC (<1 µg/kg dw) was measured in grains.

As for microbiological effects, amendements of manure affected the level of antibacterial agent resistance. But finally (after 150 days of exposure) resistance levels were within the same range as those observed at the beginning. Even more, antibacterial agent application did not increase the level of resistance above the resistance measured with manure application alone. Nevertheless no data are available about gene transfer to environmental relevant bacteria and resistance in anaerobic bacteria. Furthermore, these antibacterial agents have been tested to assess the effects on the soil microbial community by studying several bacterial physiological processes (PICT methodology, Blank 1988). Effects on soil micro-organisms has been detected for a few mg/kg of exposure.

## Conclusions

A tool box, from single species to multispecies approach can be used to assess the hazard of pharmaceuticals, but few examples concern environmentally relevant concentrations. Evidence is now existing that short term acute tests are not suitable to predict the effect of such compounds and that the effect profile of these compounds is more than LC50/1000. The non biocidal pharmaceuticals show low acute toxicity but sometimes a very high acute chronic ratio with specific effect on very specific endpoints and ecological receptors. Consequently, endpoints, species and exposure duration must be carefully selected.

Acute effect can be observed with biocidal pharmaceuticals, and effects on biodiversity are particularly relevant for highly selective drugs.

Several pharmaceuticals with the same mechanism of action are expected in municipal STP and will be released simultaneously, but even if concepts and models are available to assess combined effects of pharmaceuticals few results are still available, in particular about long term effects at environmentally relevant concentrations.

### Main gaps and areas for future research development highlighted :

- Development of endpoints based on the mode of action of pharmaceuticals is necessary in order to improve the long term risk assessment of pharmaceuticals.
- Filling gaps on and developing the application for mixture toxicity studies.
- Assessment of the toxic effects of co-exposure on parent and metabolite compounds.
- Selection of endpoints, species and the duration of tests depending on the pharmaceutical's mode of action and use.
- Improving knowledge on the effects of human and veterinary antibiotics in water and soil, on gene resistant transfer, and alteration of microbial communities.

### **Theme III “Environmental risk assessment for human and veterinary medicines”.**

EU guidelines for ERA of veterinary (Hoogland *et al.*, De Knecht *et al.*, Koschorreck *et al.*) and human (Kolossa-Gehring *et al.*) pharmaceutical products are under discussion. On the same principles as for other chemical compounds (pesticides, biocides ...) these ERA procedures are based on the calculation of PNEC, potential exposure concentration (PEC), and a risk quotient calculation.

Parts of these guidelines (Exposure assessment or Effect Assessment) are now available and discussed. The environmental risk of new veterinary pharmaceuticals is assessed in the frame of marketing authorisations. A two phased note for guidance for the ERA has been released by the European Medicines Evaluation Agency (EMEA, London) (EMEA/CVMP/055/96). The phase I of this guidance document has been replaced in 2001 by a VICH (International Co-operation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Products) Guideline. A VICH phase II guideline is under development. Several questions have been raised about trigger values, methodologies and criteria to be used to achieve phase II, and the harmonisation of the procedures. A case study (Sulfachloropyridazine) was described (Boxhall *et al.*).

In the case of human pharmaceutical products, a guidance concept has not yet been finalised in Europe. A guidance document for the ERA of new products, is currently being developed by an EU expert group based on a two phased approach. Phase I consists of a PEC calculation with a trigger value of 0.01µg/l (surface water) for Phase II evaluation. Earlier drafts of the note for Guidance were only based on acute data, excluding sub-lethal and chronic effects and does not take into account specific biological activities (endocrine disruption, genotoxicity) (Knacker *et al.*). The new draft developed by the EU expert group relies on risk assessment approaches known from the technical guidance draft (TGD) for new and existing chemicals.

Considering existing knowledge on pharmaceuticals, the integration of toxicological data available to predict effects in fish or modes of actions in ERA procedures have been proposed (Murray-Smith *et al.*, Hartmann *et al.*).

## **Conclusions**

ERA for pharmaceuticals is based on fate and effect assessment for environmental compartments to which the compounds is released followed by a risk characterisation and if necessary by a risk mitigation. In first step PEC is determined and compared with a trigger value. Nevertheless, some gaps are existing which prevent to develop satisfactory ERA, as the lack of long term effect data, the lack of information on the degradation in STP or the adsorption on manure and transfer toward soil. More, current ERA does not provide guideline about how to integrate the releases of compound with multiple intended uses.

Some new approaches seemed particularly relevant for the pharmaceuticals hazard assessment, as the use of information on their mode of action or the available toxicological data on mammals to predict fish ecotoxicology. But information on the usefulness of these approaches for ERA are still necessary.

Questions are raising about the pertinence to harmonise the risk assessment procedures for pesticides, biocides, industrial chemicals and pharmaceuticals.