

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Anti-inflamatórios não esteroides: tratamento da água nas estações de tratamento da água e toxicidade

Maria Mafalda Carvalho Campos

Monografia orientada pela Professora Doutora Cristina Maria Martins
de Almeida, Professora Auxiliar

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2021

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



Anti-inflamatórios não esteroides: tratamento da água nas estações de tratamento da água e toxicidade

Maria Mafalda Carvalho Campos

**Trabalho final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentado à Universidade de Lisboa através da Faculdade de
Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Cristina Maria
Martins de Almeida, Professora Auxiliar

2021

Resumo

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINE) são fármacos frequentemente dispensados devido principalmente às suas propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antipiréticas. Estes fármacos são eficazes no tratamento da pirexia, dor e estados inflamatórios e revelam ser particularmente utilizados em afeções musculoesqueléticas, pericardite e dismenorrea primária. O ibuprofeno, o diclofenac e o naproxeno são AINE muito consumidos em Portugal, dispensados como medicamentos sujeitos a receita médica e também, como medicamentos não sujeitos a receita médica.

O elevado consumo dos fármacos deste grupo terapêutico é nefasto para o meio ambiente devido à maior emissão dos seus resíduos, quer do composto inalterado, quer dos seus metabolitos. Estes fármacos já foram detetados nas águas superficiais (rios, lagos, oceanos), águas subterrâneas (lençóis freáticos) e nas águas para consumo humano.

A contaminação aquática com fármacos é uma questão ambiental emergente e é essencial compreender os riscos para o ambiente e de forma direta ou indireta para a saúde humana. Isto porque os fármacos são compostos com atividade biológica e uma capacidade intrínseca de interferir com os organismos aquáticos, mesmo em concentrações vestigiais.

O tratamento da água para consumo humano nas Estações de Tratamento de Água (ETA) tem por objetivo garantir o abastecimento de água potável à população. O tratamento da água bruta passa por várias etapas, sendo a desinfecção, uma etapa obrigatória. A cloração é o método de desinfecção da água mais usado e a reação do cloro (oxidante forte) com os subprodutos do metabolismo dos fármacos pode aumentar o perfil tóxico dos resíduos de fármacos.

Palavras-chave: diclofenac; ibuprofeno; naproxeno; contaminação aquática; toxicidade.

Abstract

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) are often used mainly due to their anti-inflammatory, analgesic and antipyretic properties. These pharmaceutical compounds effectively treat pyrexia, pain and inflammatory conditions and are shown to be mainly used in musculoskeletal disorders, pericarditis and primary dysmenorrhea. Ibuprofen, diclofenac and naproxen are widely consumed NSAID in Portugal, dispensed as prescription-only medicines and also as non-prescription medicines.

The high consumption of medicines from this therapeutic group is harmful to the environment due to the greater emission of their residues, both of the unaltered compound and its metabolites. These pharmaceutical active compounds (PhAC) have already been detected in surface water (rivers, lakes, oceans), groundwater and water for human consumption.

Aquatic contamination with PhAC is an emerging environmental issue and it is essential to understand the risks to the environment and directly or indirectly to human health, due to their biological activity and intrinsic ability to interfere with aquatic organisms, even at trace concentrations.

The treatment of water for human consumption at the Water Treatment Plants (WTP) aims to ensure the supply of drinking water to the population. The treatment of raw water goes through several stages, with disinfection being a mandatory stage. Chlorination is the most used water disinfection method and the reaction of chlorine (strong oxidant) with the by-products of PhAC metabolism can increase the toxic profile of these target compounds.

Keywords: diclofenac; ibuprofen; naproxeno; aquatic contamination; toxicity

Agradecimentos

Com o culminar desta importante etapa, chega o momento de agradecer a todos os que de alguma forma me acompanharam, me ouviram e me incentivavam a fazer sempre mais e melhor.

Sem querer ser exaustiva, agradeço a algumas das pessoas que me apoiaram particularmente nesta fase e gostaria de mostrar a minha gratidão:

Em primeiro lugar gostaria de agradecer à Professora Cristina Almeida, a minha orientadora, pela sua disponibilidade, partilha de conhecimento, dedicação e exigência que permitiram entregar um trabalho de um tema que me era desconhecido.

Agradecer à Leonor e à Joana que, durante este tumultuoso percurso, longo mas tão curto, me acompanharam e vivenciaram em todos os momentos de vitória e de frustração dentro ou fora das paredes da FFUL.

Agradecer a quem me deu sempre uma palavra amiga e ensinou a superar muitos obstáculos, aos amigos do Fundão, às minhas companheiras da dança e em especial à estrelinha Carolina.

Ao Guilherme, que com o seu amor e paciência, nunca me deixou cair e todos os dias me ensina a ser melhor e a acreditar em mim.

Aos meus padrinhos Zé Pedro e Rosarinho pelo incentivo constante e por festejarem cada conquista como uma deles.

Aos meus avós, Marília e José pelo exemplo que sempre me deram, pela preocupação e pela alegria nas minhas conquistas. Ao vô Francisco e vó Maria que, mesmo sem estarem cá, teriam orgulho de ter completado esta etapa.

Aos meus irmãos, Jorge e Ana, por me acompanharem incondicionalmente e me esgotarem a alegria e animação.

Por fim, aos meus pais, que sempre acreditaram em mim, me dão diariamente um exemplo de trabalho e determinação, por me deixarem voar e por me incentivarem sempre a ir mais longe. Obrigada pelo vosso exemplo de amor e partilha únicos.

Índice

Resumo	<i>i</i>
Abstract	<i>ii</i>
Índice de figuras	<i>vi</i>
Índice de tabelas	<i>vii</i>
Abreviaturas e acrónimos	<i>viii</i>
Introdução	1
1 Metodologia	5
2 Ciclo de vida do medicamento	6
3 Anti-inflamatórios não esteroides	10
3.1.1 Diclofenac	11
3.1.2 Ibuprofeno	11
3.1.3 Naproxeno	12
3.2 Consumo de AINE em Portugal	12
3.3 Mecanismos de ação farmacocinética e farmacodinâmica	14
3.4 Propriedades físico-químicas e comportamento ambiental	17
4 Água para consumo humano: contaminação e tratamento na ETA	21
4.1 Nota introdutória	21
4.2 Ciclo urbano da água	21
4.3 Principais fontes de contaminação aquática e vias de exposição humana	22
4.4 Água de consumo humano: evolução da legislação nacional	25
4.5 Estudos de monitorização ambiental	27
4.5.1 Diclofenac	28
4.5.2 Ibuprofeno	29
4.5.3 Naproxeno	30
4.6 Tratamento de água para consumo humano	31

4.6.1	Etapas do tratamento de água na ETA	31
4.6.1.1	Métodos de desinfecção da água	35
4.6.1.1.1	Radiação ultravioleta	36
4.6.1.1.2	Ozonização	37
4.6.1.1.3	Cloração	37
4.6.1.2	Subprodutos da cloração e formação de compostos organoclorados	39
5	<i>Toxicidade aguda e crónica</i>	41
5.1	Toxicidade aguda	41
5.2	Toxicidade crónica	43
5.3	Toxicidade dos fármacos após tratamento na ETA	44
5.3.1	Ibuprofeno	44
5.3.2	Diclofenac	46
5.3.3	Naproxeno	48
5.4	Cálculo das concentrações que não promovem efeitos tóxicos	51
6	<i>Avaliação do Risco Ambiental</i>	53
6.1	Diclofenac	54
6.2	Ibuprofeno	54
6.3	Naproxeno	55
7	<i>Conclusão</i>	58
8	<i>Bibliografia</i>	59

Índice de figuras

Figura 1: Número de embalagens de medicamentos dispensadas em ambulatório em Portugal, desde 2015 a 2019	1
Figura 2: Resíduos farmacêuticos em água para consumo humano.....	2
Figura 3: Número de compostos farmacêuticos detetados em águas superficiais, subterrâneas e água para consumo, por país	3
Figura 4: Ciclo de Vida do Medicamento	7
Figura 5: Estrutura molecular do diclofenac.....	11
Figura 6: Estrutura molecular do ibuprofeno	12
Figura 7: Estrutura molecular do naproxeno	12
Figura 8: Cascata do ácido araquidónico.....	15
Figura 9: Processos de biotransformação de fármacos.....	17
Figura 10: Representação em diagrama dos níveis tróficos de um ecossistema.....	20
Figura 11: Ciclo Urbano da Água.....	22
Figura 12: Principais vias de contaminação aquática com fármacos provenientes de medicamentos de uso humano e veterinários.....	23
Figura 13: Esquema típico de tratamento de água de origem superficial em Portugal	34
Figura 14: Esquema típico de tratamento de água de origem subterrânea em Portugal	34
Figura 15: Reagentes utilizados na desinfeção das águas subterrâneas.....	35
Figura 16: Reagentes utilizados na desinfeção final de águas superficiais.....	35
Figura 17: Métodos de desinfeção de água para abastecimento público utilizados em alguns países da Europa em 1998	36
Figura 19: Mecanismo resumido da formação do triclorometano	40
Figura 20: Subprodutos resultantes da fotocatalise do ibuprofeno	45
Figura 21: Subprodutos da cloração do diclofenac.....	47
Figura 22: Sub-produtos da ozonização do diclofenac	48
Figura 23: Subprodutos da cloração do naproxeno e mecanismos propostos	50

Índice de tabelas

Tabela 1: Número de países onde foram detetados compostos farmacêuticos em águas superficiais, subterrâneas e para consumo, na região das Nações Unidas	4
Tabela 2: AINE dentro dos 100 fármacos, por DCI, com maior número de embalagens no SNS	13
Tabela 3: Número de embalagens de diclofenac, ibuprofeno e naproxeno dispensadas em farmácias comunitárias de Portugal Continental a utentes do SNS, no período de 2016 a 2020	13
Tabela 4: Número de embalagens e respetiva representatividade em volume de vendas de MNSRM dispensados em farmácias e fora das farmácias comunitárias de Portugal, no período de janeiro a março de 2021	14
Tabela 5: Propriedades físico-químicas do diclofenac, ibuprofeno e naproxeno	18
Tabela 6: Concentração de diclofenac detetadas em vários tipos de água, por país de origem	29
Tabela 7: Concentração de ibuprofeno detetadas em vários tipos de água, por país de origem	30
Tabela 8: Concentração de naproxeno detetadas em vários tipos de água, por país de origem	31
Tabela 9: Classificação de substâncias prejudiciais para crustáceos, peixes e algas ou plantas aquáticas com base nos valores de EC50	42
Tabela 10: Cálculo do PNEC para exposições agudas e crónicas ao diclofenac, ibuprofeno e naproxeno em três níveis tróficos	52
Tabela 11: Quociente do risco para o diclofenac para exposições agudas e crónicas em três níveis tróficos	54
Tabela 12: Quociente do risco para o ibuprofeno para exposições agudas e crónicas em três níveis tróficos	55
Tabela 13: Quociente do risco para o naproxeno para exposições agudas e crónicas em três níveis tróficos	56

Abreviaturas e acrónimos

AA	Ácido araquidónico
AAS	Ácido acetilsalicílico
ADH	<i>Antidiuretic hormone</i> , hormona antidiurética
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AF	<i>Assurance factor</i> , fator de segurança
AIM	Autorização de Introdução no Mercado
AINE	Anti-Inflamatórios Não Esteroides
BAF	Fator de Bioacumulação
BCF	Fator de Bioconcentração
BMF	Fator de Biomagnificação
BPA	Bisfenol A
CE	Comissão Europeia
COX	Ciclooxigenases
COX-1	Ciclooxigenase 1
COX-2	Ciclooxigenase 2
CTD	<i>Common Technical Document</i> , dossier técnico comum
COX-3	Ciclooxigenase 3
CYP	Citocromo P450
<i>D. magna</i>	<i>Daphnia magna</i>
DBP	<i>Disinfection Byproducts</i> , subprodutos de desinfecção
DCF	Diclofenac
D_{ow}	Coefficiente de distribuição n-octanol-água
DP1	Produto de Degradação 1
DP4	Produto de Degradação 4
DP5	Produto de Degradação 5
EC_{50}	<i>Half maximal Effective Concentration</i> , concentração do fármaco que induz metade do efeito máximo
ECOSAR	<i>Ecological Structure Activity Relationships</i> , relação estrutura-atividade ecológica
EEG	<i>Group of Eastern European States</i> , 23 estados membro pertencentes à Europa de Leste, Central e Meridional
EMA	<i>European Medicines Agency</i> , agência europeia do medicamento
EMR	Estado Membro de Referência

EPA	<i>Environmental Protection Agency</i> – agência de proteção ambiental americana
ERSAR	Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos
ETA	Estação de Tratamento de Água
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais
<i>H. azteca</i>	<i>Hyalella azteca</i>
IBP	Ibuprofeno
ICH	<i>International Conference on Harmonisation</i> , conferência internacional de harmonização
ID	Investigação e Desenvolvimento
INFARMED	Autoridade Nacional do Medicamento e Produto de Saúde, I.P.
GRULAC	<i>Group of Latin America and the Caribbean</i> , grupo da América Latina e Caraíbas
IRAR	Instituto Regulador de Águas e Resíduos
K_{oc}	Coefficiente de partição do carbono orgânico do solo-água
K_{ow}	Coefficiente de partição n-octanol-água
LC ₅₀	<i>Lethal Dose 50</i> , concentração letal 50
LED	<i>Light Emitting Diode</i> , diodo emissor de luz
LOEC	<i>Lowest Observed Effect Concentration</i> , menor concentração com efeito observável
LOX	Lipoxigenase
LVMNSRM	Locais de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MEC	<i>Measured Environmental Concentration</i> , concentração medida no ambiente
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MNSRM-EF	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de dispensa Exclusiva em Farmácia
MSRM	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
NOEC	<i>No Observed Effect Concentration</i> , concentração máxima sem efeito observável
NP	Nonifenol
NPX	Naproxeno
NSRM	Não Sujeito a Receita Médica
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
OMS	Organização Mundial de Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas

PCM	Paracetamol
PEC	<i>Predicted Environmental Concentration</i> , concentração ambiental previsível
PGD ₂	Prostaglandina D ₂
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PGF ₂	Prostaglandina F ₂
PGI ₂	Prostaciclina I ₂
<i>pKa</i>	Coefficiente de dissociação ácida
PLA ₂	Fosfolipase A ₂
PNEC	<i>Predicted No-Effect Concentration</i> , concentração previsivelmente sem efeitos
POA	Processos Oxidativos Avançados
RQ	Quociente do Risco
SAICM	<i>Strategic Approach to International Chemicals Management</i> , abordagem estratégica para a gestão internacional de produtos químicos
SAR	<i>Structure-Activity Relationship</i> , relação estrutura-atividade
SIGREM	Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens e Medicamentos
SNC	Sistema Nervoso Central
SNS	Serviço Nacional de Saúde
TXA ₂	Tromboxano A ₂
UNECE	<i>United Nations Economic Commission of Europe</i> , Comissão Económica das Nações Unidas para a Europa
UOP	<i>Unit-Operation Process</i> , operação processo unitário
UV	Ultravioleta
WEOG	<i>Western European and Other States Group</i> , Europa Ocidental e outros países industrializados

Introdução

Nas últimas décadas, com o progressivo crescimento e envelhecimento da população mundial, o avanço tecnológico e o aumento do investimento na saúde verificou-se que, com uma disponibilidade cada vez maior do número de medicamentos, fármacos e formas farmacêuticas no mercado, houve um aumento evidente do consumo destes compostos (1–3). A evolução crescente do número de embalagens de medicamentos dispensadas em ambulatório em Portugal do ano 2015 a 2019 está representada na Figura 1 (4). O estudo da presença de fármacos no meio ambiente é consequência do aumento do consumo de medicamentos e da evolução da metodologia analítica para a deteção de compostos químicos em concentrações vestigiais, nomeadamente de xenobióticos (5–8).

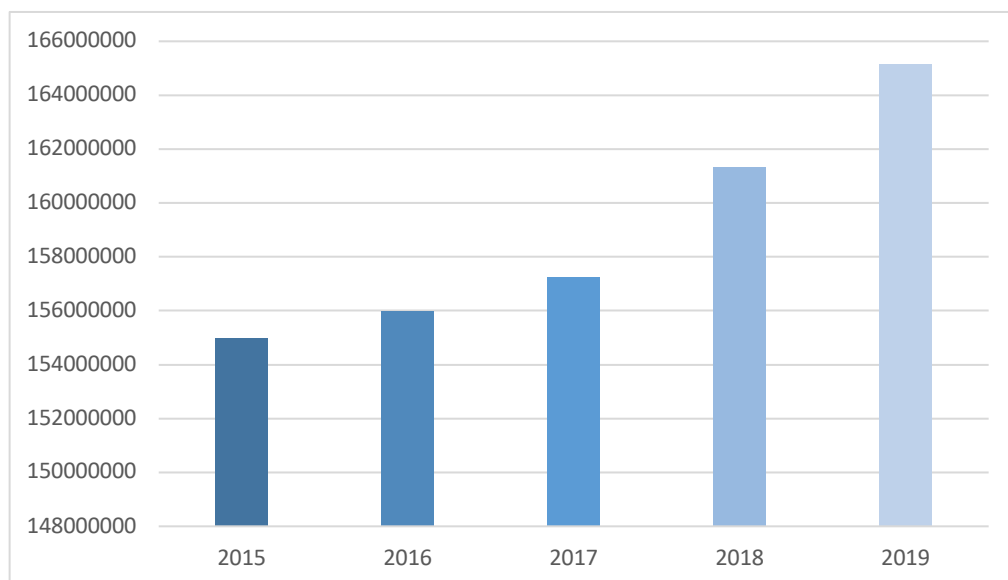


Figura 1: Número de embalagens de medicamentos dispensadas em ambulatório em Portugal, desde 2015 a 2019 (4)

Os fármacos são desenvolvidos com o objetivo de provocar um efeito biológico, mesmo em baixas concentrações e consequentemente podem ter um efeito nefasto no biota. As moléculas com propriedades farmacológicas são desenvolvidas para que seja possível ultrapassar membranas, modificar os comportamentos fisiológicos, apresentar estabilidade e persistência para que a sua ação não seja inativada antes de exercerem o seu efeito terapêutico (9,10).

A contaminação do ambiente aquático com fármacos pode ter origem em efluentes urbanos contendo os metabolitos ou a substância inalterada, eliminados através da urina ou fezes após a sua metabolização ou eliminação inapropriada, nomeadamente, eliminação direta dos medicamentos no ralo ou no lixo doméstico ou dos efluentes hospitalares sem

tratamento (11,12). Outras fontes incluem o uso veterinário de fármacos em aquaculturas, animais de companhia e gado, assim como, o uso das lamas das estações de tratamento de águas residuais (ETAR) e do estrume como fertilizante (Figura 2) (13).

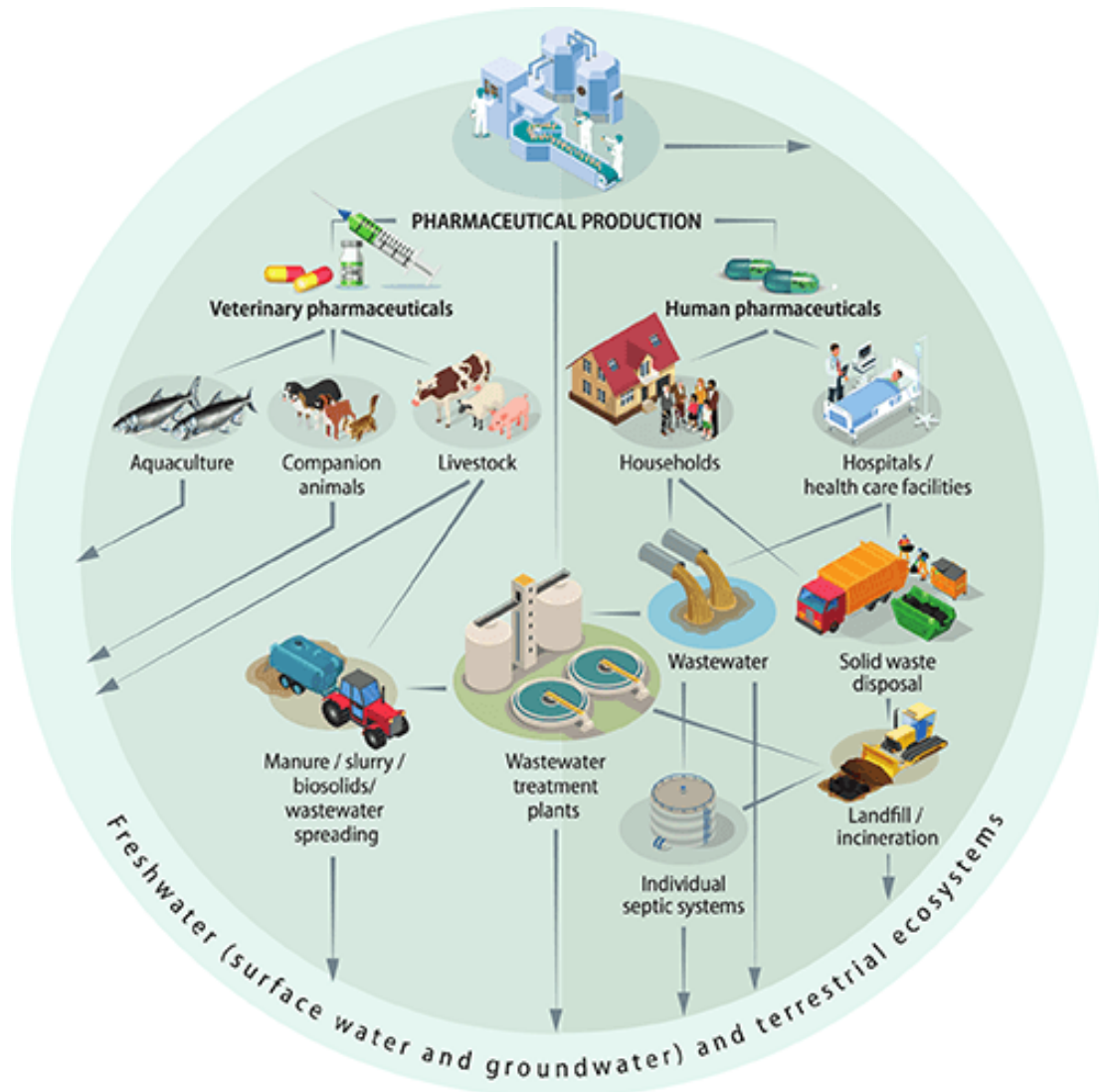


Figura 2: Resíduos farmacêuticos em água para consumo humano (14)

A presença de produtos farmacêuticos ou metabolitos já foi detetada tanto nas águas superficiais (15) como subterrâneas (lençóis freáticos) (16) e, conseqüentemente, nas água para consumo humano (17). Em 2016, a SAICM (*Strategic Approach to International Chemicals Management*), criada na primeira conferência internacional sobre gestão de produtos químicos em fevereiro de 2006, publicou um relatório em que se encontra uma compilação mundial das concentrações ambientais de fármacos nas águas superficiais, subterrâneas, água para consumo humano, solo e outras matrizes ambientais. Neste relatório

foram detetados resíduos farmacêuticos em 71 países, assim como, 631 fármacos diferentes (Figura 3). Verifica-se que a contaminação é prevalente em países industrializados e, por existirem poucos dados sobre países subdesenvolvidos, estes apresentam menor número de contaminantes (18).

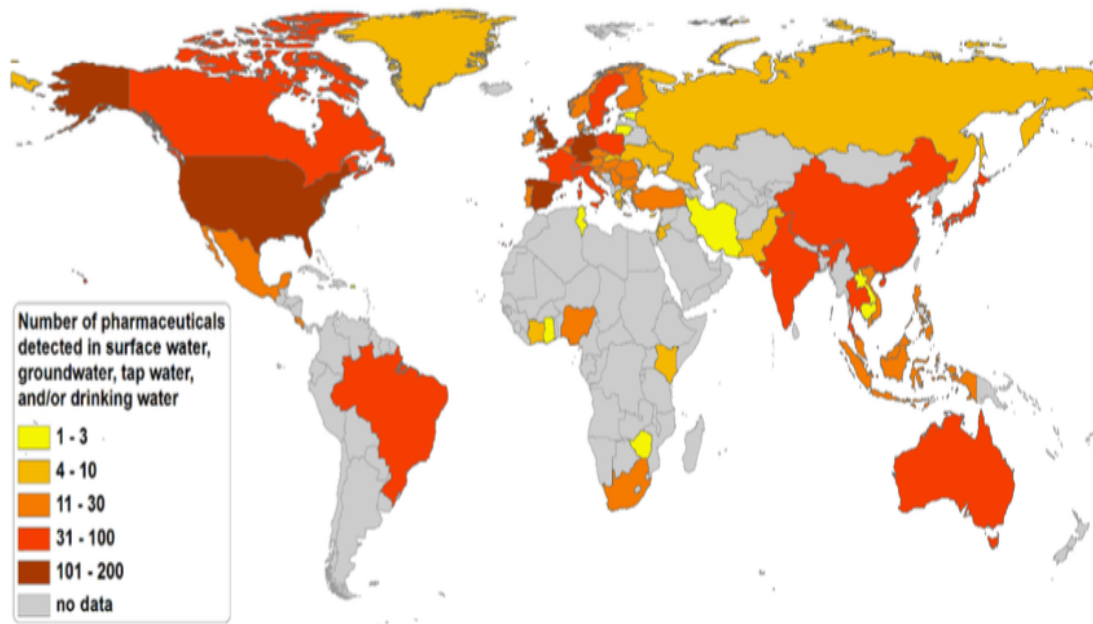


Figura 3: Número de compostos farmacêuticos detetados em águas superficiais, subterrâneas e água para consumo, por país (18)

As 16 substâncias mais detetadas em águas superficiais, subterrâneas e para consumo humano na região das Nações Unidas encontram-se identificadas na Tabela 1. O fármaco mais detetado é o diclofenac, um fármaco do grupo terapêutico dos analgésicos, pertencente ao grupo dos anti-inflamatórios não esteroides (AINE), um grupo terapêutico bem conhecido com atividades analgésica, anti-inflamatórias e antipirética, muito consumido a nível mundial (18). Deste grupo terapêutico foram seleccionados 3 fármacos, diclofenac, o ibuprofeno e o naproxeno, os quais são analisados mais detalhadamente nesta monografia. Esta seleção teve por base a sua elevada taxa de vendas e consumo, assim como, a sua prevalência nos estudos de ocorrência a nível mundial.

Estas substâncias são importantes do ponto de vista ecotoxicológico, ao possuir um potencial intrínseco de interferir negativamente com os organismos aquáticos expostos. Adicionalmente, quando presentes na água de consumo humano colocam questões toxicológicas consideráveis pela possibilidade de exercerem efeitos adversos em humanos decorrente da exposição crónica, mesmo em concentrações vestigiais (18,19).

Nesta monografia pretende-se analisar o efeito dos AINE como contaminantes de água para consumo humano, a sua toxicidade e o seu efeito no biota. Inicialmente, é descrito o ciclo de vida do medicamento, a ação deste grupo terapêutico no corpo humano e o seu comportamento ambiental. No capítulo seguinte são referidas as fontes de contaminação destes xenobióticos na água para consumo humano e descrição das etapas de tratamento nas Estações de Tratamento de Águas (ETA), assim como a evolução da legislação em Portugal quanto à qualidade da água. Para concluir o trabalho associa-se a contaminação aquática com o seu risco para a saúde humana.

Tabela 1: Número de países onde foram detetados compostos farmacêuticos em águas superficiais, subterrâneas e para consumo, na região das Nações Unidas (18)

Fármaco	Grupo terapêutico	África	Ásia-Pacífico	EEG ^a	GRULAC ^b	WEOG ^c	Global
Diclofenac	Analgésicos	3	8	13	3	23	50
Carbamazepina	Antiepiléticos	3	6	13	2	24	48
Ibuprofeno	Analgésicos	3	8	10	2	24	47
Sulfametoxazole	Antibióticos	5	9	10	2	21	47
Naproxeno	Analgésicos	2	8	10	2	23	45
Estrona	Estrogenios	1	10	6	2	16	35
Estradiol	Estrogenios	2	9	4	2	17	34
Etinilestradiol	Estrogenios	1	8	3	2	17	31
Trimetoprim	Antibióticos	2	9	3	2	13	29
Paracetamol	Analgésicos	1	6	4	3	15	29
Ácido clofíbrico	Antidislipídemicos	1	3	5	2	12	23
Ciprofloxacina	Antibióticos	1	5	1	2	11	20
Ofloxacina	Antibióticos	1	4	1	1	9	16
Estriol	Estrogenios	1	1	2	1	10	15
Norfloxacina	Antibióticos	1	4	1	2	7	15
Ácido acetilsalicílico	Analgésicos	1	4	1	2	7	15

^a *Group of Eastern European States (EEG)*, (23 estados membro pertencentes à Europa de Leste, Central e Meridional)

^b *Group of Latin America and the Caribbean (GRULAC)*, América Latina e Caraíbas

^c *Western European and Other States Group (WEOG)*, Europa Ocidental e outros países industrializados

1 Metodologia

Para a realização desta monografia foi efetuada uma pesquisa bibliográfica entre dezembro de 2020 e agosto de 2021 com recurso a várias bases de dados como o PubMed, ScienceDirect, Elsevier, ResearchGate e ainda o motor de busca Google Scholar. A pesquisa bibliográfica foi feita utilizando as seguintes palavras-chave: “*diclofenac*”, “*ibuprofen*”, “*naproxen*”, “*aquatic contamination*” e “*toxicity*”.

A seleção de artigos e de fontes de informação teve em conta a data de publicação das referências bibliográficas havendo preferência pelas publicações mais recentes (2016-2021). No entanto, devido à escassez de informação, foram utilizadas como referência publicações de anos anteriores.

2 Ciclo de vida do medicamento

O medicamento é, segundo o Estatuto do Medicamento, Decreto-Lei nº 176/2006 de 30 de Agosto, toda a substância ou associação de substâncias apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em seres humanos ou dos seus sintomas ou que possa ser utilizada ou administrada no ser humano com vista a estabelecer um diagnóstico médico ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas (20).

A Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, também conhecido como INFARMED, é a entidade responsável pela regulamentação e autorização da introdução de medicamentos de uso humano no mercado em Portugal e prossegue as atribuições do Ministro da Saúde, sob superintendência e tutela do respetivo ministro (20,21). O INFARMED tem por missão regular e supervisionar os setores dos medicamentos de uso humano e dos produtos de saúde, segundo os mais elevados padrões de proteção da saúde pública, e garantir o acesso dos profissionais de saúde e dos cidadãos a medicamentos e produtos de saúde de qualidade, eficazes e seguros (21).

O circuito do medicamento (Figura 4) inicia-se com a Investigação e Desenvolvimento (ID). Esta etapa demora, aproximadamente, 10 anos antes da colocação do medicamento no mercado e marca o início da avaliação técnico-científica do medicamento. No decurso desta etapa, inicialmente, é identificado e validado o alvo do medicamento, é feito o desenho e otimização da molécula e iniciam-se testes laboratoriais *in vitro* ou *in vivo*. Os ensaios clínicos antecedem a Autorização de Introdução no Mercado (AIM) e testam a eficácia e segurança de um medicamento (22,23).

Na fase pré-clínica ou fase 0 são efetuados estudos de segurança e toxicologia e é estudada a formulação inicial, a farmacocinética e a farmacodinâmica do medicamento (24).

A fase clínica subdivide-se em 4 fases. A fase I inicia a participação voluntária de seres humanos com um número reduzido de voluntários saudáveis. Geralmente, é uma fase de duração muito curta (1 a 6 meses) onde se avalia o perfil de segurança e a farmacocinética do medicamento (25,26).

A primeira utilização em participantes com a doença integra a fase II. Nesta fase são aplicados critérios de inclusão restritos, é avaliada a eficácia e segurança a curto prazo e é estabelecida a dose ou posologia do medicamento (25,26).

A fase III compreende uma seleção de população mais alargada com um menor número de critérios de inclusão e confirma o perfil de eficácia e segurança. Pode ter a duração de 1 a 4 anos e envolver cerca de 300 a 3000 voluntários (25,26).

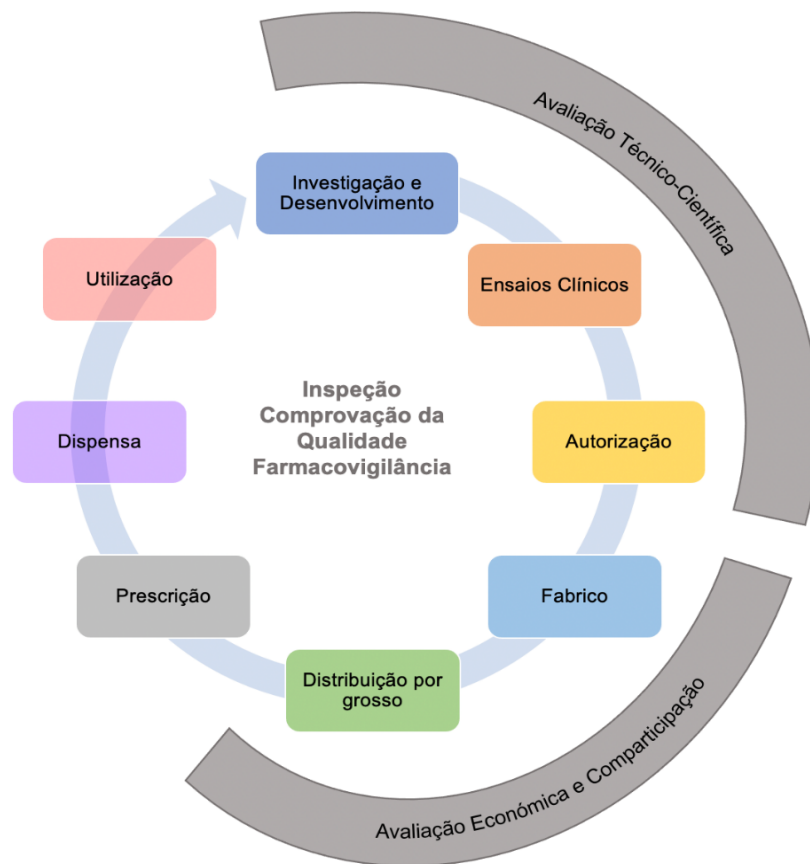


Figura 4: Ciclo de Vida do Medicamento

A documentação de suporte do medicamento para submissão às autoridades, denominada dossier de Autorização de Introdução no Mercado, segue um formato comum bem definido, obrigatório na União Europeia desde julho de 2003 – formato CTD (Dossier Técnico Comum) – para que a informação quanto aos dados clínicos, pré-clínicos e relativos ao fabrico se encontre uniformizada quanto à estrutura e a sua revisão seja simplificada (27,28). De acordo com o Artigo 8º da Diretiva 2001/83/CE, é obrigatório que o dossier de AIM contenha a avaliação do risco ambiental para estudo do impacte ambiental (29).

A AIM é concedida pelo INFARMED conforme o procedimento nacional, no final da fase III dos ensaios clínicos, e garante a qualidade, segurança e eficácia do medicamento. Para atribuição de uma AIM ainda é possível recorrer ao procedimento de reconhecimento mútuo (obtenção da AIM num Estado Membro de Referência ou EMR), procedimento descentralizado (pedido submetido em vários estados membro simultaneamente em que um deles será o EMR) ou ao procedimento centralizado (pedido gerido pela Agência Europeia do Medicamento ou EMA) (30).

A fase IV dos ensaios clínicos pós AIM, compreende uma avaliação de segurança a longo prazo, identifica efeitos adversos e inicia os estudos de farmacovigilância (25).

A etapa da avaliação económica do medicamento e comparticipação, que se inicia a partir da atribuição da AIM e início do fabrico, garante sempre uma detalhada avaliação farmacoterapêutica e farmacoeconómica fundamentalmente para assegurar racionalidade na comparticipação e aquisição de um produto de saúde (31).

O fabrico e a distribuição do medicamento são etapas que mantêm rigorosa atenção por parte das autoridades competentes. O medicamento apenas pode ser produzido e distribuído por quem possuir autorização por parte do INFARMED. e licenciamento industrial, cuja entidade coordenadora é o Ministério da Economia (20,32,33). Para obtenção de uma autorização de fabrico e de distribuição por grosso para medicamentos de uso humano, o requerente deve demonstrar que cumpre com as Boas Práticas de Fabrico e Boas Práticas de Distribuição de medicamentos de uso humano, respetivamente (34,35).

A dispensa de medicamentos compreende Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) que, tal como o nome indica, necessitam de prescrição médica para a sua dispensa, e Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM), que podem ser vendidos fora das farmácias, em locais que cumpram requisitos legais e regulamentares e por pessoal qualificado (36).

Os Medicamentos Sujeitos a Receita Médica de dispensa Exclusiva em Farmácia (MSRM-EF) são uma subcategoria dos MSRM que podem, transitoriamente, ser dispensados em farmácia sem prescrição médica se a sua denominação comum internacional (DCI) constar no regulamento dos MNSRM-EF (37).

A prescrição e a dispensa de medicamentos e produtos de saúde em Portugal são acompanhadas de normas atualizadas a 10 de outubro de 2019 com adaptação ao Decreto-Lei nº 8/2019, de 15 de janeiro e à Portaria nº 76/2018, de 14 de março (38–41). Em 2012 sofreram uma alteração significativa com a introdução da prescrição e dispensa de medicamentos de uso humano e produtos de saúde por substância ativa, mais concretamente, por DCI, de acordo com a Lei nº 11/2012, de 8 de março (36).

Por último, a utilização do medicamento ainda está sujeita a monitorização por parte do INFARMED, para que seja recolhida e analisada informação quanto aos padrões de utilização e despesa. A monitorização do mercado permite identificar áreas de promoção do uso racional de medicamentos e a elaboração de propostas de intervenção que assegurem a sustentabilidade do setor. A monitorização do consumo de medicamentos também é essencial para aprofundar questões de contaminação aquática com medicamentos e produtos farmacêuticos (42).

Os fármacos, como moléculas biologicamente ativas, podem na forma inalterada ou de metabolitos provocar diversos efeitos sobre os ecossistemas (43). A sua disseminação no ambiente contempla vias diretas e indiretas como são exemplos a emissão de resíduos durante os processos de fabrico, administração terapêutica e consequente excreção e

rejeição de embalagens com resíduos (15). Os resíduos de fármacos na forma inalterada ou sob a forma de metabolitos surgem nos sistemas de águas residuais e/ou no meio ambiente e são considerados contaminantes de interesse emergente (44). A avaliação do risco ambiental tornou-se fundamental para estudar o impacto ambiental resultante da eliminação de fármacos (45).

Todo o circuito do medicamento apresenta supervisão e controlo pela entidade competente de forma a assegurar que os critérios de eficácia, qualidade e segurança são cumpridos. O farmacêutico desempenha um papel fundamental e está envolvido em todo o ciclo de vida, mesmo depois de dispensado, é o farmacêutico que aconselha o utente e promove o uso responsável do medicamento. De salientar que passa pelo farmacêutico a recolha do medicamento excedente ou embalagens de medicamentos e produtos de uso veterinário cujo prazo de validade ou de consumo se encontra ultrapassado. A eliminação indevida de medicamentos no seu fim de vida pode ser uma das principais fontes de contaminação aquática (17,19,46).

3 Anti-inflamatórios não esteroides

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINE) são uma classe de fármacos extensamente reconhecida por diversas ações terapêuticas, nomeadamente, antipirética, analgésica e anti-inflamatória (47–49).

Esta classe terapêutica é eficaz no tratamento da dor, de pequena a moderada intensidade, sem apresentar os efeitos indesejáveis dos opiáceos sob o sistema nervoso central, nomeadamente, a dependência física e a depressão respiratória (50)(51).

A analgesia dos AINE é uma ação particularmente útil no estado febril, nas dores associadas a pós-operatórios ou processos inflamatórios, como as alterações ou lesões músculo-esqueléticas, artrite reumatoide, patologia articular degenerativa (osteoartrite), pericardite, cefaleias e dismenorreia primária. O seu efeito antipirético deve-se ao bloqueio da síntese de prostaglandinas ao nível do hipotálamo, estimulada pelas citocinas IL-1 nos locais de inflamação. Para além disto, este grupo terapêutico é bem conhecido pela função plaquetária, mais propriamente pela redução da agregação plaquetária através da inibição da síntese de tromboxano, prevenindo a oclusão vascular (47,52,53).

A extensa lista de indicações terapêuticas, a disponibilidade nas mais variadas formas farmacêuticas, entéricas ou parentéricas e a acessibilidade como medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), fazem desta classe terapêutica a mais consumida mundialmente. Na Suécia representaram cerca de 80% dos analgésicos consumidos em 2008 e nos Estados Unidos da América são prescritos mais de 70 milhões de AINE, anualmente e, juntamente com os MNSRM, são consumidas mais de 30 mil milhões de doses de AINE (54,55).

A classificação dos AINE varia conforme a seletividade de inibição das isoformas das ciclooxigenases (COX) - família de isoenzimas que catalisam as reações de formação de prostaglandinas, tromboxanos e outros marcadores inflamatórios. Dentro desta família de isoenzimas são conhecidas as ciclooxigenases 1 (COX-1), ciclooxigenases 2 (COX-2) e ciclooxigenases 3 (COX-3). Os AINE podem classificar-se como inibidores não seletivos das COX-1 e COX-2 ou inibidores seletivos da COX-2 (53,56).

O diclofenac, o ibuprofeno e o naproxeno destacam-se dos restantes anti-inflamatórios não esteroides por apresentarem uma taxa de consumo mais elevada e por serem contaminantes aquáticos detetados com frequência (15,18,19,57–60).

3.1.1 Diclofenac

O diclofenac (DCF) é um anti-inflamatório não esteroide potente derivado do ácido fenilacético e apresenta seletividade para COX-2. O DCF é um dos fármacos mais consumidos na Europa e atua na dor aguda e crônica associada a patologias inflamatórias, especialmente as que envolvem o sistema musculoesquelético (61).

O DCF liga-se extensivamente à albumina plasmática (99%) e acumula-se tendencialmente no líquido sinovial. Este fármaco sofre metabolismo hepático e é eliminado após a sua biotransformação em metabolitos conjugados (glucuroconjugados). O principal metabolito hepático é o 4-hidroxiciclofenac resultante da metabolização hepática por enzimas do citocromo P450 (CYP). A excreção desta substância ativa e dos seus metabolitos é maioritariamente pela via urinária (65%) mas também pela via biliar (35%) (48,62).

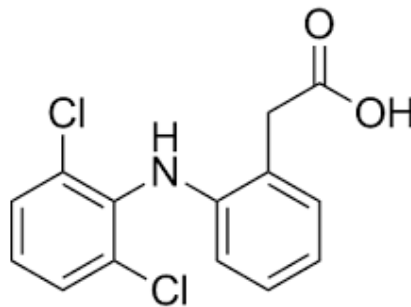


Figura 5: Estrutura molecular do diclofenac (63)

3.1.2 Ibuprofeno

O ibuprofeno (IBP) é um anti-inflamatório não esteroide, inibidor não seletivo da COX-1 e da COX-2, derivado do ácido 2-arilpropiónico com indicação terapêutica o alívio de sintomas de osteoartrite, doenças reumáticas, dor e febre. O IBP deriva do ácido propiónico e é um dos medicamentos mais vendidos a nível mundial, não só pela elevada prescrição médica do medicamento, mas também pela sua venda como Medicamento Não Sujeito a Receita Médica em dosagens inferiores e a abrangente lista de indicações terapêuticas (57,64,65).

Esta substância ativa apresenta uma forte ligação às proteínas plasmáticas (> 98%) e é rapidamente metabolizada e eliminada na urina, cerca de 70% a 80% da dose terapêutica. A principal via de eliminação é o metabolismo hepático, pelo CYP, em metabolitos inativos. A excreção urinária pode ser sob a forma do composto primário livre ou conjugado ou sob a forma de metabolitos. Os principais metabolitos são os hidroxibuprofeno (1-hidroxibuprofeno)

ibuprofeno, 2-hidroxi-ibuprofeno e 3-hidroxi-ibuprofeno) e ainda o carboxi-ibuprofeno. Normalmente, o IBP é metabolizado praticamente na totalidade e não sofre praticamente eliminação sem modificação (1% a 8%) (48,57,66–68).

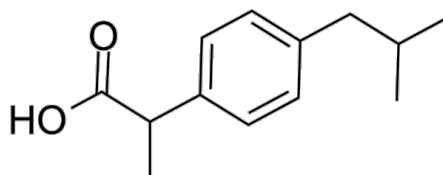


Figura 6: Estrutura molecular do ibuprofeno (61)

3.1.3 Naproxeno

O naproxeno (NPX) é um AINE, inibidor não seletivo das COX-1 e COX-2, com ações anti-inflamatória, antipirética e analgésica indicado para a artrite juvenil idiopática, artrite reumatóide, osteoartrite, espondilite anquilosante, dor, dismenorrea primária, tendinite, bursite e gota (48).

O NPX apresenta um tempo de semivida variável de 9 a 35 horas, forte ligação às proteínas plasmáticas (99%) e sofre metabolização hepática extensa. Este fármaco sofre excreção urinária (cerca de 95%) e excreção fecal (< 5%) e é eliminado maioritariamente sob a forma de metabolitos conjugados (66% a 92%). O NPX pode ser excretado sob a forma inalterada ou desmetilada (<1%) (69).

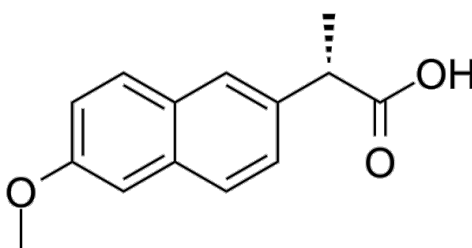


Figura 7: Estrutura molecular do naproxeno (70)

3.2 Consumo de AINE em Portugal

Os grupos terapêuticos de fármacos mais consumidos em Portugal são, por ordem decrescente e segundo o INFARMED a Estatística do Medicamento de 2019, aparelho cardiovascular, sistema nervoso central, aparelho digestivo, hormonas e medicamentos

usados no tratamento de doenças endócrinas, doenças infecciosas e aparelho locomotor, sendo este último grupo onde se integram os AINE. Os anti-inflamatórios não esteroides constituem um dos grupos terapêuticos mais comumente utilizados em todo o mundo, correspondendo a cerca de 90% dos analgésicos mais consumidos (4,71,72).

As substâncias ativas mais utilizadas mundialmente dependem dos padrões de consumo de AINE entre países, onde diferem por exemplo, as normas e padrões de prescrição, introdução de novas moléculas, preços e participações concedidas. Os fármacos mais consumidos em Itália no ano de 2016 são, por ordem decrescente, o ibuprofeno, o cetoprofeno, o diclofenac, o ácido acetilsalicílico, a nimesulida e o naproxeno. Segundo os dados do INFARMED de 2011, dentro das 100 substâncias ativas com maior número de embalagens no Sistema Nacional de Saúde (SNS) destacam-se o ácido acetilsalicílico, o ibuprofeno, o diclofenac e a nimesulida (Tabela 2) (73,74).

Tabela 2: AINE dentro dos 100 fármacos, por DCI, com maior número de embalagens no SNS (74)

Substância ativa	Posição	Nº de embalagens
Ácido acetilsalicílico	6º	2 296 395
Ibuprofeno	9º	2 063 414
Diclofenac	17º	1 295 809
Nimesulida	25º	1 088 773

Dados mais recentes disponibilizados pelo INFARMED mostram a evolução da dispensa dos anti-inflamatórios não esteroides selecionados em farmácias comunitárias e outros dispensatórios, em Portugal (Tabela 3).

Tabela 3: Número de embalagens de diclofenac, ibuprofeno e naproxeno dispensadas em farmácias comunitárias de Portugal Continental a utentes do SNS, no período de 2016 a 2020

Fármaco/Ano	2016	2017	2018	2019	2020	Total
Diclofenac	909 461	863 797	834 417	815 062	698 962	4 121 699
Ibuprofeno	1 977 012	1 844 126	1 957 298	2 031 601	1 598 040	9 408 077
Naproxeno	570 480	593 119	612 176	628 704	559 524	2 964 003
Total	3 456 953	3 301 042	3 403 891	3 475 367	2 856 526	16 493 779

Para além das diferenças entre normas e prescrições quanto ao número de embalagens de AINE dispensadas em farmácia comunitária, é também muito relevante realçar que os

AINE têm apresentações que são MNSRM ou medicamentos de venda livre. Desta forma, a acessibilidade ao medicamento é superior. A monitorização de vendas fora das farmácias representa quase 20% do mercado total de MNSRM (75). Os medicamentos analgésicos e antipiréticos representaram, de janeiro a março de 2021, 26,8% do volume de vendas fora da farmácia, o que corresponde a 459 068 embalagens de medicamentos, como apresentado na Tabela 4 (76).

Tabela 4: Número de embalagens e respetiva representatividade em volume de vendas de MNSRM dispensados em farmácias e fora das farmácias comunitárias de Portugal, no período de janeiro a março de 2021 (76)

	Farmácias	Fora das Farmácias		Total
		Analgésicos e antipiréticos	Total	
Nº de embalagens	6 682 053	459 068	1 709 762	8 391 815
Volume	80%	26,80%	20%	14%

As taxas de consumo, dispensa e venda de medicamentos apresentam correlação com a presença de fármacos no meio aquático e a contaminação ambiental (43). Este tema é cada vez mais emergente, tanto pelo consumo crescente de fármacos, como pela atual consciencialização ambiental, tema cada vez mais em voga e pertinente.

3.3 Mecanismos de ação farmacocinética e farmacodinâmica

O largo espectro de indicações terapêuticas dos AINE deve-se à sua ação de inibição da produção de prostaglandinas. A descoberta do mecanismo de ação deste grupo terapêutico deve-se ao farmacologista John Robert Vane, vencedor de um prémio Nobel da Fisiologia e Medicina em 1982 (50,77).

O ácido araquidônico (AA) é um ácido gordo e o principal precursor eicosanóide das células de mamíferos. O AA provém essencialmente do ácido linoleico obtido via alimentar e posteriormente à sua síntese, segue-se a esterificação nas membranas celulares (78). Para a libertação do AA é necessário recorrer a enzimas que permitam a quebra da ligação entre fosfolípidos como a fosfolipase A₂ (PLA₂), fosfolipase C e fosfolipase D, sendo que a PLA₂ é mais comumente referida por se tratar da única fosfolipase que tem a capacidade de libertar o AA numa reação de um único passo (ao hidrolisar uma ligação éster na posição sn-2 do fosfolípido (79). O AA pode ser metabolizado por várias classes de enzimas tais como, a ciclooxigenase (COX), a lipoxigenase (LOX) ou a epoxigenase via citocromo P450 em vários tipos de eicosanóides, nomeadamente, leucotrienos, lipoxinas e epoxinas via lipoxigenase (LOX), prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos, também denominados prostanóides, metabolizados pelas ciclooxigenases (COX) (Figura 8). Os prostanóides incluem no seu grupo sinalizadores inflamatórios importantes tais como a prostaglandina E₂ (PGE₂), a prostaglandina D₂ (PGD₂) a prostaciclina I₂ (PGI₂), prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) e tromboxano A₂ (TXA₂) (80).

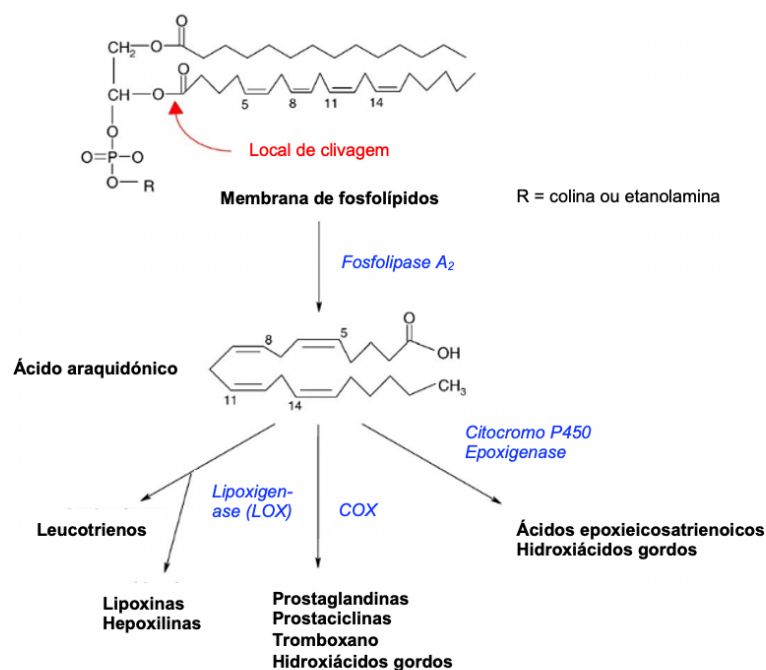


Figura 8: Cascata do ácido araquidônico (2)

As ciclooxigenases ou prostaglandina-endoperóxido sintase ou prostaglandina H sintase podem ter 3 isoformas: a COX-1, COX-2 e a COX-3 (56). As isoenzimas apresentam pequenas diferenças estruturais que resultam em diferenças importantes tanto a nível biológico como farmacológico (81).

A COX-1 é responsável pela produção de prostaglandinas que mantêm a integridade da mucosa do estômago e intestino – a sua inibição pode levar a danos, hemorragia ou ulceração

gástrica (82). A estimulação de produção de fatores citoprotetores como a prostaciclina (PGI_2) permite manter a função renal normal em situações em que o sistema renal se encontra comprometido, como no caso de isquemia renal, insuficiência cardíaca congestiva ou cirrose (83). A COX-1 ainda induz a agregação plaquetar ao aumentar a produção de tromboxano A_2 (TXA_2). A ação inibitória da agregação plaquetar do AAS em doses baixa é bem reconhecida pela ação profilática de eventos tromboembólicos e deve-se ao seu poder de acetilação de um local estratégico da COX-1 que bloqueia o acesso do substrato ao sítio catalítico da enzima (84).

A isoforma COX-2 é expressa em resposta a estímulos pró-inflamatórios, fatores de crescimento, citocinas e promotores tumorais. Para além disto, está presente no sistema nervoso central e periférico onde parece estar envolvida na transmissão nervosa, mais particularmente envolvida no processo de dor e febre (83). A COX-2 é também responsável pela produção de prostaglandinas essenciais para a função reprodutora mais precisamente, está envolvida em etapas como a ovulação, fertilização, implantação e decidualização (81).

Já a COX-3, a isoforma mais recentemente descoberta, enzima reconhecido devido à sua sensibilidade e resposta ao paracetamol, ao contrário da COX-1 e COX-2. Para além da sua sensibilidade ao paracetamol, os inibidores fracos da COX-1 e COX-2 que penetram no sistema nervoso central também têm ação inibitória da COX-3 (85).

A farmacocinética de um fármaco influencia diretamente o seu perfil de contaminação ambiental. Os metabolitos formados podem sofrer alterações por ação biológica (microrganismos), química ou física, onde se incluem as estações de tratamento de águas. A biotransformação de um xenobiótico tem como objetivos converter moléculas lipofílicas em moléculas mais polares e hidrofílicas, de forma a favorecer a sua excreção, e reduzir a exposição do organismo a xenobióticos e aos seus efeitos tóxicos. A biotransformação ocorre em 3 fases distintas com diferentes funções, a primeira fase (Fase I) conhecida como a fase da funcionalização em que os grupos funcionais das moléculas são expostos ou adicionados de forma a tornar os compostos mais polares, a segunda fase (Fase II) onde ocorre a conjugação com ligandos endógenos e o composto se torna mais hidrossolúvel (para facilitar o processo de excreção) e por último, a terceira fase, ou Fase III, em que atuam transportadores para facilitar o processo eliminação de metabolitos hidrofílicos (Figura 9) (86,87).

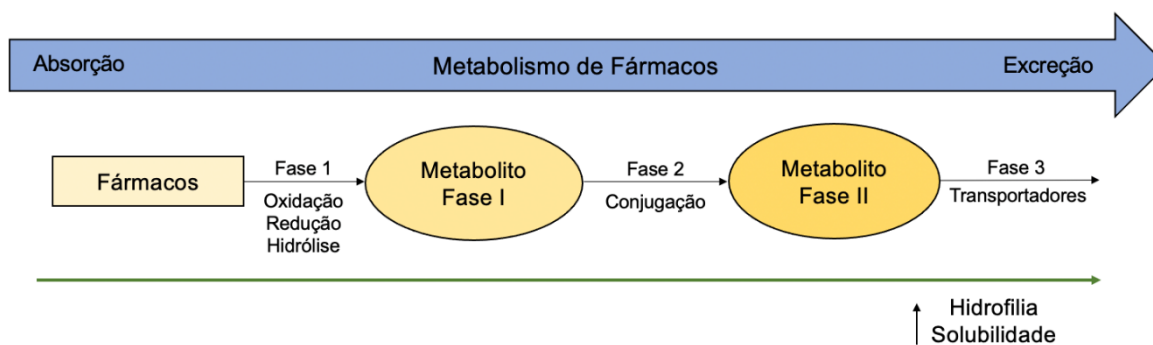


Figura 9: Processos de biotransformação de fármacos

O metabolismo de um composto pode originar metabolitos de Fase I através de reações de oxidação, redução e hidrólise *in vivo* catalisadas por diferentes tipos de enzimas (como o citocromo P450, carbonil redutases ou carboxilesterases) ou metabolitos de fase II que sofrem conjugação. A maioria dos AINE sofrem metabolização hepática e são excretados por filtração e secreção tubular e alguns compostos podem ser parcialmente excretados via excreção biliar (48,87).

3.4 Propriedades físico-químicas e comportamento ambiental

As propriedades físico-químicas de um fármaco definem qual o seu comportamento, quer ao nível do organismo, nos processos de absorção, distribuição, metabolização e excreção, quer fora dele, no meio ambiente, como contaminantes (88).

Nas propriedades dos fármacos estão descritos vários itens, tais como, fórmula molecular, massa molecular, densidade, solubilidade, ionização e hidrofobicidade. Estas propriedades são essenciais não só para avaliar a ação farmacológica e tóxica de um fármaco, mas também são importantes para avaliar o comportamento do composto nos vários compartimentos ambientais e na biota (88,89).

Para compreender e determinar o potencial de contaminação de uma molécula nos diferentes meios é necessário conhecer as propriedades intrínsecas dos compostos, tais como o a constante de dissociação ácida (pK_a), o coeficiente de partição em diferentes meios, nomeadamente *n*-octanol-água ($\log K_{ow}$), o coeficiente de distribuição *n*-octanol-água ($\log D_{ow}$) e ainda o coeficiente de partição do carbono orgânico do solo-água ($\log K_{oc}$) (90).

A Tabela 5 apresenta as propriedades físico-químicas dos AINE mais vendidos em Portugal.

Tabela 5: Propriedades físico-químicas do diclofenac, ibuprofeno e naproxeno

Propriedades	Diclofenac	Ibuprofeno	Naproxeno
Fórmula molecular	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	C ₁₄ H ₁₄ O ₃
Massa molecular, g mol ⁻¹	296,15 (91)	206,28 (66)	230,26 (69)
t _{1/2} , h	2,3 (92)	1,8 a 2 (93)	12 a 17(94)
log K _{ow}	0,7 a 4,51 (95)	0,45 a 3,97 (95)	3,18 (95)
log D _{ow} , pH 7,4	1,37 (91)	0,45 (96)	0,45 (97)
Solubilidade em água, mg L ⁻¹ (a 25 ° C)	2,37 (91)	21 (66)	15,9 (69)
pKa	4,15 (98)	4,9 (66)	4,2 (69)
BCF	3,162 (91)	3,162 (96)	3,162 (97)
Coefficiente de adsorção ao solo	833,3(91)	394,3(96)	349,3 (97)

Os AINE são maioritariamente ácidos orgânicos fracos, com valores de pKa relativamente baixos (99).

A hidrólise pode ter um efeito significativo no impacte ambiental, quando as substâncias são eliminadas no ambiente aquático, porque a bioconcentração de uma substância diminui com o efeito da hidrólise. Em condições ambientalmente relevantes de pH (entre 4 e 9) e de temperatura e para um tempo de semi-vida inferior a 12 horas, é possível assumir-se que a velocidade de hidrólise é superior à taxa de consumo pelos organismos traduzindo-se numa menor taxa de acumulação do xenobiótico (88).

A massa molecular pode ser um indicador importante do potencial de contaminação de um xenobiótico para um determinado organismo. Substâncias com uma massa molecular superior a 700 g/mol não são facilmente absorvidas pelos organismos aquáticos devido ao impedimento estérico na passagem das membranas das guelras ou células da mucosa respiratória sendo improvável que uma substância se acumule no organismo (100).

O $\log K_{ow}$ descreve a lipofilicidade intrínseca dos grupos funcionais e do esqueleto do carbono de uma molécula, na ausência de ionização. Este coeficiente representa a solubilidade de uma molécula em solventes orgânicos e determina a afinidade por compostos de natureza apolar. Esta propriedade permite aferir o destino de moléculas orgânicas no ambiente e é o principal indicador de bioacumulação de uma substância. Se $\log K_{ow}$ for superior a 3,0 são considerados compostos de natureza lipofílica e tendem a bioacumular. Tanto o diclofenac, como o ibuprofeno e o naproxeno apresentam $\log K_{ow}$ superior a 3,0 pelo que estes fármacos apresentam, tendencialmente, maior lipofilia e poder de bioacumulação. Já os compostos com $\log K_{ow}$ inferior a 3,0 são considerados hidrofílicos e não apresentam

tendência para bioacumulação, no entanto, ultrapassam barreiras físicas permeáveis (como a membrana plasmática) com maior facilidade (17,101,102).

Já o coeficiente de distribuição (log D) corresponde ao coeficiente de partição de uma molécula ionizada ou que é influenciada por um determinado pH, tendo em conta a distribuição da carga de uma molécula. Este índice constitui um parâmetro importante nos estudos de mobilidade de compostos no meio ambiente para prever qual a partição em diferentes meios como a água, lamas, solo e sedimentos (102).

O índice K_{oc} estima a tendência de partição da fase líquida para matéria orgânica e é assumido como um índice de afinidade para o compartimento solo/sedimento (103).

A bioacumulação traduz o aumento de concentração de um poluente num organismo e é um fator geralmente empregue em estudos de ecotoxicidade. Para determinar o potencial de bioacumulação de um xenobiótico são usados vários fatores determinados experimentalmente como o fator de bioconcentração (BCF), fator de bioacumulação (BAF) e o fator de biomagnificação (BMF) calculados pelas seguintes equações:

$$BCF = \frac{\text{Concentração da substância no peixe ou outro tecido (mol/m}^3\text{)}}{\text{Concentração da substância na água (mol/m}^3\text{)}} \quad (1)$$

$$BMF = \frac{\text{Concentração da substância no predador (mol/m}^3\text{)}}{\text{Concentração da substância na presa do predador (mol/m}^3\text{)}} \quad (2)$$

$$BAF = \frac{\text{Concentração da substância no organismo testado (mol/m}^3\text{)}}{\text{Concentração da substância no meio envolvente (mol/m}^3\text{)}} \quad (3)$$

O fator de bioconcentração (BCF) (Equação 1) define-se como a relação adimensional entre as concentrações volumétricas do contaminante no organismo e no seu meio, tendo em conta apenas a exposição através das vias respiratórias, por exemplo, no caso do peixe, a concentração da substância aferida nas brânquias ou guelras, e a concentração da mesma substância na água (104,105). Os AINE diclofenac, ibuprofeno e naproxeno já foram identificados em peixe, inclusivamente a concentração na bÍlis do peixe chegou a atingir valores 1000 vezes superiores aos da água do lago (106). A exposição crónica a fármacos, mesmo que a concentrações mínimas, apresenta riscos elevados de bioconcentração de xenobióticos nos organismos aquáticos (107).

O fator de biomagnificação (BMF) (Equação 2) é preferencialmente definido como a razão lipídica normalizada da concentração da substância no predador e na dieta, ou simplesmente, a concentração da substância no organismo predador sobre a concentração da substância na

presa do predador ou no alimento. Um valor de BMF superior a 1 revela uma preocupação acrescida por mostrar que a concentração da substância testada tende a aumentar nos níveis tróficos superiores da cadeia alimentar, sejam eles consumidores primários, secundários ou terciários, isto é, segundo, terceiro e quarto níveis tróficos, respetivamente, correspondendo o ser humano ao último nível trófico – predador de topo (Figura 10) (105).

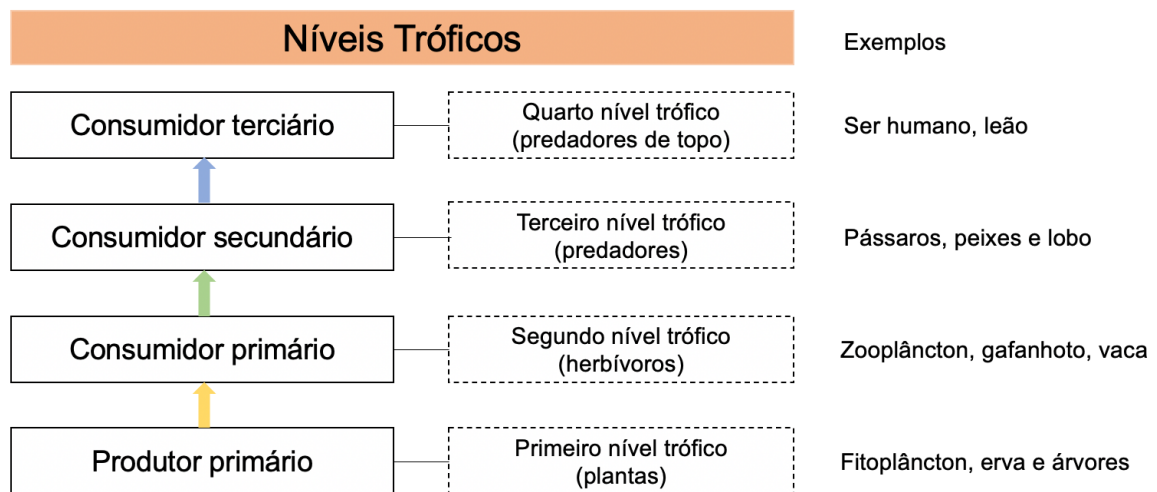


Figura 10: Representação em diagrama dos níveis tróficos de um ecossistema

O fator de bioacumulação (BAF) (Equação 3) tem em conta tanto a bioconcentração como a biomagnificação sendo assim definido como a relação adimensional entre as concentrações volumétricas do poluente no organismo e no seu meio, tendo em conta tanto a exposição do meio (por exemplo água) como a do alimento. O potencial de bioacumulação de uma substância pode também ser reconhecido tendo em conta outras propriedades; se uma substância, mais propriamente um fármaco, apresentar um $\log K_{OW}$ superior ou igual a 4,5, ou se for altamente absorvível, ou se pertencer a uma classe de substâncias conhecidas pelo seu potencial de bioacumulação num organismo, ou se houver indicações das propriedades estruturais e se não coexistir uma propriedade mitigante como a hidrólise (tempo de semi-vida inferior a 12 horas) (104,105,108,109).

Conclui-se que o diclofenac destaca-se dos restantes AINE por ser um fármaco com coeficiente de adsorção ao solo muito superior ao do ibuprofeno e do naproxeno, logo, menor capacidade de lixiviação no solo e conseqüentemente maior potencial para contaminar as águas subterrâneas. O ibuprofeno e o naproxeno destacam-se por serem fármacos com elevada solubilidade em água, o que possibilita que se atinjam concentrações superiores em água superficial do que o diclofenac.

4 Água para consumo humano: contaminação e tratamento na ETA

4.1 Nota introdutória

A água é um “direito humano” trata-se de um bem a que “ninguém deve ter o acesso negado” tal como sublinhou o secretário-geral das Nações Unidas, António Guterres no dia 2 de março de 2019. Trata-se de um bem fundamental para o desenvolvimento socioeconómico, para a produção de energia e alimentos, para a construção de ecossistemas saudáveis e para a sobrevivência da espécie humana (110).

A contaminação de água representa um problema de saúde pública independentemente da sua origem, natural ou antropogénica, há várias décadas. A cólera, diarreia, disenteria, hepatite A, febre tifoide, dengue e poliomielite são exemplos de doenças transmissíveis por águas contaminadas e métodos de saneamento ausentes, inadequados ou desapropriados (111,112). A Organização Mundial de Saúde estima que 829 000 pessoas morrem anualmente de diarreia provocada pelo consumo de água contaminada, falta de saneamento e higienização das mãos. O tratamento das águas para consumo humano surgiu com o grande objetivo de garantir a salubridade caracterizada por não conter microrganismos, parasitas ou outras substâncias em quantidades ou concentrações que constituam um perigo potencial para a saúde humana (113–115).

Em setembro de 2015 foi definida a Agenda 2030 subscrita pelos 193 países membros da ONU constituída por 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) que devem ser concretizados em todos os países, vigorando em sexto lugar o objetivo de garantir a disponibilidade e gestão sustentável da água potável e saneamento para todos (116).

A água para consumo humano tem de preencher critérios de qualidade e segurança. O seu fornecimento contínuo tem de ser garantido com quantidade e qualidade bem controladas, nomeadamente características organolépticas, físico-químicas e microbiológicas. O consumidor de água procura uma água inócua, agradável e em quantidade que garanta as suas necessidades.

4.2 Ciclo urbano da água

O ciclo urbano da água (Figura 11) descreve todas as etapas e processos envolvidos desde a captação da água até ao momento da sua restituição à natureza. A água bruta pode

ser captada do meio natural em águas superficiais (rios ou albufeiras), ou aquíferos subterrâneos como são exemplo os lençóis freáticos. Posteriormente, vai sofrer tratamentos na Estação de Tratamento de Água (ETA) de forma a garantir o fornecimento contínuo de água que apresente características organoléticas, físico-químicas e microbiológicas adequadas ao consumo humano. Depois de tratada a água considerada potável é transportada por condutas ou adutores que a transportam até ao local de armazenamento (reservatórios) e distribuída até ao local de consumo. A água utilizada antes de ser devolvida ao seu meio recetor, tem de ser recolhida através da linha de saneamento por meio de sistemas públicos de coletores e encaminhada para as Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR) para ser novamente tratada e para que seja garantida qualidade e manutenção do seu ciclo (117,118).

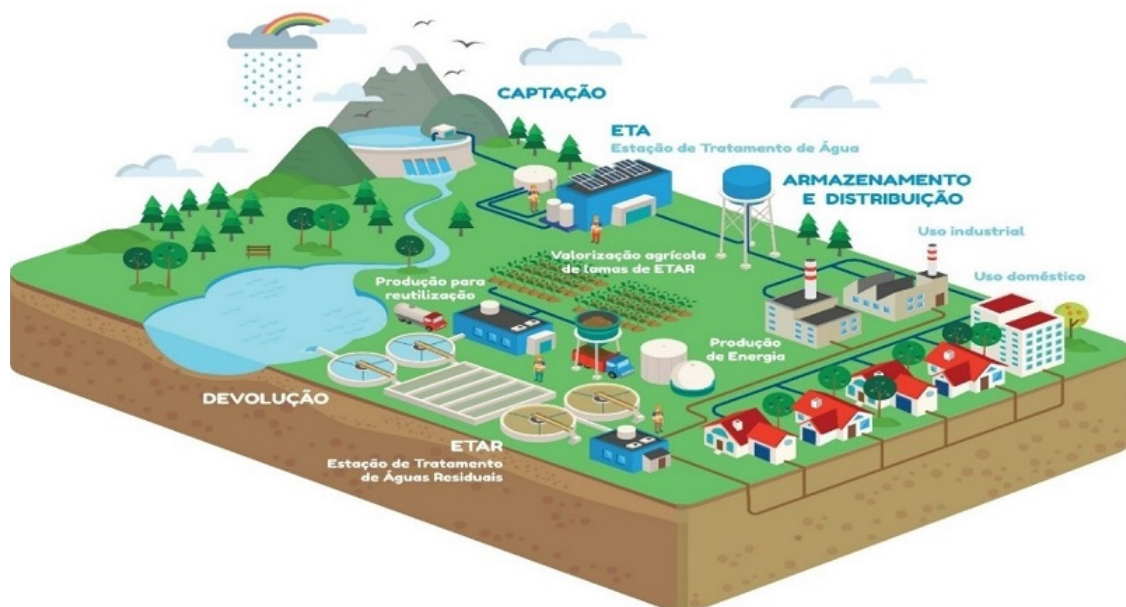


Figura 11: Ciclo Urbano da Água (117)

4.3 Principais fontes de contaminação aquática e vias de exposição humana

A ocorrência de fármacos no meio ambiente deve-se, essencialmente, à descarga de efluentes de origem antropogénica, ou animal, direta ou indiretamente no meio ambiente. Os fármacos tendem a bioacumular-se principalmente em águas superficiais, no entanto, também são identificados em águas subterrâneas. A ineficiência ou ausência do tratamento da água leva à contaminação da água para consumo humano. As vias de exposição humana da água

contaminada com fármacos contemplam, para além do uso terapêutico ou uso recreativo, o consumo de água e os alimentos contaminados com fármacos ou respetivos subprodutos (7,17).

A Figura 12 apresenta as principais vias de contaminação aquática com fármacos e outros produtos farmacêuticos, nomeadamente, medicamentos de uso veterinário.

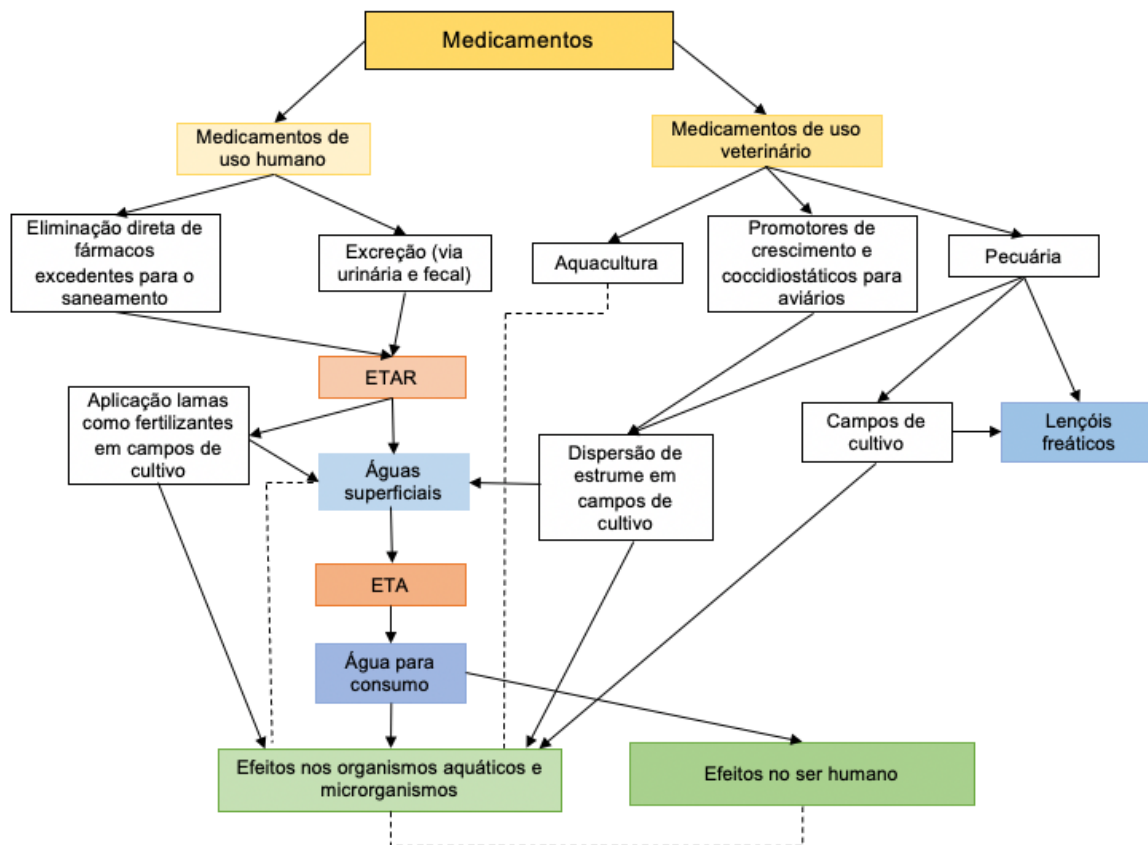


Figura 12: Principais vias de contaminação aquática com fármacos provenientes de medicamentos de uso humano e veterinários

A descarga de efluentes de origem industrial, lançamento de efluentes não tratados diretamente para rios e mares, a rejeição de medicação excedente ou embalagens de medicamentos e produtos de uso veterinário cujo prazo de validade ou de consumo se encontra ultrapassado e a libertação acidental durante a produção e distribuição constituem, fundamentalmente, as fontes de contaminação da água de origem antropogénica (89,119).

A contaminação industrial envolve indústrias de produção de fármacos. O despejo de solventes orgânicos e matéria sólida excedente é regulado em países desenvolvidos, no

entanto, em países em desenvolvimento que não possuam controlo por parte das autoridades reguladoras, pode ser um dos principais contributos para a poluição da água (120,121).

Quando o ser humano elimina diretamente as embalagens vazias e/ou os medicamentos ou produtos de uso humano ou veterinário fora de uso na sanita ou lavatório, contribui para a contaminação aquática. Atualmente, em Portugal, existe um sistema de gestão para este tipo de resíduos, com a recolha em contentores próprios e a posterior incineração segura com valorização energética (122). A VALORMED, criada em 1999, é a entidade responsável pela gestão deste tipo de resíduos através do SIGREM (sistema integrado de gestão de resíduos de embalagens e medicamentos). A existência de um sistema de gestão para este tipo de resíduos veio responder ao desafio inadiável de implementar um sistema autónomo de recolha e tratamento dos resíduos de fármacos, conduzindo a um processo de recolha e tratamento seguros, evitando que estejam "acessíveis" como qualquer outro resíduo urbano, contribuindo para a preservação do ambiente e proteção da saúde pública (122).

A intervenção da VALORMED estende-se a todo o território continental e ilhas e abrange os resíduos de embalagens de medicamentos de uso humano, contendo ou não restos de medicamentos, resíduos de embalagens de medicamentos de uso veterinário, contendo ou não restos de medicamentos, e produtos veterinários para animais domésticos vendidos nas Farmácias Comunitárias e Locais de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (LVMNSRM), produzidos pelos consumidores finais e recolhidos através de Farmácias Comunitárias e LVMNSRM aderentes, e pelos resíduos de embalagens de medicamentos de uso veterinário, contendo ou não restos de medicamentos e, acessoriamente produtos de uso veterinário, recolhidos através dos centros de receção veterinários aderentes (122).

Depois da administração, os processos de eliminação dos fármacos do organismo resultam de processos de biotransformação, que culminam num aumento significativo de sua hidrossolubilidade, favorecendo a sua excreção pela urina e fezes sob a forma do composto original ou metabolitos. Os metabolitos formados muitas vezes podem ser potencialmente mais tóxicos para o biota do que os compostos parentais. O destino mais comum destes compostos é o envio para sistemas de tratamento de águas residuais, quando existem, ou fossas sépticas (89,123,124).

Os efluentes dos hospitais, unidades médicas e das estruturas residenciais para pessoas idosas também podem contribuir para a poluição da água. A medicação prescrita e administrada em unidades médicas, como alguns antibióticos e fármacos citotóxicos, são exemplos de fármacos detetados neste tipo de efluentes (17,89).

A contaminação da água com medicamentos de uso veterinário utilizados na pecuária e na aquacultura representa uma importante fonte de contaminação por serem eliminados, geralmente, de forma direta para o meio ambiente, nomeadamente para o meio aquático. Os medicamentos de uso veterinário podem ter várias aplicações, para além do uso terapêutico,

em animais de companhia ou gado. O seu uso como promotores de crescimento para produção de gado, os coccidiostáticos para produção de aves e os aditivos alimentares em pisciculturas são exemplos das variadas aplicações. Depois de administrados, estes compostos farmacêuticos são excretados para o meio ambiente e podem contaminar diretamente águas superficiais ou as águas subterrâneas, através de processos de lixiviação ou infiltração (17,124).

Uma fonte adicional de contaminação é a utilização de lamas resultantes do tratamento de águas residuais nas ETAR, ou do estrume da exploração pecuária, na agricultura como fertilizantes (89).

Nas ETAR as águas residuais sofrem tratamentos com o objetivo de que a água seja devolvida ao meio ambiente em condições ambientalmente seguras. No entanto, os processos de tratamento nas ETAR, e mesmo nas ETA, nem sempre degradam ou removem totalmente os fármacos e os seus metabolitos. Os efluentes das ETAR ao serem eliminados para as águas superficiais, nomeadamente para os rios, podem contaminar a água bruta destinada à produção de água de consumo humano a jusante do local de descarga da ETAR e conseqüentemente, a água destinada ao consumo humano (19,125).

A contaminação da água para consumo humano com fármacos, metabolitos ou produtos de degradação provenientes da ETA ou de captações particulares, é particularmente relevante devido ao potencial efeito tóxico destes xenobióticos no ser humano decorrente da exposição crónica aos mesmos, face ao consumo inevitável da água como bebida ou na confeção dos alimentos.

4.4 Água de consumo humano: evolução da legislação nacional

O Decreto-Lei nº 236/98, de 1 de agosto já definia o essencial das obrigações das entidades gestoras, nomeadamente, a apresentação do programa de controlo de qualidade da água para consumo humano, a frequência de amostragem de acordo com a população servida, a comunicação dos incumprimentos de valores paramétricos e outras situações que comportassem risco para a saúde humana, a publicação trimestral dos resultados obtidos nas análises de demonstração de conformidade, a comunicação, até 31 de março de cada ano, dos dados analíticos da implementação do programa de controlo de qualidade da água relativos ao ano transato, a realização de análises preferencialmente em laboratórios de ensaios credenciados e os métodos analíticos de referência (126). Este decreto foi revogado pelo Decreto-Lei nº 243/2001 de 5 de setembro. Neste decreto, a lista dos parâmetros a realizar e os valores paramétricos sofreram alterações e foi abordado, de uma forma mais racionalizada, o controlo dos pesticidas. Também ficou definido que o controlo da qualidade

da água passava a ser feito na torneira do consumidor e definiu a necessidade de regulamentação das situações em que a gestão e a exploração de um sistema de abastecimento público de água estão sob a responsabilidade de duas ou mais entidades gestoras. Neste mesmo Decreto-Lei ainda surgiu uma alteração mais significativa com a criação de uma autoridade competente, o Instituto Regulador de Águas e Resíduos (IRAR), atualmente conhecida como Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos (ERSAR), com o objetivo de concentrar um conjunto essencial de atribuições dispersas por várias entidades públicas, aumentando a eficiência da administração na fiscalização de uma matéria essencial à proteção da saúde humana (127).

A revisão de Decreto-Lei nº 243/2001, de 5 de setembro (127) procurou uma atualização dos aspetos vertidos neste diploma legal e na Portaria nº 1216/2003, de 16 de outubro (128). Assim surge o Decreto-Lei nº 306/2007, de 27 de agosto, com alterações, nomeadamente quanto à frequência de amostragem de zonas de abastecimento com volumes diários inferiores a 100 m³, definição e implementação de um programa de controlo operacional, introdução de novos parâmetros de controlo da qualidade da água tendo em conta a existência de água com elevada dureza e aparecimento de florescências de cianobactérias e, por último, a obrigatoriedade de assegurar a sua qualidade da água para consumo humano. *“As entidades gestoras de sistemas de abastecimento público em baixa devem, tendencialmente, disponibilizar por rede fixa ou outros meios, água própria para consumo humano devidamente controlada, em quantidade que satisfaça as necessidades básicas da população e em qualidade, na sua área geográfica de influência. Compete às autoridades gestoras garantir que a água destinada a consumo humano seja salubre, limpa e desejavelmente equilibrada, designadamente que não contenha nenhum microrganismo, parasita ou substância em quantidade ou concentração que possa constituir um perigo potencial para a saúde humana.”* Para além disto, o processo de desinfeção da água destinada ao consumo humano foi implementado e obrigatório para toda a água distribuída, com a exceção de águas que apresentem um histórico analítico sem incumprimentos microbiológicos sem recurso à desinfeção. Às autoridades gestoras compete assegurar a eficácia da desinfeção e garantir, sem a comprometer, que a contaminação por subprodutos da água seja mantida a um nível tão baixo quanto possível e não ponha em causa a sua qualidade para consumo humano (129).

O Decreto-Lei nº 306/2007, de 27 de agosto (129), atualizado para o Decreto-Lei nº 152/2017, de 7 de dezembro (130), define água para consumo humano: *“toda a água no seu estado original, ou após tratamento, destinada a ser bebida, a cozinhar, à preparação de alimentos, à higiene pessoal ou outros fins domésticos, independentemente da sua origem e de ser fornecida a partir de uma rede de distribuição, de um camião ou navio-cisterna, em garrafas ou outros recipientes com ou sem fins comerciais”* e ainda é igualmente considerada

“toda a água utilizada numa empresa da indústria alimentar para fabrico, transformação, conservação ou comercialização de produtos ou substâncias destinados ao consumo humano, assim como a utilizada na limpeza de superfícies, objetos e materiais que podem estar em contacto com os alimentos, exceto quando a utilização dessa água não afeta a salubridade do género alimentício na sua forma acabada”.

A última publicação em Diário da República quanto à qualidade da água, o Decreto-Lei nº 152/2017, de 7 de dezembro, advém da transposição da Diretiva (UE) nº 2015/1787 da Comissão, de 6 de outubro de 2015 (131), vem permitir a frequência de monitorização flexível, adequada a determinadas circunstâncias, com o objetivo de redução de custos e redução de recolha de dados que fornecem poucas ou nenhuma informação sobre a qualidade da água. Os parâmetros e valores paramétricos publicados permitem aferir e assegurar a qualidade da água, analisando com frequência definida consoante o volume de água fornecida a presença de microrganismos como *Escherichia coli* e Enterococos, de químicos como são exemplos pesticidas, mercúrio, cloritos, cloratos, desinfetante residual, tetracloreto/tricloroetano ou trihalometanos (THM) (130).

Na Diretiva (UE) nº 2020/2184 da Comissão, de 16 de dezembro de 2020, revela uma preocupação acrescentada quanto à presença de agentes patogénicos entéricos, *Legionella* e 3 compostos desreguladores endócrinos na água para consumo humano, o bisfenol A (BPA) e o nonilfenol (NP), produtos químicos industriais utilizados no fabrico de plásticos de policarbonato e resinas presentes em detergentes, pesticidas, plásticos e o β -estradiol (132).

De acordo, com o exposto, podemos verificar que os fármacos ainda não fazem parte dos parâmetros de qualidade da água de consumo humano.

4.5 Estudos de monitorização ambiental

A ocorrência de fármacos no ambiente é descrita desde os anos 70 nos Estados Unidos da América, com a deteção de fármacos para o aparelho cardiovascular, analgésicos e anticoncepcionais (133,134).

O primeiro grande caso de contaminação ambiental e acumulação de fármacos nas cadeias alimentares surge com o declínio da população de abutres no Paquistão e na Índia. Na década de 1990 houve um decréscimo da população de abutres superior a 95%, no Parque Nacional de Keoladeo, na Índia. Consequentemente, algumas espécies de abutres são agora consideradas espécies em perigo crítico. Este fenómeno foi justificado pela correlação direta entre a acumulação de resíduos de fármacos anti-inflamatórios, mais especificamente, diclofenac, e a insuficiência renal detetada nos abutres (135–137). Este caso também

evidenciou a contaminação ao longo da cadeia trófica, uma vez que o diclofenac era administrado aos bovinos, que após morte, eram consumidos pelos abutres.

A maioria dos fármacos com elevada probabilidade de serem detetados em águas são aqueles que são mais utilizados e que estão mais acessíveis, mais propriamente os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica. Tanto o diclofenac, como o ibuprofeno e o naproxeno têm apresentações de venda livre (8).

A contaminação com fármacos já foi detetada em águas residuais de hospitais, em efluentes de ETAR, em águas de superfície como rios e lagos ou mares, águas subterrâneas e mesmo águas para consumo humano (138).

4.5.1 Diclofenac

O diclofenac é um fármaco extensamente detetado em várias matrizes ambientais, inclusive em águas superficiais (rios, lagos e mares), águas subterrâneas, efluentes de hospitais, afluentes e efluentes de ETAR e até, águas para consumo humano (15,19,139–142). Este fármaco, apesar da sua célere degradação, a sua persistência ambiental e o seu amplo consumo (mais de 1000 toneladas por ano, como medicamento e medicamento de uso veterinário, a nível mundial) faz com que seja um composto cuja monitorização ambiental seja cada vez mais relevante (143).

Juntamente com o 17α -etinil-estradiol e com o 17β -estradiol, o diclofenac esteve incluído na lista de vigilância das substâncias a monitorizar a nível da União Europeia no domínio da política da água. Esta lista é constituída por um grupo de substâncias para as quais devem ser recolhidos, em toda a União Europeia, dados de monitorização a fim de servirem de base a futuros exercícios de estabelecimento de valores guia, nos termos do artigo 16º, nº2, da Diretiva 2000/60/CE. No entanto, a Diretiva 2018/840 da Comissão Europeia, dispõe que, com os dados do primeiro ano de monitorização, a substância pode ser retirada da lista de vigilância (144–146).

A Tabela 6 apresenta as concentrações detetadas de diclofenac em vários países e em diferentes sistemas de água.

Tabela 6: Concentração de diclofenac detetadas em vários tipos de água, por país de origem

Tipo de água	País	Concentração, µg/L	Referências
Efluentes de ETAR	Brasil	1	(147)
	Áustria	1,75	(148)
	Reino Unido	0,424	(149)
	Suíça	1,3 – 2,4	(150)
Águas subterrâneas	Espanha	0,38	(16)
Águas de superfície	Alemanha	0,164	(18)
	Malásia	0,117	
	Paquistão	1,55	
	Brasil	0,4	(151)
	Portugal	0,0241 ^a	(152)
Efluente hospitalar	Taiwan	0,328	(153)
	Espanha	0,06 – 1,9	(154)
Água para consumo humano	EUA	<0,00025	(155)
	Eslovénia	<0,007	(156)

^a Praia de Lavadores, Vila Nova de Gaia

4.5.2 Ibuprofeno

O ibuprofeno é uma das substâncias ativas mais detetadas no ambiente devido ao seu elevado consumo e por não ser totalmente metabolizado. Apesar do IBP não ser um fármaco muito persistente, a sua constante reintrodução nos sistemas aquáticos permite que exista num estado “pseudopersistente” (157).

A Tabela 7 descreve os diferentes níveis de contaminação aquática com ibuprofeno, por país.

Tabela 7: Concentração de ibuprofeno detetadas em vários tipos de água, por país de origem

Tipo de água	País	Concentração, µg/L	Referências
Efluentes de ETAR	Coreia do Sul	0,049	(158)
	Reino Unido	0,289	(159)
	Espanha	0,240 - 28	(160)
Afluentes de ETAR	Coreia do Sul	0,243	(158)
	Alemanha	5,533	(161)
	Reino Unido	7,741 – 33,764	(162)
Águas subterrâneas	Europa	0,003 – 3,95	(58)
Águas de superfície	Costa Rica	5	(163)
	Grécia	1 – 67	(164)
	Coreia do Sul	<0,005 – 4,14	(165)
	Taiwan	45,875	(166)
	Reino Unido	0,0003 – 0,1	(167)
	Portugal	0,0256 ^a	(152)
Efluente hospitalar	Espanha	1,5 – 151	(154)
Água para consumo humano	Eslovénia	<0,012	(156)

^a Rio Leça, Porto

4.5.3 Naproxeno

O naproxeno é um dos AINE mais detetados no ambiente aquático (107). O NPX apresenta uma semi-vida de 27 dias e é considerado não degradável o que demonstra ser um fármaco persistente ambientalmente. Adicionalmente, esta substância ativa é abundantemente consumida e produzida (168).

Na Tabela 8 estão representados os vários níveis de contaminação aquática do fármaco em diferentes países.

Tabela 8: Concentração de naproxeno detetadas em vários tipos de água, por país de origem

Tipo de água	País de origem	Concentrações, µg/L	Referências
Efluentes de ETAR	Coreia do Sul	5,033	(158)
	Canadá	0,271 – 7,962	(169)
Afluentes de ETAR	Coreia do Sul	0,166	(158)
	Canadá	1,730 – 6,030	(170)
	Suécia	3,65	(171)
	Alemanha	0,732	(161)
Águas de superfície	Portugal	0,0324	(152)
	Alemanha	0,39	(172)
	Suíça	0,02 – 2,6	(173)
Efluente hospitalar	Taiwan	0,698	(153)
Água para consumo humano	Estados Unidos da América	<0,0005	(155)
	Eslovénia	<0,026	(156)

4.6 Tratamento de água para consumo humano

4.6.1 Etapas do tratamento de água na ETA

As etapas que compõem o sistema de tratamento de água numa Estação de Tratamento de Água podem ser variáveis por serem dependentes da qualidade da água de origem. Nas Figuras 13 e 14 estão representados esquemas típicos do tratamento de água de origem superficial e subterrânea, respetivamente. O tratamento de águas para consumo humano pode ser constituído por 10 etapas: o armazenamento, a gradagem, o arejamento, a tamisação, a mistura rápida, a coagulação/floculação, a sedimentação (decantação), a filtração, a desinfecção e a fluoretação, sendo que a última não é aplicada a nível nacional. Às etapas que controlam a remoção ou eliminação de contaminantes podem denominar-se operações ou processos unitários (UOP).

O armazenamento da água após a sua captação permite que ocorram processos que promovam a autopurificação, redução da turvação, redução dos agentes patogénicos, diluição das substâncias indesejáveis e oxidação das impurezas. No entanto, o armazenamento de água apresenta desvantagens como a produção de algas, a poluição por animais, evaporação e fenómenos de lixiviação de ferro e manganês.

A gradagem consiste na remoção de sólidos em suspensão e flutuantes de grande dimensão ($> 0,3$ mm), que podem afetar equipamento mecânico a jusante (bombas, válvulas, tubagens, arejadores, entre outros). Para o processo são utilizadas barras metálicas paralelas semelhantes a grades (174,175).

O arejamento vem permitir o aumento ou manutenção da saturação de oxigénio na água, a remoção de microcontaminantes voláteis, remoção do dióxido de carbono em excesso (respiração de microrganismos e falta de crescimento abundante de plantas), do gás sulfídrico (sulfureto de hidrogénio), metano e outras substâncias aromáticas voláteis e ainda permite a oxidação e precipitação de compostos indesejáveis como o ferro e manganês. Este processo consiste em colocar a água em contacto com uma fase gasosa, aumentando a área de superfície de contacto com a fase gasosa (176).

A tamisação ou microtamisação consiste na remoção de sólidos de menor dimensão, como algas em águas superficiais. A tamisação é classificada em microtamisação quanto a abertura da malha é inferior a 0,5 mm e macrotamisação entre 0,2 mm e 6 mm (174).

A pré-oxidação ou desinfecção primária tem como objetivo melhoria das características organoléticas (cor, cheiro e sabor), oxidação da matéria orgânica natural, micropoluentes e metais (ferro e manganês) e controlo do crescimento biológico, permitindo a redução da contagem de bactérias fecais e patogénicas. Esta etapa tanto é efetuada em águas superficiais como em águas de origem subterrânea e recorre a reagentes tais como o cloro gasoso, o dióxido de cloro, o hipoclorito de sódio e o ozono (177,178).

A mistura rápida possibilita que ocorram processos como a coagulação, correção de pH ou agressividade e a adição de carvão ativado em pó para adsorção de matéria orgânica e microcontaminantes orgânicos. Esta etapa é importante para permitir a dispersão do coagulante, dos corretores de pH e do carvão ativado e ainda promove a colisão de partículas, importante para os fenómenos de coagulação (179).

A coagulação permite que, com destabilização das partículas em suspensão e coloidais (partículas inferiores a $10\ \mu\text{m}$) por um agente coagulante, se formem flocos sedimentáveis de microcontaminantes a um determinado pH. Os agentes químicos responsáveis pela ação coagulante são sais de alumínio e ferro (cloreto férrico e sulfato de alumínio são os mais utilizados), polieletrólitos, poliacrilamida, pré-polimerizados como o polihidróxido-sulfato de alumínio e a hidróxido de cálcio. A floculação é o processo em que se dá o crescimento dos flocos previamente formados durante a coagulação, de modo a que sejam sedimentáveis (177).

O carvão ativado devido à sua capacidade de adsorção possibilita eliminação de substância indesejáveis na água (matéria orgânica natural, trihalometanos, compostos com sabor e cheiro, alguns metais, cianotoxinas e pesticidas) (177,179).

O processo de sedimentação ou decantação traduz-se na deposição das partículas ou agregados previamente formados por ação da gravidade. A sedimentação é possível quando uma série de fatores como o tamanho e forma dos flocos, viscosidade e temperatura da água, taxa de escoamento superficial e velocidade de fluxo, o permitem. Em Portugal, o decantador mais utilizado é o decantador convencional (177,180) (179).

Já o processo da filtração baseia-se na remoção das partículas em suspensão ainda presentes na água decantada, como por exemplo, flocos não sedimentáveis, com dimensões superiores aos poros do filtro. A adsorção também é um processo físico importante na filtração ao permitir que partículas de dimensões inferiores aos poros não ultrapassem os filtros por aderirem à superfície dos grãos de areia presentes nos filtros ou à superfície de material já depositado. As atividades química e biológica também desempenham um papel fundamental nesta etapa. A atividade química permite que as impurezas se tornem insolúveis para serem posteriormente removidas. A atividade biológica consiste na utilização de matéria orgânica existente na água por microrganismos (181).

A correção de pH pode ser necessária ao longo da linha de tratamento pois algumas etapas exigem valores específicos de pH. Neste âmbito, para ajustar a acidez ou alcalinidade podem ser utilizados reagentes ácidos, como por exemplo, o dióxido de carbono e o ácido sulfúrico, ou reagentes básicos, o hidróxido de sódio (soda cáustica) ou o hidróxido de cálcio (cal hidratada). A correção de pH ou remineralização contribui não só para o aumento da alcalinidade e da dureza da água de modo a facilitar a coagulação e a floculação, mas também para que a água não apresente um caráter agressivo para os materiais com os quais contacta na ETA (177,182,183).

A montante da zona de coagulação normalmente existe uma bomba doseadora de ácido sulfúrico, dotada de variador de frequência que atua em função do pH pretendido e do caudal instantâneo. Depois da filtração pode seguir-se o ajuste de pH ou da agressividade da água, dependendo da origem da água ou da necessidade. A agressividade da água é devida ao excesso de dióxido de carbono. Para atingir o equilíbrio calco-carbónico pode ser adicionado um reagente alcalino como a cal, ou pela percolação da água através de leitos de material alcalino (como a brita calcária). Na aplicação de leitos de brita calcária é importante controlar parâmetros como o tempo de contacto nos leitos como a granulometria média da brita (174,177,182,184).

A desinfecção final da água destinada para consumo humano tem como finalidades a inativação de microrganismos patogénicos ou de outros organismos indesejáveis e a garantia de existência de um residual de desinfetante ao longo do sistema de distribuição da água tratada. Apesar do grande objetivo da desinfecção ser a eliminação de microrganismos nunca se pretende atingir uma água estéril, i.e. remoção de todos os organismos presentes (185). Entre os métodos de desinfecção destacam-se tratamentos físicos por aplicação de radiações

ultravioleta (UV), ultrassons ou calor e tratamentos químicos. Os tratamentos químicos envolvem agentes oxidantes como o ozono, o cloro gasoso, o dióxido de cloro, o hipoclorito de sódio e o hipoclorito de cálcio. Um bom agente desinfetante tem de possuir capacidade de destruir diferentes tipos de microrganismos, atuar num curto período de tempo à temperatura ambiente, ser inócuo, não conferir sabor, cor ou cheiro à água, ser facilmente armazenado, transportado e manipulado, ter um custo razoável, ser doseado por métodos simples e rápidos e possuir ação desinfetante residual. Segundo o Decreto-Lei nº 152/2017, de 7 de dezembro, é recomendável que a concentração esteja entre 0,2 mg/L e 0,6 mg/L de cloro residual livre ou 0,1 mg/L a 0,4 mg/L de dióxido de cloro, na água da torneira do consumidor (130).

Por último, a fluoretação das águas de abastecimento público iniciou-se nos anos 40 com a incorporação de compostos de flúor na água com o objetivo de controlar a cárie dentária. Atualmente, a água para abastecimento da rede pública é fluoretada a partir da adição de ácido hidrofúosilícico. A ingestão crónica de fluoretos, quando não controlada, pode originar problemas toxicológicos que se podem sobrepor aos interesses de saúde pública, mais precisamente a prevenção da cárie dentária (186–189).

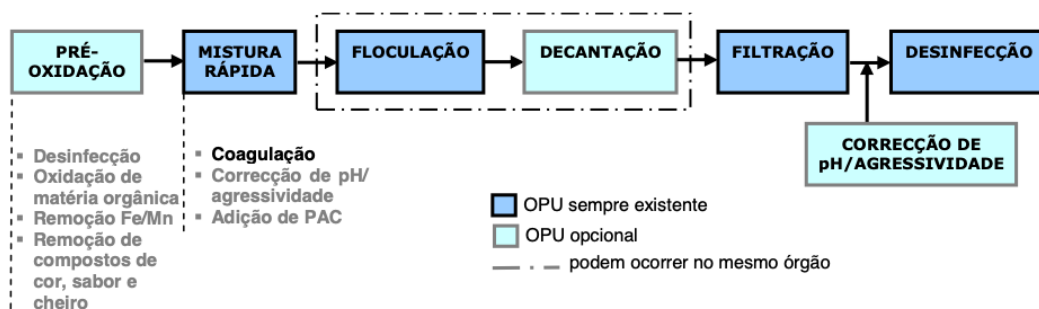


Figura 13: Esquema típico de tratamento de água de origem superficial em Portugal (177)

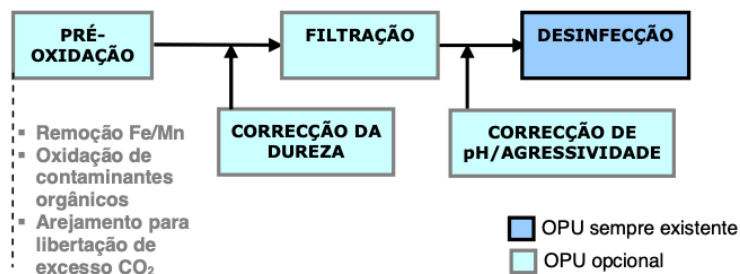


Figura 14: Esquema típico de tratamento de água de origem subterrânea em Portugal (177)

4.6.1.1 Métodos de desinfeção da água

Dentro dos métodos de desinfeção de água para consumo supracitados existem várias vantagens e limitações que os tornam mais ou menos adequados. Em Portugal, o método utilizado mais utilizado é a cloração com hipoclorito de sódio, quer em águas de origem subterrânea, como superficial (Figuras 15 e 16). No entanto, nem todos os países optam por usar os mesmos sistemas de desinfeção. Como a informação relativa aos sistemas de desinfeção na Europa é escassa ou inexistente apresentamos resultados de 1998. Na Figura 17 estão representados os métodos de desinfeção mais utilizados em alguns países da Europa em 1998 (177,190).

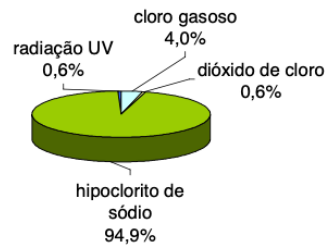


Figura 15: Reagentes utilizados na desinfeção final das águas subterrâneas (147)

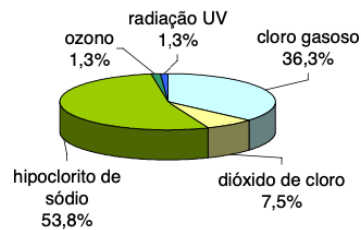
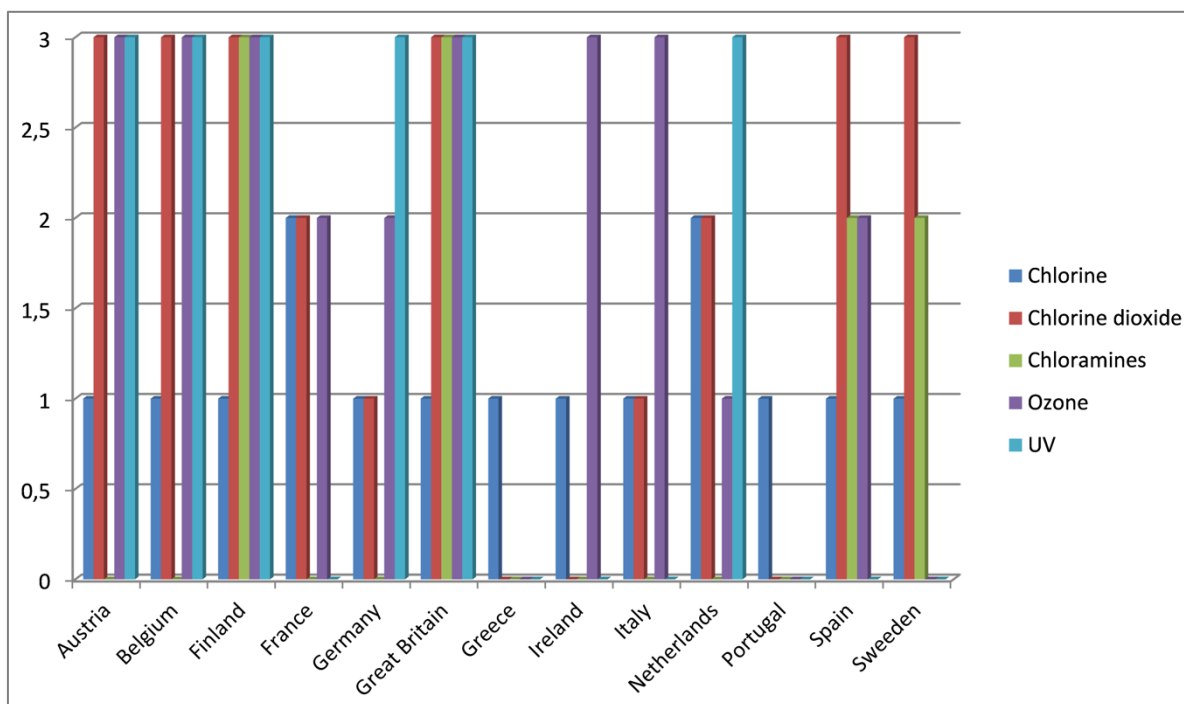


Figura 16: Reagentes utilizados na desinfeção final de águas superficiais (177)



1. Mais comum
2. Comum
3. Usado ocasionalmente

Figura 17: Métodos de desinfeção de água para abastecimento público utilizados em alguns países da Europa em 1998 (190)

4.6.1.1 Radiação ultravioleta

A utilização de radiação ultravioleta para desinfeção é possível ao fazer incidir radiação proveniente de uma lâmpada de vapor de mercúrio ou UV-LED (*ultraviolet light emitting diode*) numa porção pequena e fina de água, normalmente feito numa câmara de fluxo, a um intervalo de comprimento de onda ótimo entre 255 e 265 nm. A radiação ultravioleta permite que as ligações químicas no ADN, ARN e proteínas de bactérias, vírus e até protozoários se quebrem, podendo, deste modo, eliminar ou inativar microrganismos. Este método é vantajoso na medida em que: não interage com o material e tubagem da ETA, tem um bom potencial germicida, principalmente na remoção de *Cryptosporidium* e de *Giardia*, não confere alterações no cheiro ou cor e apresenta menos impacto ambiental, i.e., não são formados metabolitos como os trihalometanos, acetaldeído associado à hemoglobina (HAA), aldeídos e bromados e metabolitos da cloramina. Contudo, este método requer uma instalação elétrica, não é muito eficaz em ovos de helmintas que são bastante resistentes à penetração da radiação, está dependente das características de qualidade da água (turvação, substâncias absorventes de UV, sólidos suspensos), por não deixar resíduos, só pode ser usada na

desinfecção primária (e numa água muito mineralizada, pode haver deposição de minerais na lâmpada tornando o processo menos eficaz (174,185,191,192).

4.6.1.1.2 Ozonização

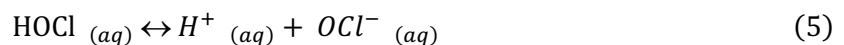
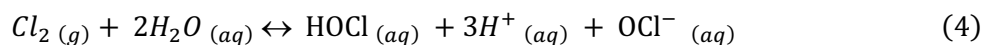
A ozonização é o processo de desinfecção da água por adição de ozono (O_3) e é considerado o método mais eficiente de desinfecção da água. O ozono inativa os microrganismos por oxidação dos compostos que compõem a sua membrana celular, o citoplasma e ainda destrói o ADN. A injeção de ozono na água dá origem à formação de radicais hidroxilo ($\bullet OH$), que são altamente reativos e lhe confere um elevado potencial germicida. O seu perfil de oxidação ainda permite a remoção de ferro e manganês da água ao formar óxidos metálicos que, posteriormente, podem ser filtrados, e a remoção de outros contaminantes como pesticidas, corantes e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (174) (193).

Este método apresenta várias vantagens desde o eficaz efeito bactericida, esporicida e viricida, da oxidação do ferro e manganês e da remoção de contaminantes persistentes, já referidas, até à remoção de cor e de odores da água, do seu efeito rápido, formação de compostos organohalogenados (à exceção dos bromados) e não requerer o transporte e armazenamento de substâncias perigosas. Esta tecnologia apresenta algumas desvantagens, entre os quais, os custos elevados, não existir uma ação desinfetante residual (necessidade de outro método de desinfecção) e a ineficácia quando o grau de humidade e temperatura são elevados (pH ótimo entre os 6 e os 8,5 e temperatura entre 10 °C e 27 °C). De realçar que o ozono é um gás instável à pressão atmosférica, tóxico em concentrações elevadas e é classificado como gás de efeito estufa (174,185,192).

4.6.1.1.3 Cloração

A cloração, também designada por cloragem, é o processo de desinfecção químico da água por diluição de cloro molecular (Cl_2) ou de compostos clorados na água. Este método é utilizado há várias décadas e permite prevenir contaminações posteriores à desinfecção da água. Em Portugal, tal como antes referido, é obrigatório que a água da torneira do consumidor apresente um resíduo de cloro livre ou dióxido de cloro com o objetivo de garantir a remoção e inativação de microrganismos patogénicos. Para a desinfecção de águas de abastecimento público podem ser usados o cloro gasoso, o hipoclorito de sódio, o hipoclorito de cálcio, o dióxido de cloro e as cloraminas (174) (190).

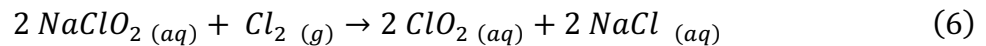
O cloro gasoso (Cl_2) é um gás cor amarelo-esverdeado, tóxico, com alta eficácia na remoção de microrganismos patogénicos. Este gás é fornecido liquefeito, transportado em cilindro de aço em autotanques. O manuseio deste gás requer medidas de segurança em todas as fases, desde o armazenamento, transporte e utilização por ser um gás letal a concentrações tão ínfimas como 0,1% de ar por volume e por ser muito irritante e corrosivo para os olhos e mucosas. Quando o líquido é despressurizado vaporiza e ao ser injetado na água dá origem ao ácido clorídrico (HCl) e ao ácido hipocloroso (HOCl), o qual se dissocia em H^+ e OCl^- , conforme as Equações 4 e 5. Este processo é mais utilizado na desinfeção final de águas superficiais (36,3 %) do que na desinfeção final de águas subterrâneas (4,0%) (Figuras 15 e 16). A utilização de cloro gasoso é um método que incute a menos custos quando comparado com a ozonização ou a radiação UV e demonstra eficácia para eliminar uma diversidade de microrganismos patogénicos (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, adenovírus). Apesar disto, este método confere cheiro e sabor à água e promove a produção de compostos organoclorados, como os trihalometanos, conhecidos pelo seu efeito mutagénico e carcinogénico (174,177,185,192).



O hipoclorito de sódio (NaOCl) é o reagente oxidante mais utilizado, na forma de solução aquosa a 12-15 %, para a desinfeção de águas de origem subterrânea e superficial em Portugal. Normalmente, o hipoclorito de sódio é usado em sistemas de pequena dimensão e quando comparado com a solução padrão as soluções de hipoclorito de sódio são menos perigosas e menos concentradas. O NaOCl apresenta elevada eficiência na inativação de bactérias e de vírus e baixa na inativação de protozoários. Adicionalmente, como desvantagens é um desinfetante pouco estável, perdendo 1% de atividade por dia e sua ação é afetada pelas condições de pH, luz, temperatura e concentração de metais pesados (174,192).

O hipoclorito de cálcio ($Ca(OCl)_2$) pode ser usado em substituição do hipoclorito de sódio. Apresenta-se na forma sólida e, por essa razão, é de manuseio mais seguro que o NaOCl e que o cloro gasoso. Outra grande diferença do hipoclorito de sódio é a sua elevada estabilidade e manutenção da eficácia ao longo do tempo. Como limitações, o uso ou armazenamento inapropriado pode causar explosões ou emissão de gases tóxicos (quando exposto a fontes de calor, quando reage com pequenas quantidades de água ou outra matéria estranha) (174,192).

O dióxido de cloro (ClO_2) é um poderoso desinfetante gasoso. Apresenta instabilidade e alta reatividade, não pode ser transportado e por isso, tem de ser produzido *in situ*. O dióxido de cloro é produzido por reação de Cl_2 com clorito de sódio (NaO_2Cl) (Equação 6).



Se não existir Cl_2 em excesso no meio, o dióxido de cloro não reage com substâncias presentes na água e, desta forma, não origina compostos organoclorados. Este desinfetante é um agente oxidante forte irritante para o sistema respiratório, pele e olhos e desintegra-se violentamente com a radiação UV. O uso de dióxido de cloro é vantajoso por oxidar o ferro, manganês e sulfuretos, não ser prejudicial para o ecossistema e para a saúde, permitir que o sabor e cheiro resultantes da degradação de algas e matéria vegetal seja controlado e garantir uma ação desinfetante residual. No entanto também apresenta algumas desvantagens: formação de cloritos e cloratos como subprodutos, os custos associados à produção em termos de instalação, de pessoal e manutenção (174,194).

4.6.1.2 Subprodutos da cloração e formação de compostos organoclorados

A descoberta, nos anos 70, de que a cloração origina subprodutos de desinfecção (DBP) da água cancerígenos, por combinação do cloro com compostos orgânicos presentes na água, mesmo em concentrações muito reduzidas, tem vindo a afastar a cloração como método de desinfecção de águas em favor de outros processos (174).

Os DBP são formados por reações entre cloro e a matéria orgânica natural, mais especificamente, com substâncias húmicas – fração humificada do húmus resultante da oxidação e condensação da matéria orgânica animal e vegetal. Os DPD mais comuns são os trihalometanos (37 – 58%), ácidos haloacéticos (22 - 36%) e haloacetoneitrilos, (3-7%) sendo que os níveis destes compostos na água dependem da concentração de cloro, o tempo de contacto, o teor em matéria orgânica, concentração de brometos, temperatura e pH (195,196).

A formação dos trihalometanos não está bem esclarecida, mas há literatura que sugere que ocorre inicialmente ataque do cloro a um carbono do anel aromático de uma terminação fenólica do ácido húmico seguida da clivagem do anel (Figura 19). Os trihalometanos têm poder citotóxico, genotóxico e mutagénico demonstrando ser um risco para a saúde (197,198).

A maioria dos DPD ainda não possui atividade biológica bem descrita e é urgente compreender de que forma a exposição crónica a estes compostos pode afetar o ambiente e a saúde humana (199).

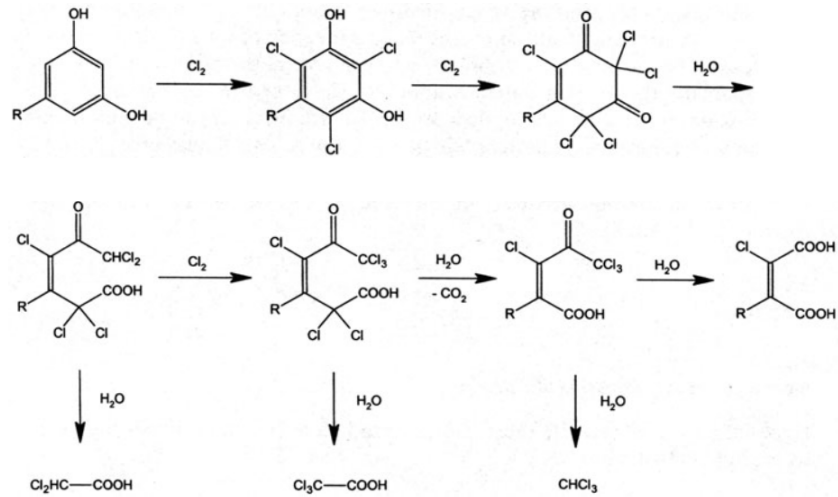


Figura 18: Mecanismo resumido da formação do triclorometano (196)

A seção 4 apresenta mais detalhadamente as reações dos vários desinfetantes com os AINE em estudos e apresenta resumidamente quais os principais efeitos tóxicos.

5 Toxicidade aguda e crónica

Todos os produtos farmacêuticos apresentam risco de contaminação ambiental e é imperativo descrever o comportamento das substâncias e o seu impacto toxicológico. Toda a substância eliminada pode, por si só, apresentar efeitos nocivos contra microrganismos ou seres vivos, contudo pode também sofrer reações de bioativação ou biopotenciação. A contaminação aquática é o ponto de partida para a toxicidade em espécies animais aquáticas, mas também para organismos terrestres e mesmo para o ser humano (86,119).

As concentrações detetadas de AINE em ambiente aquático são relativamente reduzidas, variam na ordem dos ng/L a µg/L, contudo a atividade biológica destas moléculas confere-lhes uma potencial toxicidade contra os organismos aquáticos (5,19).

Em vários estudos realizados, o diclofenac parece ser o anti-inflamatório que apresenta maior toxicidade aguda dentro da classe (60,200–202).

Os estudos ecotoxicológicos realizados avaliam os efeitos da exposição de organismos a xenobióticos. Os estudos de toxicidade aguda consistem em ensaios de curta duração que avaliam os principais efeitos e a mortalidade dos organismos depois de uma exposição num curto espaço de tempo. Os estudos de toxicidade crónica consistem em ensaios de exposição repetida ou contínua que abrangem variáveis a médio e longo prazo, como por exemplo, a influência da substância na reprodução, na inibição do crescimento ou mudanças comportamentais, e são os ensaios usados para estimar o risco ambiental de um xenobiótico (202,203).

Tal como referido anteriormente, os AINE inibem a produção de prostaglandinas de forma inespecífica sendo a toxicidade relacionada com os efeitos a nível gástrico, renal, hepático ou cardiovascular (48,204,205).

5.1 Toxicidade aguda

Estudos toxicológicos efetuados com diclofenac em *Daphnia magna* - cladóceros (pequenos crustáceos) muito utilizados como modelos biológicos por serem considerados intermediários entre o consumidor primário e níveis tróficos superiores - determinaram um valor EC50, isto é, um valor de concentração do fármaco que induz metade do efeito máximo (concentração efetiva média), de 123,3 mg/L com exposição de diclofenac sódico durante 48 horas em concentrações entre 52,0 e 155,3 mg/L (202). Este valor de EC50 para *D. magna* mostra baixa sensibilidade ao diclofenac quando comparado com outros estudos de 48 horas

que apresentam valores de EC50 mais reduzidos, nomeadamente 60,7 mg/L (206), 67,0 mg/L (207) e 68 mg/L (60).

No estudo realizado em 2004 que apresenta um valor de EC50 de 68 mg/L para o diclofenac foram também determinados os valores de EC50 em *D. magna* para ibuprofeno e naproxeno, 101,2 mg/L (em concentrações de 89,2 a 114,9 mg/L) e 166,3 mg/L (em concentrações de 130,5 a 211,9 mg/L), respetivamente (60).

Segundo a classificação do UNECE (*United Nations Economic Commission of Europe*), pode classificar-se uma substância quanto à toxicidade aguda em organismos aquáticos, mais propriamente para os crustáceos, com base nos valores de EC50 (Tabela 9). De acordo com esta classificação, o diclofenac é considerado uma substância prejudicial para crustáceos (*D. magna*) e apresenta a maior toxicidade aguda quando comparado com os restantes AINE referidos.

Tabela 9: Classificação de substâncias prejudiciais para crustáceos, peixes e algas ou plantas aquáticas com base nos valores de EC50 (208)

Crustáceos	
Intervalo de valores de EC50 (48 horas)	Classificação
≤ 1 mg/L	Muito tóxico para crustáceos
> 1 mg/L e ≤ 10 mg/L	Tóxico para crustáceos
> 10 mg/L e ≤ 100 mg/L	Prejudicial para crustáceos
Peixes	
Intervalo de valores de EC50 (96 horas)	Classificação
≤ 1 mg/L	Muito tóxico para peixes
> 1 mg/L e ≤ 10 mg/L	Tóxico para peixes
> 10 mg/L e ≤ 100 mg/L	Prejudicial para peixes
Algas e plantas aquáticas	
Intervalo de valores de EC50 (72 ou 96 horas)	Classificação
≤ 1 mg/L	Muito tóxico para algas ou plantas aquáticas
> 1 mg/L e ≤ 10 mg/L	Tóxico para algas ou plantas aquáticas
> 10 mg/L e ≤ 100 mg/L	Prejudicial para algas ou plantas aquáticas

Apesar dos dados e estudos mais abundantes retratarem o comportamento dos xenobióticos no ambiente quanto à toxicidade aguda, é essencial prever qual o efeito que as substâncias apresentam em exposições a longo prazo – toxicidade crónica – tendo em conta sobretudo as baixas concentrações de fármacos no meio ambiente (209).

5.2 Toxicidade crónica

Para avaliar a toxicidade crónica dos xenobióticos, os valores NOEC (*No Observed Effect Concentration*, isto é, concentração máxima sem efeito observável) ou o LOEC (*Lowest Observed Effect Concentration*, isto é, concentração mínima com efeito observável) são parâmetros utilizados com frequência (210).

Os valores de NOEC para diclofenac, ibuprofeno e naproxeno foram obtidos num estudo ecotoxicológico tanto para *Daphnia magna*, 45 mg/L, 75 mg/L e 32 mg/L, respetivamente, e para a alga verde *Scenedesmus subspicatus*, 50 mg/L, 32 mg/L e 100 mg/L, respetivamente (60).

Os valores de NOEC ou LOEC também podem ser determinados consoante o efeito em vários estadios de desenvolvimento ou crescimento do organismo. No estudo de Lee, J. *et al* em 2011 (206), foi aferida a sobrevivência sob o efeito de concentrações crescentes de DCF em *Daphnia magna*, *Moina macrocopa* e *Oryzias latipes*. O número de descendentes por fêmea diminuiu significativamente a 25 mg/L (NOEC = 8,3 mg/L) com o aumento da concentração de DCF. De salientar que o NOEC obtido para a reprodução de *D. magna* é, em várias ordens de magnitude, superior às concentrações detetadas no ambiente aquático.

A avaliação do risco pode também recorrer a biomarcadores para quantificar a exposição. Um biomarcador consiste em qualquer substância, estrutura ou processo, que pode ser identificada e quantificada no organismo para avaliar a exposição, prever o efeito ou patologia ou identificar indivíduos sensíveis geneticamente suscetíveis.

Em 2008 foi executado um estudo de toxicidade crónica em *D. magna* com avaliação da modulação da proteína de choque térmico 70 - marcador bioquímico da proteotoxicidade (135). O termo proteotoxicidade descreve erros na síntese proteica, como erros de tóxicos ou não tóxicos de *misfolding* de proteínas (211,212). A modulação desta proteína ocorreu a partir de concentrações de 40 mg/L de diclofenac. Para avaliar a citotoxicidade e a genotoxicidade do diclofenac, ibuprofeno e paracetamol em 2009 foi realizado um estudo *in vitro* em hemócitos de mexilhão zebra *Dreissena polymorpha* expostos durante 1 hora a diferentes concentrações de DCF (60, 156 e 250 µg/L), IBP (45, 450, 909 µg/L) e PCM (30, 150, 450 µg/L). De realçar que todas as concentrações referidas são muito superiores à PEC (*Predicted Environmental Concentration*, ou concentração ambiental prevista) de cada fármaco DCF - 1,43 µg/L IBP - 5,76 µg/L e PCM - 10,38 µg/L (59). Os efeitos citotóxicos foram notados a partir de uma concentração de 250 µg/L de DCF, nomeadamente efeitos de destabilização das membranas lisossomais (efeito comum em bivalves sujeitos a stress oxidativo), lesões genéticas primárias (fragmentação do DNA) e danos fixos no DNA (número crescente de células apoptóticas e com necrose). Com este estudo conclui-se que o paracetamol, o

diclofenac e o ibuprofeno apresentam citotoxicidade e genotoxicidade por ordem decrescente, respetivamente.

5.3 Toxicidade dos fármacos após tratamento na ETA

A toxicidade é um fator importante para avaliar a segurança da água para consumo (213). Os fármacos só por si podem revelar toxicidade para organismos aquáticos. A sua biotransformação desempenha um papel importante na regulação do potencial de bioacumulação (203). Os metabolitos e subprodutos de reações de degradação dos fármacos revelam, por vezes, ser mais tóxicos que a molécula original, isto é, que o fármaco (214). Para além dos produtos do metabolismo hepático dos AINE, os processos oxidativos que podem ocorrer durante o tratamento da água nas ETA podem potenciar a toxicidade destes xenobióticos. Estudos farmacocinéticos demonstraram que os fármacos estão maioritariamente presentes no ambiente na forma de metabolitos, mais polares e por vezes, em concentrações superiores ao fármaco original devido aos tratamentos aplicados à água (215).

A cloração de águas, tal como já foi referido, pode gerar produtos que apresentam, só por si, toxicidade e risco para a saúde humana. Adicionalmente, a reação de um fármaco com cloro pode traduzir-se numa reação de potenciação da sua toxicidade (213). Para além da cloração, existem mais processos do tratamento de águas que, devido à elevada capacidade de oxidação, podem interferir com a toxicidade dos compostos, como a utilização de radiação UV ou ozonização.

5.3.1 Ibuprofeno

A toxicidade do ibuprofeno, mesmo a concentrações mínimas, mostra provocar efeitos adversos em diferentes organismos. O ibuprofeno já demonstrou causar desregulação endócrina em *Mytilus galloprovincialis* em concentrações baixas (250 ng/L) (216). Assim como a suprarregulação de genes envolvidos no desenvolvimento esquelético, respiração aeróbica e no sistema imunitário em *Menidia beryllina* (157).

Para a remoção dos contaminantes ambientais vários processos têm sido alvo de estudos devido à emergente preocupação da contaminação aquática. Os processos de filtração, adsorção e coagulação-floculação aplicados na ETA têm demonstrado ser eficientes (217).

Na última década o interesse sobre os Processos Oxidativos Avançados (POA), dentro dos quais a oxidação fotolítica, tem recebido especial atenção, principalmente quando usada em combinação com energia solar (218,219). A degradação fotolítica e fotocatalítica são

processos que têm revelado ser uma boa opção para implementação em ETA ao utilizarem tecnologias limpas e apresentar vantagens económicas (220). Em 2007 foi desenvolvido um estudo de degradação fotocatalítica de AINE com utilização de dióxido de titânio e radiação solar (220). Neste estudo avaliaram o comportamento fotocatalítico do diclofenac, ibuprofeno e naproxeno. A degradação do ibuprofeno atingiu o seu máximo a uma concentração de TiO_2 de 1g/L. Já os restantes fármacos, o diclofenac e o naproxeno, demonstraram atingir degradação máxima a uma concentração de 0,1g/L. Durante o estudo foram detetados metabolitos intermediários para as 3 substâncias ativas sendo que os metabolitos hidroxilo do IBP revelaram ser os mais relevantes durante o tratamento fotocatalítico (Figura 20). Para avaliar a toxicidade dos metabolitos hidroxilados do IBP foi estudada a percentagem de inibição de bioluminescência de *Vibrio fischeri* que atingiu um máximo de inibição aos 120 minutos de reação atingindo 92% de inibição da bactéria (220).

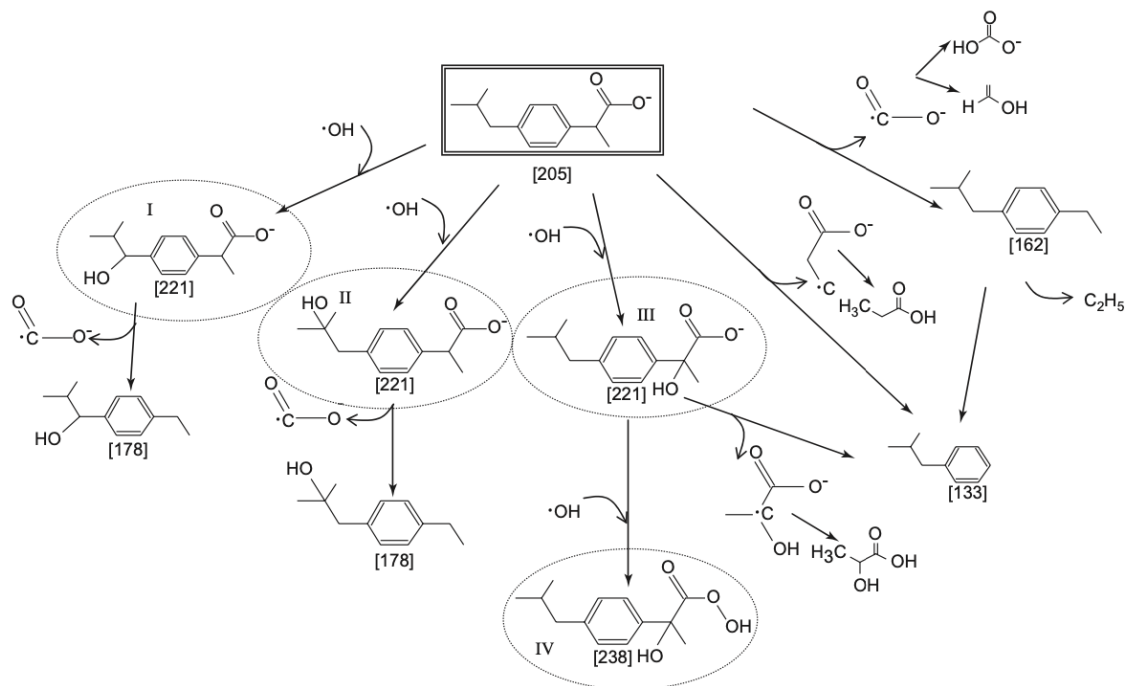


Figura 19: Subprodutos resultantes da fotocatalise do ibuprofeno (220)

Num estudo de 2014, foi estimado o efeito da ozonização como agente de remoção de poluentes de águas contaminadas com ibuprofeno. A oxidação do IBP via ozonização demonstrou formar subprodutos mais tóxicos para *Selenastrum capricornium* do que IBP (221).

O processo combinado de utilização de radiação UV e cloração para remoção de xenobióticos pelos POA, demonstrou, apesar da formação de vários subprodutos, toxicidade ligeiramente inferior à obtida com o processo de cloração do IBP isoladamente (222).

5.3.2 Diclofenac

A toxicidade do diclofenac, mesmo a concentrações mínimas, mostra provocar efeitos adversos em diferentes organismos (223–225). Um exemplo anteriormente referido é a lesão renal provocada nos abutres no Paquistão e na Índia. Os metabolitos hidroxilados do diclofenac também já foram identificados como causa de hepatotoxicidade em linhas celulares de ratos e humanos (223,226).

A biotransformação do diclofenac altera o perfil de bioacumulação e toxicidade dos fármacos. A metilação dos compostos farmacêuticos pode torná-los mais hidrofóbicos e por isso, com mais propensão a acumularem-se nos fungos, bactérias e plantas. O diclofenac pode sofrer reações de biotransformação como metilação, hidroxilação, desidratação e conjugação com taurina, glutatona, sulfato-glucose e ácido glucorónico (86).

Um estudo de 2020, avaliou o impacto da biotransformação do diclofenac no potencial de bioacumulação e na toxicidade em 2 espécies de invertebrados: *Gammarus pulex* e *Hyaella azteca*. Este estudo demonstrou que a biotransformação do diclofenac num metabolito metilado levou à diminuição de LC₅₀ de *H. azteca* de 216 mg/L para 0,53 mg/L, representando um aumento na toxicidade aguda de 430 vezes em comparação com o diclofenac (227).

O diclofenac é uma substância ativa fotossensível. Geralmente, estão envolvidas duas vias fotolíticas na fotodegradação em ambiente aquático: a fotólise direta por absorção direta de luz solar ou, a fotólise indireta, que ocorre na presença de espécies altamente oxidantes (radicais hidroxilo e singuleto de oxigénio).

Salgado *et al.*, 2013, demonstraram que os produtos da transformação do DCF resultantes da irradiação podem apresentar maior persistência (228). Num estudo de 2007 foi avaliada a fitotoxicidade do diclofenac como contaminante aquático, exposto à luz solar. Os resultados deste estudo apontam que a reprodução de *Scenedesmus vacuolatus* atinge o máximo de inibição (93%) depois de 53 horas de exposição solar. Os produtos de fototransformação do diclofenac mostraram um aumento de toxicidade 5 a 6 vezes quando comparado com o composto original (229).

A degradação fotolítica e fotocatalítica com radiação UV do diclofenac demonstram ser eficazes, contudo também levam à formação de produtos de degradação tóxicos. A utilização apenas de radiação UV, i.e. sem atividade catalítica, demonstrou gerar maior compostos mais tóxicos do que a degradação fotocatalítica combinada (219).

A cloração é, tal como anteriormente referido, um dos métodos mais utilizados para desinfecção e tratamento de águas nas ETA. O risco associado à utilização do cloro como desinfetante é que, em vez de auxiliar na mineralização do contaminante, potencie a sua degradação em subprodutos clorados mais tóxicos (Figura 21) (230).

Num estudo de 2020, foi avaliada a toxicidade dos subprodutos de diclofenac sujeitos a cloração em *Vibrio fischeri*. Neste estudo, 6 dos 9 subprodutos identificados não influenciaram significativamente a bioluminescência do microrganismo com uma toxicidade residual de 0 a 16%. No entanto, os 3 metabolitos restantes (DP1, DP4 e DP5) inibiram a luminescência da bactéria entre 56% e 91%. Neste mesmo estudo foi avaliada também a influência dos subprodutos do diclofenac em *Raphidocelis subcapitata* e em *Daphnia magna* e foi demonstrado que os metabolitos DP1 e DP5 apresentam maior toxicidade do que DCF, na mesma concentração (231).

Em 2014, Wang *et al.*, conclui igualmente que a degradação do DCF por ClO_2 leva à formação de metabolitos mais tóxicos do que o composto original. A desinfecção de água micropoluída através da cloração mostra ser desaconselhada por potenciar a toxicidade dos xenobióticos (213).

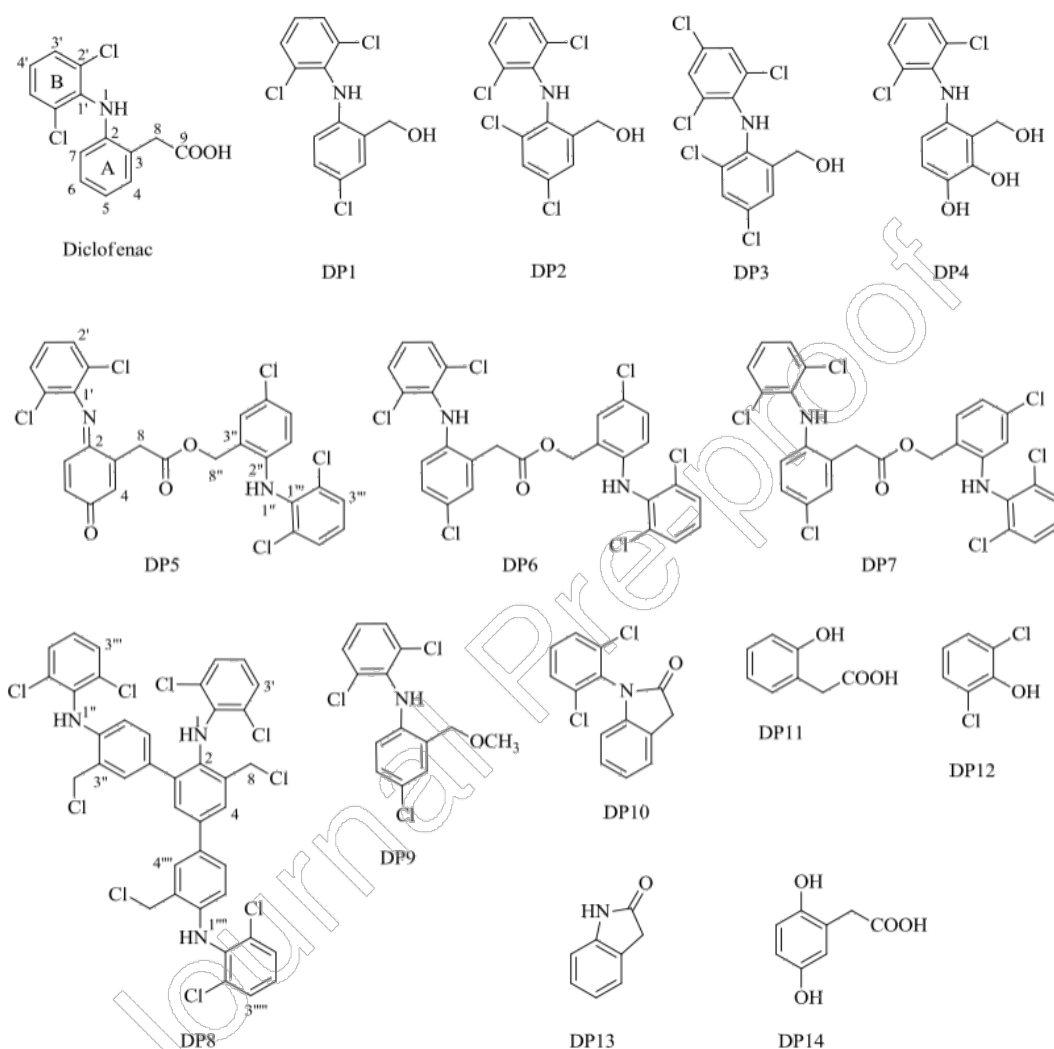


Figura 20: Subprodutos da cloração do diclofenac (231)

A ozonização também promove a formação de subprodutos do diclofenac como sugerido pelo mecanismo da Figura 22. No estudo Coelho, *et al.*, 2009, a ozonização demonstrou ser um bom método de remoção de DCF (> 99%) numa reação de 30 minutos. Apesar da formação de subprodutos de DCF a toxicidade aparentou diminuir ligeiramente após ozonização (232). Outro estudo de 2019, mostrou que a embriotoxicidade do diclofenac e dos metabolitos da degradação em *Danio rerio* manifesta-se em edema pericardial e redução da frequência cardíaca. A associação entre a inibição das COX e a necessidade de prostaglandinas para o correto desenvolvimento do coração já foi demonstrada (233). Após 1 minuto de ozonização, a toxicidade do diclofenac não ozonizado diminuiu de 81% para o nível do grupo de controlo (227).

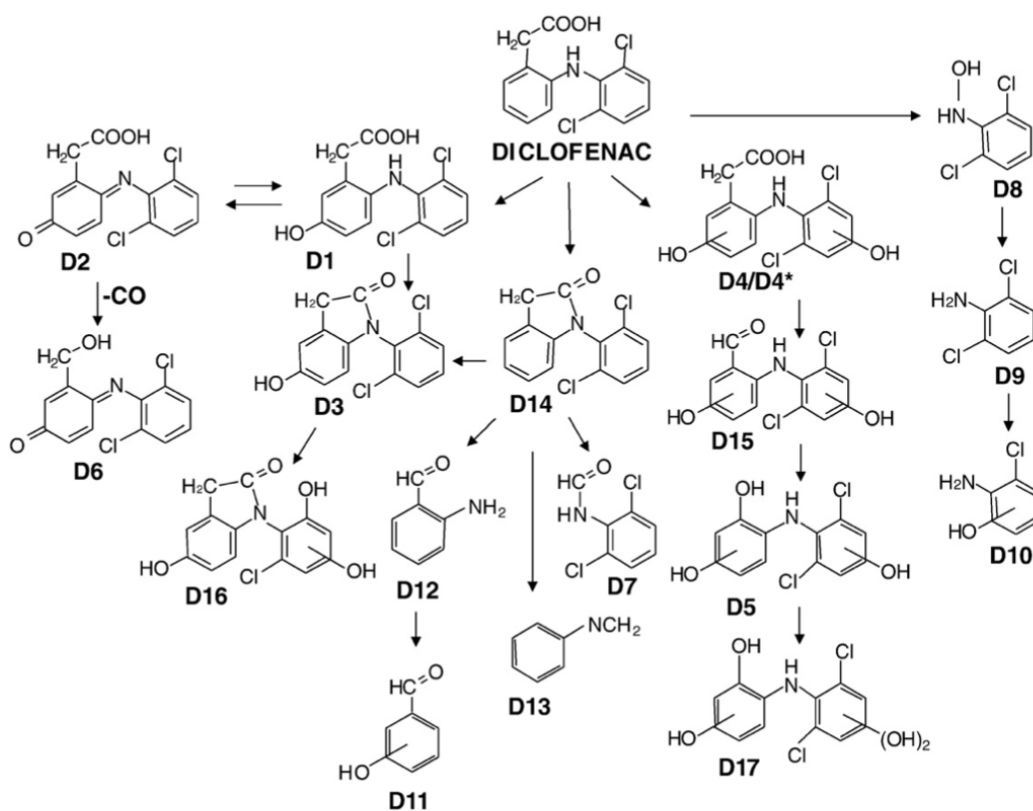


Figura 21: Subprodutos da ozonização do diclofenac (232)

5.3.3 Naproxeno

O naproxeno apresenta efeitos adversos em organismos aquáticos, mesmo em concentrações residuais (168,229,234,235). Este fármaco pode bioacumular-se na bÍlis dos peixes e mostrou provocar disrupção tiróidea e inibição do crescimento em peixes-zebra (107). O NPX também demonstrou ser responsável por distúrbios gastrointestinais, lesões renais e hepatotoxicidade em peixes-zebra (236).

O naproxeno é uma molécula que apresenta fotossensibilidade e, por este motivo, já foram desenvolvidos vários estudos para compreender os efeitos de radiação no composto.

Isidoro *et al.* 2005 realizou um estudo relativo aos produtos de fototransformação do naproxeno e a sua ecotoxicidade. Os fotoprodutos obtidos da irradiação solar mostraram ser entre 7 a 16 vezes mais tóxicos em ensaios agudos e crónicos para algas, rotíferos e microcrustáceos (*Brachionus calyciflorus*, *Thamnocephalus platyurus* e *Ceriodaphnia dubia*) (235).

Um estudo de 2003, mostrou que os produtos da fototransformação do naproxeno apresentam maior toxicidade para *Daphnia magna* (microcrustáceo) e *Vibrio fischeri* (bactéria marinha) do que o naproxeno (237).

A cloragem, processo comumente aplicado em ETA para desinfecção da água, pode agravar questões de toxicidade do naproxeno.

No estudo de 2018, de Erdeng *et al.*, os subprodutos de NPX (Figura 23) resultantes da cloração revelaram um potencial tóxico superior ao fármaco (138).

Em 2019 outro estudo também demonstrou que os subprodutos da cloração do naproxeno apresentam mais toxicidade para *Vibrio fischeri* do que o composto original, demonstrando que existe uma ameaça potencial à segurança do consumo da água tratada em ETA (238).

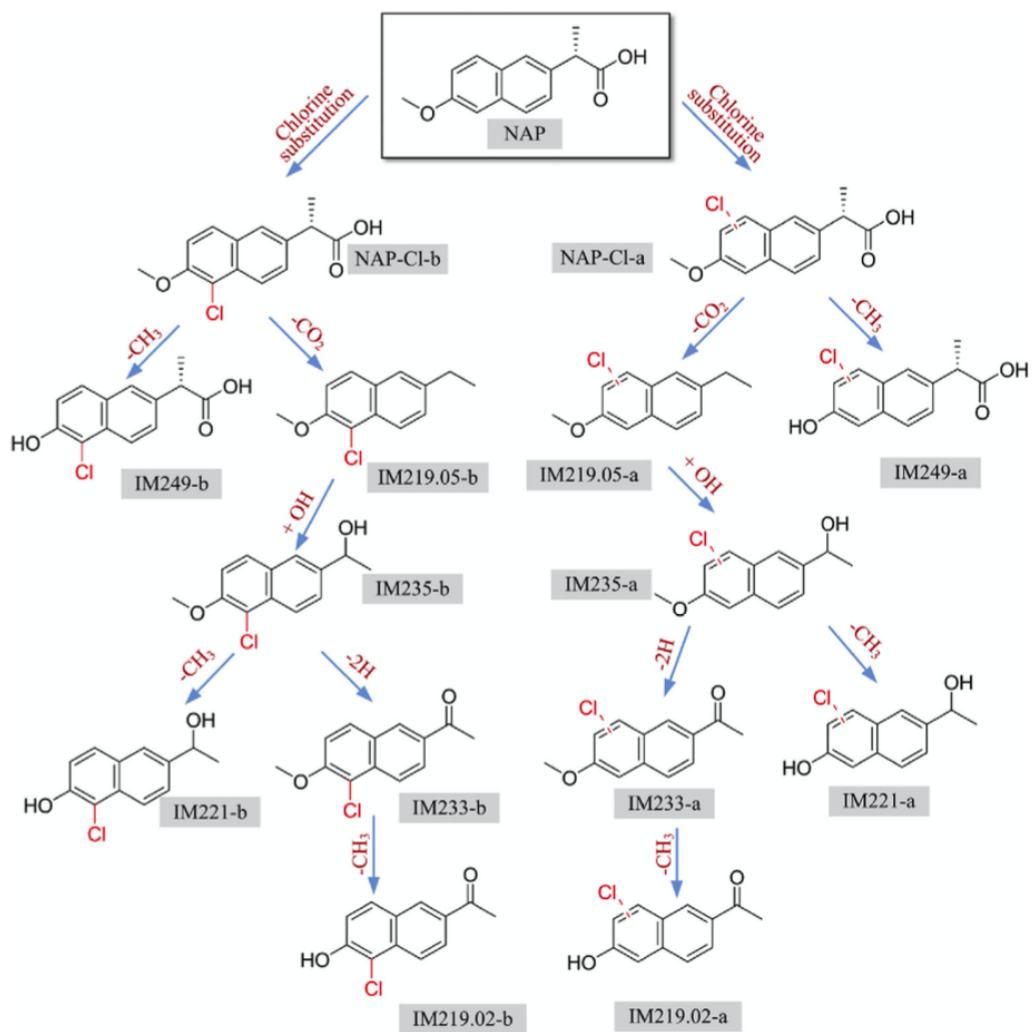


Figura 22: Subprodutos da cloração do naproxeno e mecanismos propostos (178)

5.4 Cálculo das concentrações que não promovem efeitos tóxicos

Todos os dados disponíveis sobre toxicidade em meio aquático devem ser acompanhados de avaliação do perigo e, quando adequado, calcular a PNEC (concentração previsivelmente sem efeitos) para o compartimento aquático como medida de toxicidade para avaliar e caracterizar o risco ambiental.

A PNEC é a concentração de uma substância química em qualquer compartimento abaixo da qual não são expectáveis a ocorrência de efeitos inaceitáveis para o ecossistema aquático e os seus organismos durante uma exposição de curto prazo ou prolongada. Preferencialmente, a PNEC é derivada a partir de dados toxicológicos para organismos com habitat no compartimento em causa e que tenham sido obtidos através de ensaios laboratoriais ou de métodos sem recurso a ensaios. Contudo, na ausência de dados experimentais para organismos de um dado meio, como o solo, o valor PNEC pode ser calculado com base em resultados de ensaios com organismos aquáticos (239).

O PNEC para cada composto pode ser calculado tanto para avaliar a toxicidade aguda (Equação 7) como crónica (Equação 8) com base nos parâmetros de descrição da dose toxicológica respetivos divididos por um fator de segurança (AF). Os parâmetros mais utilizados são o LC50 (concentração letal média) ou EC50, o LOEC ou o NOEC para toxicidade a curto prazo e prolongada, respetivamente.

O AF representa o grau de incerteza associado à extrapolação de informação obtida em laboratório para um determinado número de espécies, para condições ambientais reais que incluam a variabilidade inter-espécies (que englobe diferentes níveis tróficos) e a variabilidade intra-espécies para evitar a extrapolação de dados (240).

$$PNEC_{aguda} = \frac{EC50 \text{ ou } LC50}{AF} \quad (7)$$

$$PNEC_{crónica} = \frac{NOEC \text{ ou } LOEC}{AF} \quad (8)$$

Devido à escassez de dados ecotoxicológicos para compostos farmacêuticos e aos riscos de contaminação serem desconhecidos, o cálculo da concentração previsivelmente sem efeitos foi efetuado através do programa ECOSAR (*Ecological Structure Activity Relationships*) da EPA (*United States Environmental Protection Agency*) (74). Este programa permite determinar a Relação Estrutura Atividade (SAR) de um composto com base na semelhança da estrutura química de outra substância cuja toxicidade aquática tenha sido previamente avaliada. Recorrendo às equações (3) e (4), aos valores de LC50 e EC50 disponíveis no ECOSAR para 3 níveis tróficos diferentes (peixe, *Daphnia* spp. e alga verde) e

valores de NOEC, foi possível calcular os valores de PNEC para exposições agudas e crónicas, respetivamente.

A Tabela 10 apresenta os resultados dos PNEC para os 3 anti-inflamatórios selecionados, para os 3 níveis tróficos diferentes e para exposições agudas de 48 e 96 horas e exposições crónicas. O cálculo foi efetuado com recurso ao ECOSAR para obter valores de EC50/LC50 e valores quanto à exposição crónica. O fator de segurança para os dados de exposição aguda utilizado foi o fator de 1000 por haver pelo menos um valor de EC50/LC50, estimado em ECOSAR, para os 3 níveis tróficos diferentes (alga, invertebrado e peixe). Para os dados de exposição crónica utilizou-se o fator de 10 por haver dados que representem 3 níveis tróficos (241).

Tabela 10: Cálculo do PNEC para exposições agudas e crónicas ao diclofenac, ibuprofeno e naproxeno em três níveis tróficos

Composto	PNEC ($\mu\text{g/L}$)					
	Alga verde		<i>Daphnia</i> spp.		Peixe	
	Aguda	Crónica	Aguda	Crónica	Aguda	Crónica
Diclofenac	41,4 ^{a,c}	1640,0 ^{b,d}	25,8 ^{a,d}	422,0 ^{b,d}	37,7 ^{a,d}	458,0 ^{b,d}
Ibuprofeno	41,1 ^{a,c}	1560,0 ^{b,d}	27,8 ^{a,d}	431,0 ^{b,d}	41,6 ^{a,d}	494,0 ^{b,d}
Naproxeno	138,0 ^{a,c}	1640,0 ^{b,d}	122,0 ^{a,d}	1570,0 ^{b,d}	193,0 ^{a,d}	458,0 ^{b,d}

^a AF = 1000 (241)

^b AF = 10 (241)(242)

^c Valor de EC50 estimado com ECOSAR

^d Valor de NOEC estimado com ECOSAR

^e Valor de LC50 estimado com ECOSAR

6 Avaliação do Risco Ambiental

Os medicamentos e produtos farmacêuticos são normalmente abrangidos, tal como já referido, por processos regulatórios rigorosos, são submetidos a estudos pré-clínicos e clínicos exigentes para avaliar o seu perfil de eficácia, qualidade e segurança, antes da comercialização. A avaliação escrutinada das substâncias ativas determina as margens de segurança relacionadas com o consumo humano e têm em conta a relação benefício-risco. Desta forma, os produtos farmacêuticos apresentam, geralmente, uma caracterização mais aprofundada quando comparados com outros contaminantes ambientais (8).

A avaliação do risco ambiental permite avaliar a probabilidade do impacto resultante de uma exposição a um ou mais fatores prejudiciais, como contaminantes, químicos, doenças ou espécies invasoras (243). Segundo o artigo 8º, da Diretiva 2011/83/CE, de 6 de novembro de 2011, para que um medicamento possua Autorização de Introdução no Mercado, necessita de indicar quaisquer riscos potenciais do medicamento para o ambiente (29).

Numa avaliação do risco avalia-se a exposição ao contaminante, neste caso fármacos, tendo em conta a identificação dos riscos, do destino e do comportamento dos compostos. O quociente do risco (RQ) é uma medida útil para expressar o potencial risco ambiental dos contaminantes nos ecossistemas aquáticos.

Segundo a guideline da EMA (*European Medicines Agency*), este quociente é calculado como a razão entre a Concentração Ambiental Previsível (PEC) e a PNEC, no entanto, outros autores utilizam Concentrações Medidas no Ambiente (MEC) em vez de PEC para avaliar os riscos que um contaminante pode provocar num local específico (Equação 9) (244,245). Se o quociente do risco for igual ou superior a 1, considera-se que há um risco ambiental elevado. Se RQ for inferior a 1 e superior a 0,1 considera-se um risco médio e se RQ estiver entre 0,1 e 0,01 o risco é baixo (246,247).

$$RQ = \frac{PEC \text{ ou } MEC}{PNEC} \quad (9)$$

Para calcular o RQ considerou-se MEC como a concentração máxima obtida para cada um dos três compostos nos dados de ocorrência de efluentes de ETAR, águas de superfície e águas para consumo (águas após tratamento na ETA), (Tabelas 6, 7 e 8), estimando assim o pior cenário possível. Os valores de PNEC utilizados para cálculo do RQ são os apresentados na Tabela 10 para os 3 fármacos, 3 níveis tróficos e para exposição aguda e crónica.

6.1 Diclofenac

O cálculo dos quocientes do risco (Tabela 11) teve em conta a MEC dos efluentes de ETAR (2,4 µg/L), das águas superficiais (1,55 µg/L) e das águas de consumo humano (0,007 µg/L). Considerando os valores de PNEC para a exposição aguda e crónica nos três organismos, o RQ máximo do diclofenac revelou ser 0,09302 para efluentes de ETAR e exposição aguda de *Daphnia* spp. .

Tabela 11: Quociente do risco para o diclofenac para exposições agudas e crónicas em três níveis tróficos

Quociente do Risco (RQ)			
Organismos	Efluentes de ETAR	Águas de superfície	Águas para consumo
Exposição aguda			
Alga verde	0,05797	0,03744	0,000169
<i>Daphnia</i> spp.	0,09302	0,06008	0,000271
Peixe	0,06366	0,04111	0,000186
Exposição crónica			
Alga verde	0,00146	0,00095	0,00000427
<i>Daphnia</i> spp.	0,00569	0,00367	0,0000166
Peixe	0,00524	0,00338	0,0000153

Conclui-se que o diclofenac apresenta RQ superiores para *Daphnia* spp. em exposições agudas, especialmente em água com maiores MEC, como os efluentes de ETAR e águas de superfície, contudo o risco ambiental é sempre baixo.

6.2 Ibuprofeno

Tendo em conta os elevados valores das MEC para efluentes de ETAR (28 µg/L), para as águas superficiais (45,875 µg/L) e para águas para consumo humano (0,012 µg/L), resultantes do elevado consumo e eliminação no ecossistema aquático, os quocientes do

risco deste fármaco demonstram ser mais elevados. Na Tabela 12 estão representados os resultados do cálculo dos quocientes do risco para o IBP.

Tabela 12: Quociente do risco para o ibuprofeno para exposições agudas e crónicas em três níveis tróficos

Quociente do Risco (RQ)			
Organismos	Efluentes de ETAR	Águas de superfície	Águas para consumo
Exposição aguda			
Alga verde	0,6813	1,116	0,000292
Daphnia spp.	1,007	1,650	0,0004317
Peixe	0,6731	1,103	0,0002885
Exposição crónica			
Alga verde	0,02941	0,02941	0,000007692
Daphnia spp.	0,06497	0,1064	0,00002784
Peixe	0,05668	0,09286	0,00002429

Depois de analisada a Tabela 12, os dados da exposição aguda demonstraram apresentar resultados mais preocupantes. Para a alga verde e para peixe, o risco varia de médio, para efluentes de ETAR a alto, para águas de superfície. A espécie *Daphnia* apresentou os maiores quocientes do risco e o ibuprofeno é considerado de alto risco ambiental para organismos do género *Daphnia*. Quanto à exposição crónica foi classificado como risco ambiental baixo, sendo o RQ maior para *Daphnia spp.* em águas superficiais. Para águas superficiais o RQ foi sempre superior devido ao elevado valor MEC.

6.3 Naproxeno

Os quocientes do risco para o naproxeno foram calculados utilizando os valores de referência de MEC: 7,962 µg/L para os efluentes de ETAR, 2,6 µg/L para as águas superficiais e 0,026 µg/L para águas de consumo humano. Na Tabela 13 estão representados os quocientes do risco para o NPX em três níveis tróficos e para exposições agudas e crónicas.

Tabela 13: Quociente do risco para o naproxeno para exposições agudas e crónicas em três níveis tróficos

Quociente de Risco (RQ)			
Organismos	Efluentes de ETAR	Águas de superfície	Águas para consumo
Exposição aguda			
Alga verde	0,05770	0,01884	0,0001884
<i>Daphnia spp.</i>	0,06526	0,02131	0,0002131
Peixe	0,04125	0,01347	0,0001347
Exposição crónica			
Alga verde	0,004855	0,001585	0,00001585
<i>Daphnia spp.</i>	0,005071	0,001656	0,00001656
Peixe	0,01738	0,005677	0,00005677

O NPX demonstra ser um fármaco com risco ambiental reduzido. Os valores de RQ mais elevados referem-se à exposição aguda em efluentes de ETAR e os mais reduzidos para a exposição crónica em águas superficiais e água tratada na ETA, tal como apresentado na Tabela 13.

Conclui-se que o ibuprofeno, segundo os resultados do cálculo dos quocientes do risco, é o fármaco que apresenta maior risco ambiental em exposição aguda e em águas superficiais, seguido do diclofenac e do naproxeno. Com estes resultados é possível associar o risco ambiental com o nível de deteção nos diferentes sistemas aquáticos.

O NPX é o fármaco que apresenta valores MEC mais diminuídos e menores taxas de consumo. no entanto, não é possível considerar que este fármaco não apresenta risco ambiental. Adicionalmente, com esta avaliação do quociente do risco é possível concluir que a água tratada na ETA apresenta menor contaminação e, conseqüentemente, menor risco ambiental, contudo, como se trata de água para consumo também seria importante avaliar o risco para a saúde humana.

A avaliação do risco para a saúde humana ainda é escassa, mas torna-se cada vez mais importante compreender os efeitos que a contaminação ambiental pode provocar na saúde humana.

Em 2014, *de Jesus Gaffney et al.* estudou a ocorrência de fármacos na rede de abastecimento de Lisboa e efetuou uma avaliação do risco para a saúde humana. Neste estudo os quocientes do risco obtidos para os 16 fármacos variaram na ordem dos $10E-2$ a $10E-8$, concluindo que, segundo a análise destes resultados, o risco para a saúde humana é relativamente baixo (19). No entanto, atualmente ainda existem várias lacunas que podem influenciar a caracterização do risco, nomeadamente, a identificação dos produtos de transformação dos xenobióticos que podem ser formados durante os processos de tratamento utilizados nas ETA e ETAR e os potenciais efeitos adversos derivados da exposição aos AINE e aos seus metabolitos e produtos de transformação.

7 Conclusão

Os anti-inflamatórios não esteroides são uma classe de fármacos com várias indicações terapêuticas, amplamente consumida, resultando numa preocupação emergente para a contaminação aquática. Estes xenobióticos, mesmo em concentrações vestigiais, são caracterizados pelo seu potencial tóxico, quer em exposições agudas como em exposições crónicas. A degradação dos compostos por microrganismos, outros contaminantes ou atividade antropogénica influenciam o seu perfil tóxico. Os processos de tratamento da água em estações de tratamento de água demonstraram potenciar a toxicidade do diclofenac, ibuprofeno e naproxeno, com a formação de subprodutos mais tóxicos, nomeadamente, os processos oxidativos de cloração, ozonização e aplicação de radiação ultravioleta.

A ocorrência de fármacos no ambiente e os riscos associados à contaminação aquática não podem ser ignorados. No futuro, a implementação de novas políticas de gestão de resíduos de medicamentos e produtos farmacêuticos, financiamento de projetos ambientais de monitorização dos níveis de contaminação aquática com fármacos e a promoção do uso racional do medicamento em farmácias para combater a sua eliminação incorreta, podem ser medidas benéficas para a sustentabilidade e redução do impacto ecológico e na saúde humana.

8 Bibliografia

1. World Population Growth - Our World in Data. [cited 2021 Jul 31]; Available from: <https://ourworldindata.org/world-population-growth>
2. Global Health - Our World in Data. [cited 2021 Jul 31]; Available from: <https://ourworldindata.org/health-meta>
3. Ministério da Saúde. Retrato da Saúde 2018. 2018. 1–6 p.
4. Infarmed. Estatística do Medicamento e Produtos de Saúde 2019. [cited 2021 Mar 22]; Available from: <https://www.infarmed.pt/documents/15786/1229727/Estatística+do+Medicamento+2019/b2e448a8-dc71-c2e8-a93a-f0cbef7ad6eb?version=1.0>
5. Farré M, Ferrer I, Ginebreda A, Figueras M, Olivella L, Tirapu L, et al. Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography–mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. *J Chromatogr A*. 2001 Dec 14;938(1–2):187–97.
6. Zrnčić M, Gros M, Babić S, Kaštelan-Macan M, Barcelo D, Petrović M. Analysis of anthelmintics in surface water by ultra high performance liquid chromatography coupled to quadrupole linear ion trap tandem mass spectrometry. *Chemosphere*. 2014;99:224–32.
7. Daughton CG. Pharmaceuticals as environmental pollutants: The ramifications for human exposure. *Int Encycl Public Heal*. 2008;(2001):66–102.
8. World Health Organization (WHO). Pharmaceuticals in drinking water: Local analysis of the problem and finding a solution through awareness. *Public Heal Environ Water, Sanit Hyg Heal*. 2011;
9. aus der Beek T, Weber F, Bergmann A, Hickmann S, Ebert I, Hein A, et al. Pharmaceuticals in the environment--Global occurrences and perspectives. *Environ Toxicol Chem*. 2016 Apr 1;35(4):823–35.
10. Kümmerer K. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review. *Chemosphere*. 2001 Nov 1;45(6–7):957–69.
11. Jones O, Voulvoulis N, Lester J. Human pharmaceuticals in the aquatic environment a review. *Environ Technol*. 2001 Dec;22(12):1383–94.
12. Verlicchi P, Al Aukidy M, Galletti A, Petrovic M, Barceló D. Hospital effluent: Investigation of the concentrations and distribution of pharmaceuticals and environmental risk assessment. *Sci Total Environ*. 2012 Jul 15;430:109–18.
13. Halling-Sørensen B, Nors Nielsen S, Lanzky PF, Ingerslev F, Holten Lützhøft HC,

- Jørgensen SE. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. *Chemosphere*. 1998 Jan 1;36(2):357–93.
14. OECD. *Pharmaceutical Residues in Freshwater* . OECD; 2019 [cited 2021 Jul 31]. (OECD Studies on Water). Available from: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/pharmaceutical-residues-in-freshwater_c936f42d-en
 15. Santos LHMLM, Araújo AN, Fachini A, Pena A, Delerue-Matos C, Montenegro MCBSM. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *J Hazard Mater*. 2010;175(1–3):45–95.
 16. López-Serna R, Jurado A, Vázquez-Suñé E, Carrera J, Petrović M, Barceló D. Occurrence of 95 pharmaceuticals and transformation products in urban groundwaters underlying the metropolis of Barcelona, Spain. *Environ Pollut*. 2013;174:305–15.
 17. Mompelat S, Le Bot B, Thomas O. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environ Int*. 2009;35(5):803–14.
 18. Beek T aus der, Weber F-A, Bergmann A. *Pharmaceuticals in the environment: Global occurrence and potential cooperative action under the Strategic Approach to International Chemicals Management (SAICM)*. Ger Environ Agency . 2016; Available from: <https://www.infodesign.org.br/infodesign/article/view/355%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/731%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/269%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/106>
 19. de Jesus Gaffney V, Almeida CMM, Rodrigues A, Ferreira E, Benoliel MJ, Cardoso VV. Occurrence of pharmaceuticals in a water supply system and related human health risk assessment. *Water Res*. 2015;72:199–208.
 20. Ministério da Saúde. Decreto-Lei nº 176/2006, de 30 de agosto. *Diário da República 1ª série* . 2006;6297–303. Available from: <https://dre.pt/application/conteudo/540387>
 21. Ministério da Saúde. Decreto-Lei n.º 46/2012, de 24 de fevereiro. *Diário da República 1ª série*. 2012;
 22. Food and Drug Administration. *The Drug Development Process - Step 1: Discovery and Development*. 2018.
 23. Branco E, Duarte C, Sanches M, Vaz F. *Ensaio Clínicos – Por um Maior Envolvimento do Cidadão* . Associação Alzheimer Portugal. 2019 [cited 2021 Aug 1]. Available from: <https://alzheimerportugal.org/pt/text-0-9-114-414-ensaios-clinicos-por-um-maior-envolvimento-do-cidadao>
 24. Food and Drug Administration. *The Drug Development Process - Step 2: Preclinical Research*. 2018 [cited 2021 Aug 1]; Available from: <https://www.fda.gov/patients/drug-development-process/step-2-preclinical-research>
 25. Food and Drug Administration. *The Drug Development Process - Step 3: Clinical*

- Research | FDA. 2018 [cited 2021 Aug 1]; Available from: <https://www.fda.gov/patients/drug-development-process/step-3-clinical-research>
26. Interacional Fibrodysplasua Ossificans Progressiva Association. Clinical Trial Phases. [cited 2021 Aug 1]; Available from: https://www.ifopa.org/clinical_trial_phases
 27. Direção de Avaliação do Medicamento Infarmed. Ensaios Clínicos Documentação e Boas Práticas Regulamentares. 2017;
 28. Ponciano F. Preparação do processo de Autorização de Introdução no Mercado-A influência dos Assuntos Regulamentares do desenvolvimento até à submissão. Ordem dos Farm.
 29. Directiva - 2001/83/CE. Directiva 2001/83/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 6 de Novembro de 2001. J Of das Comunidades Eur. 2001;(6):67–128.
 30. INFARMED. Procedimentos de AIM - INFARMED, I.P. 2018 [cited 2021 Aug 1]; Available from: https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/procedimentos_de_aim
 31. INFARMED. Avaliação terapêutica e económica. 2018 [cited 2021 Aug 1]; Available from: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/avaliacao-tecnologias-saude/avaliacao-terapeutica-e-economica>
 32. Ministério da Economia. Decreto-Lei n.º73/2015. Diário da República. 2015;1ª série(n.º 90):2337–412.
 33. INFARMED. Fabricantes. [cited 2021 Aug 1]; Available from: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/licenciamentos/fabricantes>
 34. Ministério da Saúde. Deliberação nº 047/CD/2015. Diário da República . 2015;1–30. Available from: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/11048532.PDF/4bde6495-b33d-4311-8302-784be4a65971>
 35. Comissão Europeia. Directiva 2003/94/CE, de 8 de Outubro de 2003. J Of da União Eur. 2003;L 262(14.10.2003):22–6.
 36. Ministério da Saúde. Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de Agosto. Diário da República. 2005;1ª Série(156):4763–5.
 37. INFARMED. Deliberação n.º 25/CD/2015, de 18 de fevereiro. Regulam dos Medicam não sujeitos a receita médica Dispens Exclus em farmácia . 2015;5. Available from: http://www.infarmed.pt/documents/15786/1219386/025_CD_2015.pdf/13f98d9f-8683-4585-9790-98413515908d
 38. INFARMED. Normas relativas à prescrição de medicamentos e produtos de saúde. 2019;1–23. Available from: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/PRESCRICAO_DISPENSA_E_UTILIZACAO/Normas_prescricao.pdf

39. INFARMED. Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde. Ministério da Saúde . 2019;3:1–23. Available from: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/PRESCRICAO_DISPENSA_E_UTILIZACAO/Normas_prescricao.pdf
40. Ministério da Saúde. Decreto-Lei n.º 8/2019 de 15 de janeiro. Diário da República . 2019;1ª série(10):184–91. Available from: <https://dre.pt/application/conteudo/117821810>
41. Ministério da Saúde. Portaria n.º 76/2018, de 14 de março. Diário da República, 1ª série. 2018;52:1284–5.
42. INFARMED. Monitorização do mercado. 2018 . [cited 2021 Aug 1]; Available from: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/monitorizacao-mercado>
43. Milmo S. Pharmaceuticals in the environment. Pharm Technol. 2018;42(8):1–2.
44. United States Environmental Protection Agency (EPA). White Paper Aquatic Life Criteria for Contaminants of Emerging Concern. 2008 [cited 2021 Sep 2]; Available from: https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-08/documents/white_paper_aquatic_life_criteria_for_contaminants_of_emerging_concern_part_i_general_challenges_and_recommendations_1.pdf
45. European Medicines Agency (EMA). Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use. Comm Med Prod Hum Use . 2018 [cited 2021 Sep 1]; Available from: www.ema.europa.eu/contact
46. Daughton CG, Ternes TA. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? Environ Health Perspect. 1999;107(SUPPL. 6):907–38.
47. Centro de Informação do Medicamento - INFARMED. Ficha Técnica do Centro de Informação do Medicamento: Anti-inflamatórios Não Esteróides Não Sujeitos a Receita Médica. 2015;2–3.
48. Gilman AG. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 13th ed. Brunton, Laurence L., Hilal-Dandan, Randa, Knollmann BC, editor. 2018.
49. Gan T. Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile. Curr Med Res Opin . 2010 [cited 2021 May 10];26(7):1715–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20470236/>
50. INFARMED. Lista de DCI - Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de venda Exclusiva em Farmácia (MNSRM-EF). [cited 2021 Aug 1]; Available from: https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/alteracoes_transferencia_titular_aim/lista_dci

51. Mid Essex Clinical Commissioning Group (CCG) NHS. Acute and Chronic Pain Guidelines. Clin Pathways Medicat Guidel . 2019 [cited 2021 May 10]; Available from: <https://me.silvercloudhealth.com/signup>
52. Bjordal J. NSAIDs in osteoarthritis: irreplaceable or troublesome guidelines? Br J Sports Med . 2006 Apr [cited 2021 Aug 10];40(4):285. Available from: </pmc/articles/PMC2577511/>
53. Ghlichloo I, Gerriets V. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs). Treat Chronic Pain Cond A Compr Handb . 2021 May 12 [cited 2021 Jun 15];77–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547742/>
54. Jakobsson J. Musculoskeletal pain: prescription of NSAID and weak opioid by primary health care physicians in Sweden 2004–2008 – a retrospective patient record review. J Pain Res. 2010 Aug;3:131.
55. Green GA. Understanding NSAIDs: From aspirin to COX-2. Clin Cornerstone. 2001;3(5):50–9.
56. Willoughby DA, Moore AR, Colville-Nash PR. COX-1, COX-2, and COX-3 and the future treatment of chronic inflammatory disease. Lancet. 2000;355(9204):646–8.
57. Parolini M. Toxicity of the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) acetylsalicylic acid, paracetamol, diclofenac, ibuprofen and naproxen towards freshwater invertebrates: A review. Sci Total Environ. 2020;740:140043.
58. Chopra S, Kumar D. Ibuprofen as an emerging organic contaminant in environment, distribution and remediation. Heliyon. 2020;6(6):e04087.
59. Parolini M, Binelli A, Cogni D, Riva C, Provini A. An in vitro biomarker approach for the evaluation of the ecotoxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Toxicol Vitr. 2009;23(5):935–42.
60. Cleuvers M. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. Ecotoxicol Environ Saf. 2004;59(3):309–15.
61. MedChemExpress. Ibuprofen ((±)-Ibuprofen) | COX-1/2 Inhibitor. 2019 [cited 2021 Aug 24]; Available from: <https://www.medchemexpress.com/Ibuprofen.html>
62. Hamilton DA, Ernst CC, Kramer WG, Madden D, Lang E, Liao E, et al. Pharmacokinetics of Diclofenac and Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin (HPβCD) Following Administration of Injectable HPβCD-Diclofenac in Subjects With Mild to Moderate Renal Insufficiency or Mild Hepatic Impairment. Clin Pharmacol Drug Dev. 2018 Feb 1;7(2):110.
63. MedChemExpress. Diclofenac | COX Inhibitor. 2019 [cited 2021 Aug 24]; Available from: <https://www.medchemexpress.com/Diclofenac.html>
64. Hayashi Y, Heckmann LH, Callaghan A, Sibly RM. Reproduction recovery of the crustacean *Daphnia magna* after chronic exposure to ibuprofen. Ecotoxicology. 2008;17(4):246–51.

65. Perez-Alzate D, Blanca-López N, Doña I, Somoza ML, Torres MJ, Bogas G, et al. Ibuprofen and Other Arylpropionic Acid Derivatives Can be Responsible for Immediate Selective Responses to Nsaids. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Feb 1;137(2):AB282.
66. Ibuprofen: Uses, Interactions, Mechanism of Action | DrugBank Online. [cited 2021 Apr 25]; Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01050>
67. Mazaleuskaya LL, Theken KN, Gong L, Thorn CF, FitzGerald GA, Altman RB, et al. PharmGKB summary: ibuprofen pathways. *Pharmacogenet Genomics*. 2015 Feb 13;25(2):96.
68. Seabra CIR. Farmacocinética do Ibuprofeno. Universida. 2015.
69. Naproxen: Uses, Interactions, Mechanism of Action | DrugBank Online. [cited 2021 Apr 25]; Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00788>
70. MedChemExpress. Naproxen ((S)-Naproxen) | COX Inhibitor. 2019 [cited 2021 Aug 25]; Available from: <https://www.medchemexpress.com/Naproxen.html>
71. Wongrakpanich S, Wongrakpanich A, Melhado K, Rangaswami J. A Comprehensive Review of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Use in The Elderly. *Aging Dis*. 2018 Feb 1;9(1):143.
72. Mcgettigan P, Henry D. Use of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs That Elevate Cardiovascular Risk: An Examination of Sales and Essential Medicines Lists in Low-, Middle-, and High-Income Countries. [cited 2021 Aug 9]; Available from: <http://www.imshealth.com/portal/site/ims/>
73. Statista. Best selling non-steroidal anti-inflammatory drugs in Italy 2016. 2020 [cited 2021 Apr 16]; Available from: <https://www.statista.com/statistics/789742/best-selling-non-steroidal-anti-inflammatory-drugs-in-italy/>
74. Hans, Sanderson, David J. Johnson, Christian J. Wilson, Richard A. Brain KRS. Probabilistic hazard assessment of environmentally occurring pharmaceuticals toxicity to fish, daphnids and algae by ECOSAR screening. Vol. 144, Universidade de Coimbra. 2003.
75. Infarmed. Novo relatório sobre vendas de MNSRM fora das farmácias - Notícias - Ordem dos Farmacêuticos. 12/04/2021 . 2021 [cited 2021 May 10]; Available from: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/noticias/novo-relatorio-sobre-vendas-de-mnsrm-fora-das-farmacias/>
76. Infarmed. Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) Monitorização de Vendas Fora das Farmácias. 2020.
77. Meek IL, Laar MAFJ van de, Vonkeman HE. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: An Overview of Cardiovascular Risks. *Pharmaceuticals*. 2010;3(7):2146.
78. Hyde CAC, Missailidis S. Inhibition of arachidonic acid metabolism and its implication on cell proliferation and tumour-angiogenesis. *Int Immunopharmacol*. 2009;9(6):701–

- 15.
79. Farooqui AA, Horrocks LA. Signaling and interplay mediated by phospholipases A2, C, and D in LA-N-1 cell nuclei. *Reprod Nutr Dev.* 2005;45(5):613–31.
 80. Tootle TL. Genetic insights into the in vivo functions of prostaglandin signaling. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013;45(8):1629–32.
 81. Morita I. Distinct functions of COX-1 and COX-2. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2002;68–69:165–75.
 82. Peskar B. Role of cyclooxygenase isoforms in gastric mucosal defence. *J Physiol Paris.* 2001;95(1–6):3–9.
 83. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1998;38:97–120.
 84. Ferrández Á, Piazuelo E, Castells A. Aspirin and the prevention of colorectal cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2012;26(2):185–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2012.01.009>
 85. Botting R, Ayoub SS. COX-3 and the mechanism of action of paracetamol/acetaminophen. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids.* 2005;72(2 SPEC. ISS.):85–7.
 86. Fu Q, Fedrizzi D, Kosfeld V, Schlechtriem C, Ganz V, Derrer S, et al. Biotransformation Changes Bioaccumulation and Toxicity of Diclofenac in Aquatic Organisms. *Environ Sci Technol.* 2020;54(7):4400–8.
 87. Evgenidou EN, Konstantinou IK, Lambropoulou DA. Occurrence and removal of transformation products of PPCPs and illicit drugs in wastewaters: A review. *Sci Total Environ.* 2015 Feb 1;505:905–26.
 88. Verlicchi P, Galletti A, Petrovic M, Barceló D, Al Aukidy M, Zambello E. Removal of selected pharmaceuticals from domestic wastewater in an activated sludge system followed by a horizontal subsurface flow bed — Analysis of their respective contributions. *Sci Total Environ.* 2013 Jun 1;454–455:411–25.
 89. Monteiro SC, Boxall ABA. Occurrence and Fate of Human Pharmaceuticals in the Environment. Vol. 202, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology.* 2010. 53–154 p.
 90. Verlicchi P, Galletti A, Petrovic M, Barceló D, Al Aukidy M, Zambello E. Removal of selected pharmaceuticals from domestic wastewater in an activated sludge system followed by a horizontal subsurface flow bed - Analysis of their respective contributions. *Sci Total Environ.* 2013;454–455:411–25.
 91. Diclofenac | C₁₄H₁₁Cl₂NO₂ | ChemSpider. [cited 2021 Apr 25]; Available from: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2925.html?rid=2adea3ce-160a-4fd4-a15e-86df56d810d7>

92. Fonseca AM, Gon C. Modelação Matemática da Farmacocinética do Diclofenac Faculdade de Ciências da Saúde Universidade Fernando Pessoa Porto, 2018. 2018.
93. Bushra R, Aslam N. An overview of clinical pharmacology of ibuprofen. *Oman Med J*. 2010 Jul 1;25(3):155–61.
94. Hall D, Bolinske T, Sinatra E. Naproxen. In: *The Essence of Analgesia and Analgesics*. Cambridge University Press; 2010. p. 221–5.
95. Kosma CI, Lambropoulou DA, Albanis TA. Investigation of PPCPs in wastewater treatment plants in Greece: Occurrence, removal and environmental risk assessment. *Sci Total Environ*. 2014;466–467:421–38.
96. (R)-(-)-Ibuprofen | C₁₃H₁₈O₂ | ChemSpider. [cited 2021 Apr 25]; Available from: http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.102822.html?rid=1bbdda9a-822b-46f7-88ed-b885e3926d31&page_num=0
97. Naproxen | C₁₄H₁₄O₃ | ChemSpider. [cited 2021 Apr 25]; Available from: http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.137720.html?rid=4001d180-6098-466d-969d-7f57d373b362&page_num=0
98. Diclofenac: Uses, Interactions, Mechanism of Action | DrugBank Online. [cited 2021 Apr 25]; Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00586>
99. Goodman Gilman A. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 13th ed. L. Brunton, Laurence; Hilal-Dandan, Randa; C. Knollmann B, editor. 2018. 1423 p.
100. Arnot JA, Arnot MI, Mackay D, Couillard Y, MacDonald D, Bonnell M, et al. Molecular size cutoff criteria for screening bioaccumulation potential: Fact or fiction? *Integr Environ Assess Manag*. 2010 Apr 1;6(2):210–24.
101. Cumming H, Rü C. Octanol–Water Partition Coefficient Measurement by a Simple H-NMR Method. *Am Chem Soc*. 2017;
102. Esteves FA. Lipossomas como Modelos Biomembranas. Correlação entre Coeficientes de Partição (Lipossoma/água e Octanol) e Actividade de Compostos Farmacologicamente Activos. Univ Fernando Pessoa. 2011;
103. Gonçalves P. Contributo para a Tomada de Decisão no Uso Sustentável de Pesticidas em Vinha: Avaliação do Perigo de Pesticidas em Recursos Hídricos do Alentejo Central. Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa; 2008.
104. Mackay D, Arnot JA, Gobas FAPC, Powell DE. Mathematical relationships between metrics of chemical bioaccumulation in fish. *Environ Toxicol Chem*. 2013;32(7):1459–66.
105. T K. Bioconcentration, bioaccumulation, and metabolism of pesticides in aquatic organisms. *Rev Environ Contam Toxicol*. 2010;204:1–132.
106. Brozinski JM, Lahti M, Meierjohann A, Oikari A, Kronberg L. The anti-inflammatory drugs diclofenac, naproxen and ibuprofen are found in the bile of wild fish caught downstream

- of a wastewater treatment plant. *Environ Sci Technol*. 2013;47(1):342–8.
107. Xu C, Niu L, Guo H, Sun X, Chen L, Tu W, et al. Long-term exposure to the non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) naproxen causes thyroid disruption in zebrafish at environmentally relevant concentrations. *Sci Total Environ*. 2019;676:387–95.
 108. EU. Document on Risk Assessment. Tech Guid Doc Ris Assess Part II. 2003;
 109. Schäfer S, Buchmeier G, Claus E, Duester L, Heininger P, Körner A, et al. Bioaccumulation in aquatic systems: methodological approaches, monitoring and assessment. *Environ Sci Eur*. 2015 Jan 27;27(1).
 110. Organização das Nações Unidas. Água - Nações Unidas - ONU Portugal. 2019 [cited 2021 Jun 16]; Available from: <https://unric.org/pt/agua/>
 111. World Health Organization (WHO). Drinking-water. 2019 [cited 2021 Jul 13]; Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>
 112. World Health Organization (WHO). Water | WHO | Regional Office for Africa. 2018 [cited 2021 Jul 13]; Available from: <https://www.afro.who.int/health-topics/water>
 113. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Sistemas Domésticos para Tratamento de Águas. 2013 [cited 2021 Jun 17]; Available from: http://www.insa.min-saude.pt/wp-content/uploads/2017/01/Agua_Final.pdf
 114. World Health Organization (WHO). Drinking-water. 2019 [cited 2021 Jun 5]; Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>
 115. Center for Disease Control and Prevention. Water-related Diseases and Contaminants in Public Water Systems | Public Water Systems | Drinking Water | Healthy Water. *Public Water Syst* . 2014 [cited 2021 Jun 6]; Available from: https://www.cdc.gov/healthywater/drinking/public/water_diseases.html
 116. Organização das Nações Unidas. Objetivos de Desenvolvimento Sustentável - ONU Portugal. 2015 [cited 2021 Jun 8]; Available from: <https://unric.org/pt/objetivos-de-desenvolvimento-sustentavel/>
 117. EPAL. Ciclos da Água. *Educ Ambient* . 2021 [cited 2021 Aug 9]; Available from: <https://www.epal.pt/EPAL/menu/epal/comunicação-ambiental/ciclo-da-água>
 118. Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos (ERSAR). Saneamento de Águas Residuais . 2020 [cited 2021 Jun 7]. Available from: <http://www.ersar.pt/pt/setor/caracterizacao/saneamento-de-aguas-residuais>
 119. Nunes B. A presença de fármacos no ambiente. *Acta Farm Port* . 2011;1(1):43–54. Available from: <http://www.actafarmacaportuguesa.com/index.php/afp/article/view/31/32>
 120. Larsson D, de Pedro C, Paxeus N. Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. *J Hazard Mater*. 2007 Sep 30;148(3):751–5.
 121. World Health Organization (WHO). Guidelines for Safe Disposal of Unwanted

- Pharmaceuticals in and after Emergencies. *Interag Guidel.* 1999;31.
122. ValorMed (Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos Lda). *Processamento de Resíduos* [ValorMed]. [cited 2021 Aug 12]. Available from: <http://www.valormed.pt/paginas/8/processo>
 123. Boxall ABA, Fogg LA, Blackwell PA, Kay P, Pemberton EJ, Croxford A. Veterinary medicines in the environment. *Rev Environ Contam Toxicol.* 2004;180:1–91.
 124. Halling-Sørensen B, Nielsen SN, Lanzky PF, Ingerslev F, Lützhøft HCH, Jørgensen SE. Occurrence, Fate and Effects of Pharmaceutical Substances in the Environment - A Review. *Chemosphere*. 1998;36(2):357-393 [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00354](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00354). Available from: [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00354-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00354-8).
 125. Bastos SGG. *Avaliação de Ecotoxicidade Usando Microalgas como Complemento de Estudos para a REmoção de Psicofármacos em ETARs.* 2016; Available from: https://recipp.ipp.pt/bitstream/10400.22/11177/1/DM_SilviaBastos_2016_MEQ.pdf
 126. Ministério do Ambiente. Decreto-Lei n.º 236/98, de 1 de agosto. *Diário da República I Série*. 1998;Nº 176:3676–722. Available from: <https://dre.pt/application/conteudo/430457>
 127. Ministério do Ambiente. Decreto-Lei nº 243/2001, de 5 de setembro. *Diário da República I Série*. 2001;206:5754–65. Available from: <https://dre.pt/application/conteudo/631198>
 128. Ministério do Ambiente. Portaria nº 1216/2003, de 16 de outubro. *Diário da República I Série*. 2003;240:6932–5. Available from: <https://dre.pt/application/file/a/476222>
 129. Ministério do Ambiente. Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de Agosto. *Diário da República I Série*. 2007;(164):5747–65. Available from: <https://dre.pt/application/file/a/640836>
 130. Ministério do Ambiente. Decreto-Lei nº 152/2017, de 7 de dezembro. *Diário da República I Série*. 2017;235:6555–76. Available from: <https://dre.pt/application/file/a/114311254>
 131. Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia. Diretiva (UE) 2015/1787 da Comissão de 6 de outubro de 2015 do Parlamento Europeu e do Conselho de 6 de outubro de 2015 relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano. *Off J Eur Union.* 2015;(4):6–17.
 132. Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia. Diretiva (UE) 2020/2184 do Parlamento Europeu e do Conselho de 16 de dezembro de 2020 relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano. *J Of da União Eur.* 2020;l:62. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32020L2184&from=EN>
 133. Tabak HH, Bunch RL. Steroid hormones as water pollutants. I. Metabolism of natural and synthetic ovulation inhibiting hormones by microorganisms of activated sludge and primary settled sewage. *Corum, Cyril J (Edited By) Dev Ind Microbiol Vol 11 Symp*

- Xi+474p *Illus Am Am Inst Biol Sci* . 1970 Nov 23 [cited 2021 Aug 28];367–76. Available from: <https://eurekamag.com/research/027/441/027441923.php>
134. Hignite C, Azarnoff D. Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. *Life Sci*. 1977 Jan 15;20(2):337–41.
 135. Haap T, Triebkorn R, Köhler HR. Acute effects of diclofenac and DMSO to *Daphnia magna*: Immobilisation and hsp70-induction. *Chemosphere*. 2008;73(3):353–9.
 136. Oaks JL, Gilbert M, Virani MZ, Watson RT, Meteyer CU, Rideout BA, et al. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nat* 2004 4276975 . 2004 Jan 28 [cited 2021 Aug 28];427(6975):630–3. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature02317>
 137. aus der Beek T, Weber FA, Bergmann A, Hickmann S, Ebert I, Hein A, et al. Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and perspectives. *Environ Toxicol Chem*. 2016;35(4):823–35.
 138. Du E, Li J, Zhou S, Zheng L, Fan X. Transformation of naproxen during the chlorination process: Products identification and quantum chemistry validation. *Chemosphere* . 2018;211:1007–17. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.036>
 139. Silva S, Cardoso VV, Duarte L, Carneiro RN, Almeida CMM. Characterization of Five Portuguese Wastewater Treatment Plants: Removal Efficiency of Pharmaceutical Active Compounds through Conventional Treatment Processes and Environmental Risk. *Appl Sci* 2021, Vol 11, Page 7388 . 2021 Aug 11 [cited 2021 Sep 1];11(16):7388. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3417/11/16/7388/htm>
 140. Rodrigues J, Silva S, Cardoso V, Benoliel M, Cardoso E, MR C, et al. Screening and Seasonal Behavior of Analgesics, Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs, and Antibiotics in Two Urban Wastewater Treatment Plants. *Environ Manage* . 2021 [cited 2021 Sep 2];68(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34269831/>
 141. Silva C, Almeida CMM, Rodrigues JA, Silva S, Coelho M do R, Martins A, et al. Occurrence and seasonality of pharmaceutical compounds in urban wastewaters in two Portuguese regions. <https://doi.org/10.1080/1573062X20211893365> . 2021 [cited 2021 Sep 2];18(6):465–78. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/1573062X.2021.1893365>
 142. de Jesus Gaffney V, Cardoso V, Cardoso E, Teixeira A, Martins J, Benoliel M, et al. Occurrence and behaviour of pharmaceutical compounds in a Portuguese wastewater treatment plant: Removal efficiency through conventional treatment processes. *Environ Sci Pollut Res Int* . 2017 Jun 1 [cited 2021 Sep 13];24(17):14717–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28462433/>
 143. Zhang Y, Geißen SU, Gal C. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater

- treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere*. 2008 Nov 1;73(8):1151–61.
144. Parlamento Europeu. Directiva 2000/60/CE, de 23 de outubro de 2000. *J Of da União Eur*. 2000;
 145. Parlamento Europeu. Diretiva 2013/39/UE, de 12 de agosto de 2013. *J Of da União Eur*. 2013;2013:1–17.
 146. Parlamento Europeu. Decisão de Execução 2018/840 da Comissão Europeia, de 5 de Junho de 2018. *J Of da União Eur* . 2018;141(6):9–12. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018D0840&from=EN>
 147. Stumpf M, Ternes TA, Wilken RD, Rodrigues SV, Baumann W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Sci Total Environ* . 1999 Jan 12 [cited 2021 Sep 13];225(1–2):135–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10028710/>
 148. Zhang Y, Geißen SU, Gal C. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere* . 2008;73(8):1151–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.07.086>
 149. Ashton D, Hilton M, Thomas K. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci Total Environ* . 2004 Oct 15 [cited 2021 Sep 1];333(1–3):167–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15364527/>
 150. Tauxe-Wuersch A, De Alencastro L, Grandjean D, Tarradellas J. Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Res* . 2005 [cited 2021 Sep 13];39(9):1761–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15899274/>
 151. Stumpf M, Ternes TA, Wilken RD, Silvana Vianna Rodrigues, Baumann W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Sci Total Environ*. 1999;225(1–2):135–41.
 152. Lolić A, Paíga P, Santos LHMLM, Ramos S, Correia M, Delerue-Matos C. Assessment of non-steroidal anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in seawaters of North of Portugal: Occurrence and environmental risk. *Sci Total Environ*. 2015;508:240–50.
 153. Lin A, Tsai Y. Occurrence of pharmaceuticals in Taiwan's surface waters: impact of waste streams from hospitals and pharmaceutical production facilities. *Sci Total Environ* . 2009 Jun 1 [cited 2021 Sep 2];407(12):3793–802. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19345984/>
 154. Gómez M, Petrović M, Fernández-Alba A, Barceló D. Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters. *J Chromatogr A* .

- 2006 May 12 [cited 2021 Sep 13];1114(2):224–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16546199/>
155. Benotti MJ, Trenholm RA, Vanderford BJ, Holady JC, Stanford BD, Snyder SA. Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Compounds in U.S. Drinking Water. *Environ Sci Technol* . 2008 Feb 1 [cited 2021 Sep 13];43(3):597–603. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/es801845a>
 156. Hernando MD, Heath E, Petrovic M, Barceló D. Trace-level determination of pharmaceutical residues by LC-MS/MS in natural and treated waters. A pilot-survey study. *Anal Bioanal Chem*. 2006;385(6):985–91.
 157. Jeffries KM, Brander SM, Britton MT, Fanguie NA, Cannon RE. Chronic exposures to low and high concentrations of ibuprofen elicit different gene response patterns in a euryhaline fish. *Environ Sci Pollut Res*. 2015;22(22):17397–413.
 158. Behera SK, Kim HW, Oh JE, Park HS. Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea. *Sci Total Environ* . 2011;409(20):4351–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.07.015>
 159. Roberts PH, Thomas K V. The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. *Sci Total Environ*. 2006;356(1–3):143–53.
 160. Gómez M, Martínez Bueno M, Lacorte S, Fernández-Alba A, Agüera A. Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast. *Chemosphere* . 2007 [cited 2021 Sep 2];66(6):993–1002. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16962638/>
 161. Quintana JB, Reemtsma T. Sensitive determination of acidic drugs and triclosan in surface and wastewater by ion-pair reverse-phase liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2004;18(7):765–74.
 162. Roberts P, Thomas K. The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. *Sci Total Environ* . 2006 Mar 1 [cited 2021 Sep 2];356(1–3):143–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15936058/>
 163. Spongberg AL, Witter JD, Acuña J, Vargas J, Murillo M, Umaña G, et al. Reconnaissance of selected PPCP compounds in Costa Rican surface waters. *Water Res*. 2011 Dec 15;45(20):6709–17.
 164. Stasinakis A, Mermigka S, Samaras V, Farmaki E, Thomaidis N. Occurrence of endocrine disrupters and selected pharmaceuticals in Aisonas River (Greece) and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environ Sci Pollut Res Int* . 2012 Jun [cited 2021 Sep 2];19(5):1574–83. Available from:

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22116734/>
165. Kim JW, Jang HS, Kim JG, Ishibashi H, Hirano M, Nasu K, et al. Occurrence of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) in Surface Water from Mankyung River, South Korea. *J Heal Sci*. 2009;55(2):249–58.
 166. Lin AYC, Tsai YT, Yu TH, Wang XH, Lin CF. Occurrence and fate of pharmaceuticals and personal care products in Taiwan's aquatic environment. *Desalin Water Treat*. 2011;32(1–3):57–64.
 167. Kasprzyk-Hordern B, Dinsdale RM, Guwy AJ. The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. *Water Res*. 2009 Feb 1;43(2):363–80.
 168. Li Q, Wang P, Chen L, Gao H, Wu L. Acute toxicity and histopathological effects of naproxen in zebrafish (*Danio rerio*) early life stages. *Environ Sci Pollut Res* . 2016;23(18):18832–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-7092-4>
 169. Verenitch S, Lowe C, Mazumder A. Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* . 2006 May 26 [cited 2021 Sep 3];1116(1–2):193–203. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16545821/>
 170. Lee H, Peart T, Svoboda M. Determination of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* . 2005 Nov 11 [cited 2021 Sep 3];1094(1–2):122–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16257298/>
 171. Bendz D, Paxéus N, Ginn T, Loge F. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Høje River in Sweden. *J Hazard Mater* . 2005 Jul 15 [cited 2021 Sep 3];122(3):195–204. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15967274/>
 172. Ternes TA. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res*. 1998 Nov 1;32(11):3245–60.
 173. Tixier C, Singer H, Oellers S, Müller S. Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. *Environ Sci Technol* . 2003 Mar 15 [cited 2021 Sep 14];37(6):1061–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12680655/>
 174. Marrecos HM et al. Tratamentos de Águas Residuais - Operações e Processos de Tratamento Físico e Químico . Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos Instituto Superior de Engenharia de Lisboa Universidade da Beira Interior. 2016. Available from: <https://www.bio4life.pontogdegiro.com/index.php/preservacao-ambiental/tratamento-de-aguas-residuais>
 175. Águas do Norte | Águas de Portugal. Tratamento de Água | Estações de Tratamento de

- Água . 2015 [cited 2021 Sep 2]. Available from: <https://www.adnorte.pt/pt/educacao-ambiental/ciclo-urbano-da-agua/tratamento-de-agua/?id=115>
176. Minnesota Rural Water Association. Water Works Operations Manual: Aeration . 2020 [cited 2021 Aug 2]. Available from: <http://www.mrwa.com/MNWWMnl/11-Aeration.pdf>
 177. Vieira PAR. Avaliação de desempenho de estações de tratamento de água para consumo humano. 2009;1–662. Available from: <http://repositorio.Inec.pt:8080/handle/123456789/16906>
 178. Yan D, Sun Z, Wang J, Wang L, Pan R, Wu Q, et al. Enhanced Coagulation with Mn(III) Pre-Oxidation for Treatment of Micro-Polluted Raw Water. *Water* 2019, Vol 11, Page 2302 . 2019 Nov 3 [cited 2021 Sep 13];11(11):2302. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4441/11/11/2302/htm>
 179. Minnesota Rural Water Association. Water Works Operations Manual: Coagulation and Flocculation Process. 2020 [cited 2021 Aug 3]; Available from: <http://www.mrwa.com/MNWWMnl/12-Coagulation.pdf>
 180. Minnesota Rural Water Association. Water Works Operations Manual: Sedimentation. 2020 [cited 2021 Aug 3]; Available from: <http://www.mrwa.com/MNWWMnl/13-Sedimentation.pdf>
 181. Minnesota Rural Water Association. Water Works Operations Manual: Filtration. 2020 [cited 2021 Aug 3]; Available from: <http://www.mrwa.com/MNWWMnl/18-Filtration.pdf>
 182. Rodrigo C, Lopes JL, Saúde M, Mendes R, Casimiro R. Controlo operacional em Sistemas Públicos de Abastecimento de Água. *Série Guias Técnicos nº 10*. 2007. 66 p.
 183. Rosa MJ, Vieira P, Menaia J. O tratamento de água para consumo humano face à qualidade da água de origem. *Série Guias Técnicos nº13*. 2009;82.
 184. Massachusetts Department of Environmental Protection. Guidelines for Public Water Systems [Chapter 5 Treatment. 2011 [cited 2021 Sep 2]; Available from: <https://www.mass.gov/doc/guidelines-for-public-water-systems-chapter-5-treatment-0/download>
 185. National Research Council (US) Safe Drinking Water Committee. *Drinking Water and Health: Volume 2*. Vol. 2, Washington (DC): National Academies Press (US). 1980.
 186. Minnesota Rural Water Association. Water Works Operations Manual: Fluoridation. 2020 [cited 2021 Aug 4]; Available from: <http://www.mrwa.com/MNWWMnl/10-Fluoridation.pdf>
 187. Duarte ME. Os Fluoretos na água de consumo humano. *Adm Reg Saúde Lisboa e Val do Tejo*, IP. 2008;
 188. Pinto R, Cristovão E, Vinhais T, Fonseca e Castro M. Teor de Fluoretos nas Águas de Abastecimento da Rede Pública, nas Sedes de Concelho de Portugal Continental. *Rev Port Estomatol Med Dentária e Cir Maxilofac*. 1999;20.

189. Ribeiro AC. Avaliação da Capacidade de Remoção de Fluoretos da Água Através da Adsorção em Mica . Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa. 2018 [cited 2021 Aug 4]. Available from: https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/15869/1/_Ribeiro A.C. - FINALÍSSIMO .pdf
190. Lenntech. Drinking water disinfection application standards for EU . 1998 [cited 2021 Aug 4]. Available from: <https://www.lenntech.com.pt/processos/desinfeccao/regulation-drinking-water-disinfection-eu.htm>
191. Li X, Cai M, Wang L, Niu F, Yang D, Zhang G. Evaluation survey of microbial disinfection methods in UV-LED water treatment systems. *Sci Total Environ* . 2019;659:1415–27. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.344>
192. Saqib Ishaq M, Afsheen Z, Khan A, Khan A. Disinfection Methods. *Photocatal - Appl Attrib*. 2019;3–20.
193. Oram B. Ozonation in Water Treatment . Water Research Center. 2020 [cited 2021 Aug 5]. Available from: <https://www.water-research.net/index.php/ozonation>
194. Ma J-W, Huang B-S, Hsu C-W, Peng C-W, Cheng M-L, Kao J-Y, et al. Efficacy and Safety Evaluation of a Chlorine Dioxide Solution. *Int J Environ Res Public Health* . 2017 Mar 22 [cited 2021 Aug 6];14(3). Available from: [/pmc/articles/PMC5369164/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35369164/)
195. Nikolaou AD, Golfinopoulos SK, Lekkas TD. Formation of organic by-products during chlorination of natural waters. *J Environ Monit*. 2002;4(6):910–6.
196. Frimmel FH, Jahnel JB. Formation of and Occurrence of Haloforms in Drinking Water. 2003;5:1–19.
197. Silva BH de L, Melo MAB de. Trihalometanos em Água Potável e Riscos de Câncer: Simulação Usando Potencial De Interação e Transformações de Bäcklund. *Soc Bras Química*. 2015;38(3):309–15.
198. TA M, H K. Carcinogenicity of the chlorination disinfection by-product MX. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* . 2005 [cited 2021 Aug 9];23(2):163–214. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16291527/>
199. Chaves RS, Guerreiro CS, Cardoso V V., Benoliel MJ, Santos MM. Hazard and mode of action of disinfection by-products (DBPs) in water for human consumption: Evidences and research priorities. *Comp Biochem Physiol Part - C Toxicol Pharmacol* . 2019;223(May):53–61. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.05.015>
200. Fent K, Weston AA, Caminada D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat Toxicol*. 2006;76(2):122–59.
201. Swan GE, Cuthbert R, Quevedo M, Green RE, Pain DJ, Bartels P, et al. Toxicity of diclofenac to Gyps vultures. *Biol Lett* . 2006 Jun 22 [cited 2021 May 4];2(2):279. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1618889/>

202. De Oliveira LLD, Antunes SC, Gonçalves F, Rocha O, Nunes B. Acute and chronic ecotoxicological effects of four pharmaceuticals drugs on cladoceran *Daphnia magna*. *Drug Chem Toxicol*. 2016;39(1):13–21.
203. Schwaiger J, Ferling H, Mallow U, Wintermayr H, Negele RD. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquat Toxicol*. 2004;68(2):141–50.
204. Lanza FL, Chan FKL, Quigley EMM, Inadomi J, Baroni D, Bernstein D, et al. Guidelines for prevention of NSAID-related ulcer complications. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(3):728–38.
205. Griffin MR. Epidemiology of nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated gastrointestinal injury. *Am J Med*. 1998;104(3 A).
206. Lee J, Ji K, Lim Kho Y, Kim P, Choi K. Chronic exposure to diclofenac on two freshwater cladocerans and Japanese medaka. *Ecotoxicol Environ Saf* . 2011;74(5):1216–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.03.014>
207. Quinn B, Schmidt W, O'Rourke K, Hernan R. Effects of the pharmaceuticals gemfibrozil and diclofenac on biomarker expression in the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and their comparison with standardised toxicity tests. *Chemosphere* . 2011;84(5):657–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.03.033>
208. United Nations. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS) Fifth revised edition United Nations. 2013.
209. Agência Europeia dos Produtos Químicos. Guia de orientação sobre requisitos de informação e avaliação da segurança química Parte B : Avaliação do perigo Dezembro de. 2011;
210. Joaquim JJM. Respostas Aguda e Crónica de *D. magna* e *D. longispina* a Diclofenac. Universidade de Aveiro; 2007.
211. Devi S, Kim J, Singh A, Kumar S, Dubey A, Singh S, et al. Proteotoxicity: A Fatal Consequence of Environmental Pollutants-Induced Impairments in Protein Clearance Machinery. *J Pers Med* . 2021 Jan 1 [cited 2021 Jul 29];11(2):1–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33503824/>
212. Hightower LE. Heat shock, stress proteins, chaperones, and proteotoxicity. *Cell*. 20AD;66(2):191–7.
213. Wang Y, Liu H, Liu G, Xie Y. Oxidation of diclofenac by aqueous chlorine dioxide: Identification of major disinfection byproducts and toxicity evaluation. *Sci Total Environ* . 2014;473–474:437–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.056>
214. Scheurell M, Franke S, Shah RM, Hühnerfuss H. Occurrence of diclofenac and its metabolites in surface water and effluent samples from Karachi, Pakistan.

- Chemosphere . 2009;77(6):870–6. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.07.066>
215. Ternes TA. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res.* 1998;32(11):3245–60.
 216. Gonzalez-Rey M, Bebianno MJ. Does non-steroidal anti-inflammatory (NSAID) ibuprofen induce antioxidant stress and endocrine disruption in mussel *Mytilus galloprovincialis*? *Environ Toxicol Pharmacol* . 2012;33(2):361–71. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2011.12.017>
 217. Carballa M, Omil F, Lema J. Removal of cosmetic ingredients and pharmaceuticals in sewage primary treatment. *Water Res* . 2005 [cited 2021 Aug 29];39(19):4790–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16246396/>
 218. Vieira FF, Lima CAP, Lima GGC, Silva ZE, Santos CAC. Fotocatálise solar: Aplicações e tendências atuais. XV Congr Bras Eng Mecânica. 1999;
 219. Bauer R, Waldner G, Fallmann H, Hager S, Klare M, Krutzler T, et al. The photo-fenton reaction and the TiO₂/UV process for waste water treatment – novel developments. *Catal Today*. 1999 Oct 15;53(1):131–44.
 220. Méndez-Arriaga F, Esplugas S, Giménez J. Photocatalytic degradation of non-steroidal anti-inflammatory drugs with TiO₂ and simulated solar irradiation. *Water Res.* 2008;42(3):585–94.
 221. Quero-Pastor MJ, Garrido-Perez MC, Acevedo A, Quiroga JM. Ozonation of ibuprofen: A degradation and toxicity study. *Sci Total Environ* . 2014;466–467:957–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.067>
 222. Xiang Y, Fang J, Shang C. Kinetics and pathways of ibuprofen degradation by the UV/chlorine advanced oxidation process. *Water Res* . 2016;90:301–8. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.11.069>
 223. Bort R, Ponsoda X, Jover R, Gómez-Lechón M, Castell J. Diclofenac toxicity to hepatocytes: a role for drug metabolism in cell toxicity . *J Pharmacol Exp Ther*. 1999 [cited 2021 Aug 20]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9862754/>
 224. Haap T, Tribskorn R, Köhler HR. Acute effects of diclofenac and DMSO to *Daphnia magna*: immobilisation and hsp70-induction. *Chemosphere* . 2008 Sep [cited 2021 Aug 29];73(3):353–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18649920/>
 225. Hallare A V., Köhler HR, Tribskorn R. Developmental toxicity and stress protein responses in zebrafish embryos after exposure to diclofenac and its solvent, DMSO. *Chemosphere*. 2004;56(7):659–66.
 226. Lim M, Lim P, Gupta R, Boelsterli U. Critical role of free cytosolic calcium, but not uncoupling, in mitochondrial permeability transition and cell death induced by diclofenac oxidative metabolites in immortalized human hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol* .

- 2006 Dec 15 [cited 2021 Aug 29];217(3):322–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17097122/>
227. Pohl J, Ahrens L, Carlsson G, Golovko O, Norrgren L, Weiss J, et al. Embryotoxicity of ozonated diclofenac, carbamazepine, and oxazepam in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*. 2019;225:191–9.
228. Salgado R, Pereira VJ, Carvalho G, Soeiro R, Gaffney V, Almeida C, et al. Photodegradation kinetics and transformation products of ketoprofen, diclofenac and atenolol in pure water and treated wastewater. *J Hazard Mater* . 2013;244–245:516–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.10.039>
229. Schmitt-Jansen M, Bartels P, Adler N, Altenburger R. Phytotoxicity assessment of diclofenac and its phototransformation products. *Anal Bioanal Chem*. 2007;387(4):1389–96.
230. Soufan M, Deborde M, Legube B. Aqueous chlorination of diclofenac: Kinetic study and transformation products identification. *Water Res* . 2012;46(10):3377–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2012.03.056>
231. Luongo G, Guida M, Siciliano A, Libralato G, Saviano L, Amoresano A, et al. Oxidation of diclofenac in water by sodium hypochlorite: Identification of new degradation by-products and their ecotoxicological evaluation. *J Pharm Biomed Anal* . 2021;194(October):113762. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113762>
232. Coelho AD, Sans C, Agüera A, Gómez MJ, Esplugas S, Dezotti M. Effects of ozone pre-treatment on diclofenac: Intermediates, biodegradability and toxicity assessment. *Sci Total Environ* . 2009;407(11):3572–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.01.013>
233. Cha Y, Kim S, Solnica-Krezel L, Dubois R. Cyclooxygenase-1 signaling is required for vascular tube formation during development. *Dev Biol* . 2005 Jun 1 [cited 2021 Aug 30];282(1):274–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15936346/>
234. Gao YQ, Gao NY, Chu WH, Yang QL, Yin DQ. Kinetics and mechanistic investigation into the degradation of naproxen by a UV/chlorine process. *RSC Adv*. 2017;7(53):33627–34.
235. Isidori M, Lavorgna M, Nardelli A, Parrella A, Previtera L, Rubino M. Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products. *Sci Total Environ*. 2005;348(1–3):93–101.
236. Wojcieszńska D, Guzik U. Naproxen in the environment: its occurrence, toxicity to nontarget organisms and biodegradation. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2020;104(5):1849–57.
237. DellaGreca M, Brigante M, Isidori M, Nardelli A, Previtera L, Rubino M, et al. Phototransformation and ecotoxicity of the drug Naproxen-Na. *Environ Chem Lett*.

- 2003;1(4):237–41.
238. Fan X, Du E, Li J, Zhao L, Wang Y, Peng M. Chlorination of Naproxen: Removal, Transformation and Risk Assessment. *Huan jing ke xue= Huanjing kexue* . 2018 Apr 15 [cited 2021 Aug 30];39(4):1645–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29964989/>
 239. European Chemicals Agency. Guia de orientação sobre requisitos de informação e avaliação da segurança química . 2011 [cited 2021 May 28]. Available from: <http://echa.europa.eu/>
 240. Ferreira C. Avaliação do Risco Ambiental de Anti-inflamatórios Não Esteroroides em Estações de Tratamento de Águas Residuais. Univ Coimbra. 2018;
 241. ECHA. Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.10: Characterisation of dose [concentration]-response for environment. Eur Chem Agency. 2008;(May):1–65.
 242. European Medicines Agency. Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use. *Guidel Environ Risk Assess Med Prod Hum Use* . 2006;(June):1–12. Available from: <http://www.emea.eu.int>
 243. United States Environmental Protection Agency. Ecological Risk Assessment | US EPA . [cited 2021 Aug 31]. Available from: <https://www.epa.gov/risk/ecological-risk-assessment>
 244. Gros M, Petrović M, Ginebreda A, Barceló D. Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environ Int*. 2010;36(1):15–26.
 245. Verlicchi P, Aukidy M Al, Zambello E. Science of the Total Environment Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal , mass load and environmental risk after a secondary treatment — A review. *Sci Total Environ* . 2012;429:123–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.028>
 246. Hernando MD, Mezcua M, Fernández-Alba AR, Barceló D. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*. 2006;69(2 SPEC. ISS.):334–42.
 247. Whomsley R, Brendler-Schwaab S, Griffin E, Jensen J, Moermond C, Scholz B, et al. Commentary on the draft revised guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use. *Environ Sci Eur*. 2019;31(1):1–48.