

# LÉČIVA A DALŠÍ PSYCHOAKTIVNÍ LÁTKY VE VODNÍM PROSTŘEDÍ

## PHARMACEUTICALS AND OTHER PSYCHOTROPIC SUBSTANCES IN AQUATIC ENVIRONMENT

KATEŘINA GRABICOVÁ, TOMÁŠ RANDÁK, ROMAN GRABIC

University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Fisheries and Protection of Waters, South Bohemian Research Center of Aquaculture and Biodiversity of Hydrocenoses, Vodňany, Czech Republic

**Abstrakt:** V posledním desetiletí narůstá ve společnosti spotřeba nejen léčiv, ale i nelegálních drog. Tyto látky v lidském těle zůstávají po dobu účinku a poté jsou vyloučeny – ať už ve formě původních látek, nebo jejich metabolitů. Analýzou odpadních vod na vstupu do ČOV můžeme odhadnout spotřebu léčiv i nelegálních drog v připojené populaci. I přes vysoce centralizované čištění (85 %) odpadních vod nejsou stávající technologie schopny účinně tyto látky odstranit. Ty, které se neodbourají, se pak společně s přečištěnou odpadní vodou dostávají do vodního prostředí. Tam pak mohou ovlivňovat vodní organismy na všech trofických úrovních.

### Klíčová slova:

*bentické organismy; bioakumulace; psychoaktivní léčiva; ryby; sertralin; spotřeba drog; změny chování vodních organismů*

### ÚVOD

Poslední dobou narůstá v populaci spotřeba nejen léčiv,<sup>1</sup> ale i nelegálních drog.<sup>2</sup> Pokud se podíváme na data Státního ústavu pro kontrolu léčiv (SÚKL), zjistíme, že spotřeba za posledních deset let vzrostla nejvíce u farmak používaných k léčbě metabolických poruch, u kardiovaskulárních a psychoaktivních léčiv a dále pak u léků používaných na onemocnění respiračního ústrojí (obr.1).

Cesta těchto látek do vodního prostředí je relativně přímočará. Po konzumaci jsou v těle distribuovány do místa účinku a pak, jako původní sloučeniny či částečně přeměněny na jejich metabolity, jsou vyloučeny do odpadních vod. V roce 2019 bylo v České republice více než 85 % obyvatel připojeno na centrální kanalizaci, odkud odpadní voda vstupuje do čistíren odpad-

ních vod (dále jen „ČOV“).<sup>3</sup> V ČOV probíhá několika stupňové čištění – primární (mechanické), sekundární a terciární (mechanicko-biologické).<sup>4</sup> Dalším krokem mnoha ČOV je pak dočišťování odtokových vod pomocí tzv. stabilizačních rybníků. Schéma možných vstupů cizorodých látek do vodního prostředí je uvedeno na obr. 2.

Odstraňování těchto látek v průběhu čištění na ČOV závisí nejen na použitých technologiích, chemicko-fyzikálních vlastnostech odstraňované látky, ale i na ročním období.<sup>57</sup> Podle úspěšnosti odstranění můžeme léčiva rozdělit do několika skupin<sup>57</sup> – žádné odstranění (jako příklad lze uvést antiepileptikum karbamazepin nebo benzodiazepin oxazepam, jejichž průměrná roční účinnost odstranění je záporná – dochází naopak k jejich uvolňování např. z konjugátů,

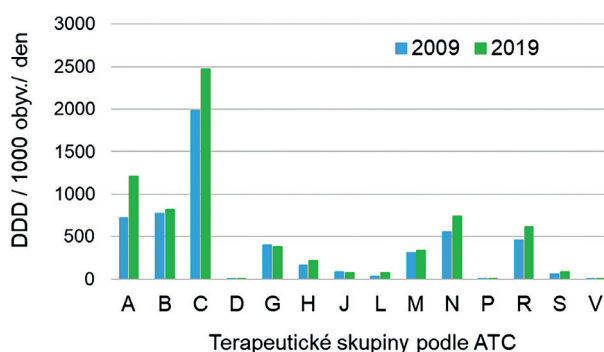
koloidů a kalů), mírné (<50 %, např. antibiotikum trimethoprim nebo antidepresivum citalopram) a vysoké odstranění (50-100 %, např. antihistaminikum meklozin nebo antidepresivum sertralin).<sup>6</sup> Obecně je lepší účinnost odstranění v letních měsících než v zimních.<sup>5,6</sup> Výše citované práce jsou výsledkem jednoletého monitoringu léčiv v nátoky a odtoku do ČOV České Budějovice, který jsme prováděli v letech 2011-2012.

### NÁVYKOVÉ LÁTKY VE VODNÍM PROSTŘEDÍ

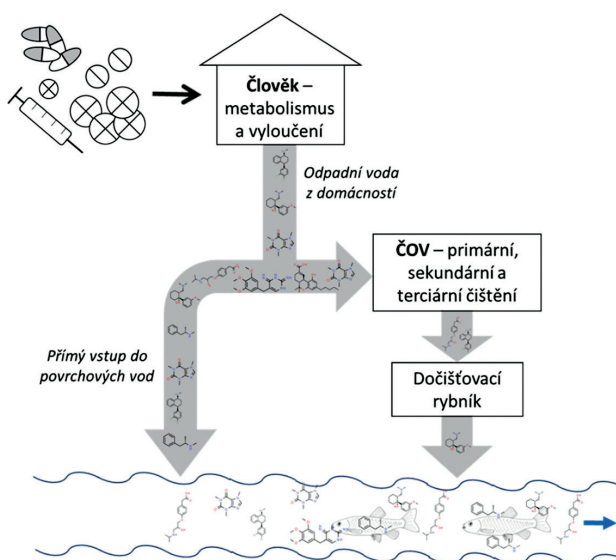
Evropské monitorovací centrum pro drogy a drogovou závislost (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, EMCDDA) se posledních jedenáct let zabývá stanovením vybraných nelegálních drog v nátocích do vybraných ČOV.<sup>8</sup> Metoda odběru vzorků je založena na sledování markerů (v tomto případě psychoaktivních látek a jejich metabolitů) v komunální odpadní vodě, tzv. wastewater-based epidemiology. Ze stanovené koncentrace, definované připojené populace a známého množství přitékající odpadní vody lze vypočítat množství dané sloučeniny normalizované na počet obyvatel. Tento údaj je velmi dobře použitelný pro porovnání jak na národní, tak i mezinárodní úrovni. Pokud jde o látku s dobře definovanou farmakokinetikou (např. kokain či nikotin) lze odhadnout i počet dávek drogy v dané populaci. Přestože se jedná o relativně mladou metodu získávání dat o spotřebě psychoaktivních látek ve společnosti, byla tato metoda akceptována EMCDDA jako velmi perspektivní směr. Základy jsou velmi názorně popsány na jejich webových stránkách.<sup>8</sup> Ke stanovení koncentrace psychoaktivních látek v odpadní vodě je využito kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Jednou z laboratoří zapojených do tohoto programu je i naše Laboratoř environmentální chemie a biochemie Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Cílem této studie je získat data o spotřebě vybraných nelegálních drog v evropské společnosti.

Předem je třeba uvést, že spotřeba tetrahydrokannabinolu (THC) jako nejrozšířenější drogy je metodou epidemiologie odpadní vody špatně kvan-

**Spotřeba léčiv**



▲ Obr. 1 - Spotřeba léčiv podle terapeutických skupin (ATC kódu) uvedených jako součet doporučených denních dávek DDD/1000 obyvj./den za rok 2009 a 2019. (zdroj: zpracovala K. Grabicová podle dat SÚKL). Vysvětlivky ATC skupin: A – trávicí ústrojí a metabolismus; B – krev a krvetvorné orgány; C – kardiovaskulární léčiva; D – dermatologika; G – urogenitální systém a pohlavní hormony; H – systémové hormonální přípravky kromě pohlavních hormonů a inzulínu; J – protinfekční léčiva pro systémové použití; L – antineoplastika a imunomodulující léčiva; M – muskuloskeletární systém; N – nervová soustava; P – antiparazitika, insekticidy, repelenty; R – dýchací ústrojí; S – smyslové orgány; V – různé



▲ Obr. 2 - Schéma vstupů léčiv a nelegálních drog do vodního prostředí. (zdroj: K.Grabicová)

tifikovatelná, protože její metabolit THCCOOH (11-nor-9-carboxy-delta9-tetrahydrocannabinol), který se v odpadní vodě analyzuje, je tvořen pouze minoritně (cca 0,6 % užitého THC<sup>9</sup>) a ne všechny laboratoře jsou schopny jej analyzovat. EMCDDA data

o THC-COOH ani veřejně neuvádí. Dále uvedené porovnání proto nezahrnuje THC.

Z veřejně dostupných výsledků<sup>2</sup> vyplývá, že v západní a jižní Evropě je výrazně vyšší spotřeba kokainu, v severní a východní Evropě to pak jsou amfetaminy a nejvyšší spotřeba extáze (3,4-methylenedioxyamfetamin, MDMA) připadla na Belgie, Německo a Nizozemí. V České republice a na Slovensku byl hlavní drogou metamfetamin (pervitin).

Na základě našich výsledků z Českých Budějovic můžeme potvrdit vysokou spotřebu metamfetaminu v porovnání s ostatními zeměmi.<sup>10</sup> Jeho koncentrace normalizovaná na populaci se v letech 2012-2019 pohybovala v rozmezí průměrných hodnot 105 až 260 mg/1000 obyvatel/den a jeho spotřeba se nelišila ve všední dny a víkendy.

Další sledovanou drogou s podobným trendem jako metamfetamin byla extáze (617 mg/1000 obyvatel/den). Na rozdíl od metamfetaminu se její spotřeba liší ve všedních a víkendových dnech. Je to potvrzení již známého vzorce konzumace, že tato droga se užívá hlavně rekreačně/relaxačně a její spotřeba je vyšší o víkendech a prázdninách.

Kokain, rekreační droga, a jeho metabolit benzoyl-ekgonin byl v ČR do roku 2014 na velmi nízké úrovni. Se zvyšující se ekonomickou stabilitou se začala zvyšovat i jeho spotřeba. V roce 2019 byla normalizovaná koncentrace 11 mg/1000 obyvatel/den pro kokain a 19 mg/1000 obyvatel/den pro benzoyl-ekgonin.

Metamfetamin, droga s nejvyšší nalezenou koncentrací v odpadních vodách v ČR, se na ČOV úplně neodbourá a je nalézán i v odtocích z ČOV. Jeho průměrná účinnost odstranění je 84 % (data ze šesti vybraných ČOV ČR, minimální účinnost odstranění 69 %, maximální 96 %) a koncentrace v odtoku z ČOV se pohybuje v rozmezí 40-210 ng/l podle velikosti města. Jak už bylo řečeno, s odtokem z ČOV se metamfetamin dostává do povrchových vod. V roce 2016 a 2017 jsme stanovili jeho koncentraci ve vybraných tocích českých řek (obr. 3). Jeho koncentrace byla nejvyšší ve Svatce pod Brnem, kam ústí vyčištěná odpadní voda z ČOV Brno a její naředění je relativně malé. Další místem s vysokou koncentrací je Kyjov-

ka, malý potůček, do kterého ústí odtok z ČOV Kyjov. Pokud se podíváme na Vltavu v Zelčíně (nad soutokem s Labem), koncentrace metamfetaminu je nižší, i když do Vltavy ústí odtok z ČOV hlavního města. Je to dáno naředěním vyčištěné odpadní vody řekou s velkým průtokem (150 m<sup>3</sup>/s).

V posledním roce se v odpadní vodě v České republice objevil i halucinogenní ketamin a stimulant mefedron. Ketamin je syntetická droga, jejíž užívání bylo oblíbené více v Asii než v Evropě a v Severní Americe,<sup>11</sup> ačkoli v roce 2019 se stal hlavní drogou mladých lidí v Nizozemí.<sup>12</sup> Mefedron byl prodáván jako legální náhrada při závislosti na amfetaminech, MDMA či kokainu a jeho užívání jako nelegální drogy bylo velmi populární ve Velké Británii v letech 2014-2015.<sup>12</sup>

## LÉČIVA VE VODNÍM PROSTŘEDÍ

Ke zjištění koncentrace léčiv ve vodě je možné použít dva přístupy. Jedním jsou bodové odběry vody, druhým je pasivní vzorkování. V případě bodových odběrů zjistíme pouze stav v době odběru. Proto je lepší variantou pasivní vzorkování, kdy pasivní vzorkovače jsou ve vodě exponované delší dobu (obvykle 14-28 dní). Jejich nevýhodou je to, že vzorkovací rychlosti dostupných pasivních vzorkovačů jsou rozdílné pro jednotlivé látky a není jednoduché přepočítat množství nalezené ve vzorkovači na koncentraci ve vodě. Naše pracoviště ve spolupráci s centrem RECETOX v Brně publikovalo výsledky rozsáhlé studie o kalibraci a následném ověření vzorkovacích rychlostí komerčně dostupných vzorkovačů POCIS pro farmaka v povrchových vodách jako českou metodiku,<sup>13,14</sup> ale i jako článek s otevřeným přístupem.<sup>15</sup> Popis metody i přepočítávací faktory jsou tedy volně dostupné široké odborné veřejnosti.

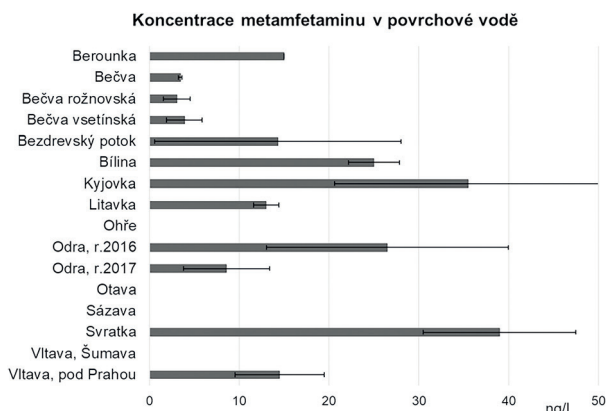
Koncentrace léčiv ve vodě se liší podle jejich typu. Odpadní vody logicky obsahují nejvyšší koncentrace, naopak pitné vody koncentrace pouze stopové. A úroveň znečištění povrchových vod (řek, rybníků) záleží na naředění odtoků z ČOV a na dalších faktorech jako jsou sezónní změny konzumace a účinnosti odstranění těchto sloučenin v ČOV.<sup>5,6,16</sup> Česká republika je

hojně osídlena a do téměř každého toku ústí vyčištěná odpadní voda (nebo přímo nevyčištěný odpad z domácností) a s ní i zbytky neodstraněných léčiv a jejich metabolitů.

Typickým případem špatného scénáře je Živný potok, který protéká Prachaticemi a vyčištěná odpadní voda z ČOV přispívá až 25 % k jeho celkovému průtoku (obr. 4). Pod vyústěním z ČOV je suma léčiv zhruba 20krát vyšší než nad Prachaticemi. Tento vysoký nárůst je způsoben nízkým naředěním. Mezi léčivými s nejvyšší koncentrací pod vyústěním ČOV patří tramadol, metoprolol, valsartan, venlafaxin, klarithromycin a karbamazepin, jejichž koncentrace byly vyšší než 100 ng/l.<sup>17,18</sup> Z uvedených sloučenin jsou tři látky psychoaktivní – tramadol, venlafaxin a karbamazepin.

Jak již bylo uvedeno výše, celkové znečištění závisí na stupni naředění vyčištěné odpadní vody. Nejhuře jsou na tom malé toky, do kterých ústí odtok z ČOV velkých měst např. Litavka pod Příbramí a Bílina před ústím do Labe – jejich průtok je relativně malý (méně než 10 m<sup>3</sup>/s) a napojené odtoky pocházejí z větších ČOV. Dalšími dvěma většími řekami s vyšším znečištěním jsou Svratka a Odra, kam ústí vyčištěná odpadní voda z Brna a Ostravy, druhého a třetího největšího města naší republiky. Dalo by se předpokládat, že Vltava, kam ústí odtok z ČOV z našeho hlavního města (obr. 5), bude nejvíce znečištěnou řekou, ale to neplatí. Vltava patří mezi čistší řeky, protože její průtok pod Prahou je velký (150 m<sup>3</sup>/s) a odtok z ČOV je hodně naředěn.<sup>19</sup>

Podobně je na tom i řeka Úhlava, která je na odtoku z vodní nádrže Nýrsko čistá. Jak protéká krajinou, koncentrace léčiv se zvyšuje. Vodárna Plzeň, a.s. ji používá jako zdroj surové vody pro úpravu na vodu pitnou. Se zvyšujícím se znečištěním vstupních vod musí být technologie čištění na úpravných pitných vod modernizovány tak, aby splňovaly limity pro cizorodé organické látky. Ozonizace a filtry s granulovaným aktivním uhlím snižují koncentrace léčiv během úpravy pitné vody na minimum.<sup>16</sup> Obecně se dá konstatovat, že farmaka jsou pro pitné vody menším problémem než rezidua pesticidů.<sup>20</sup>



▲ Obr. 3 - Koncentrace metamfetaminu v tocích České republiky. (zdroj: K. Grabicová)

### VLIV CIZORODÝCH LÁTEK NA NECÍLOVÉ ORGANISMY

Jak již bylo řečeno, zbytky léčiv a drog se vyskytují v povrchových vodách., kde působí na přítomné organismy.

Z důvodu časté přítomnosti metamfetaminu v povrchových vodách jsme se rozhodli studovat vliv této sloučeniny na vodní organismy, a to v koncentracích odpovídajících jeho reálného výskytu ve vodním prostředí. V rámci našich laboratorních studií jsme vystavovali působení metamfetaminu jak obratlovce (ryby), tak bezobratlé (raky). Po expozici metamfetaminu po dobu 42 dní byly v lepší kondici exponovaní jelci tloušti (*Squalius cephalus*) v porovnání s kontrolou.<sup>21</sup> Dále byla pozorována zvýšená koncentrace nejen metamfetaminu, ale i jeho hlavního metabolitu amfetaminu v jednotlivých orgánech pstruha obecného (*Salmo trutta fario*) – nejvyšší koncentrace byla nalezena v ledvinách, následována koncentrací v játrech, mozku, svalu a plazmě. Biokoncentrační faktor (poměr koncentrace v tkáni ku koncentraci ve vodě) byl v rozmezí 0,13 až 80 (ledviny), což nepotvrzuje přímo bioakumulaci, ale i tak vedla expozice metamfetaminu k histologickým změnám jater a srdce.<sup>22</sup> Expozice jelce tlouště také vedla k jeho zvýšené náchylnosti k napadení parazitickými larvami škeble říční (*Anodonta anatina*).<sup>23</sup>

I jiná psychoaktivní léčiva měla vliv na chování ryb. Ryby exponované antidepressivu sertralin snížily příjem potravy, což následně vedlo k horší kondici



▲ Obr. 4 – Odtok z ČOV Prachatice (zdroj: T. Randák)



▲ Obr. 5 – Odtok z ČOV Praha (zdroj: T. Randák)

ryb a k vyšší mortalitě.<sup>21</sup> Také koncentrace sertralinu v mozku (jakožto cílového orgánu) byla vysoká (1800±1000 ng/g po 42 dnech expozice). Naopak, žádné změny nebyly v dosud provedených testech patrné po expozici ryb antidepressivu citalopram a léku proti bolesti s opioidním účinkem tramadolu.<sup>21</sup>

Léčiva a další psychoaktivní látky mají vliv na chování nejen ryb, ale i raků – ovlivňují jejich reakci na stres,<sup>24</sup> stavění jejich nor,<sup>25</sup> rychlost a délku jejich pohybu nebo čas strávený v úkrytu.<sup>26-30</sup>

Ve studii Bláhy a kol.<sup>31</sup> jsme se zabývali vztahem predátor-kořist. Jako predátor sloužily exponované larvy vážek (*Aeshna cyanea*), plůdek kapra obecného (*Cyprinus carpio*) jako kořist. Významné rozdíly byly pozorované hlavně v rychlosti krmení – zatímco vážky exponované jednotlivě citalopramu a tramadolu byly méně aktivní, vážky exponované vyčištěné odpadní vodě měly rychlost krmení vyšší.<sup>31</sup> Z těchto výsledků vyplývá, že jednotlivá léčiva se projevují jinak, než když jsou ve směsi mnoha jiných. Proto jsme se od laboratorních experimentů (s jedním či několika málo léčivy) přesunuli k terénním studiím.

Provedli jsme unikátní studii na již zmíněném Živném potoce. Na čtyřech lokalitách (jedna kontrolní a tři pod odtokem z ČOV) jsme odebrali bentické organismy a stanovili v jejich extraktech koncentrace sedmdesáti léčiv. V pijavicích (*Erpobdella octoculata*) byl nalezen kardiovaskulární valsartan, protizánětlivý diklofenak, antidepressivum sertralin a protiplísňový

klotrimazol, v larvách chrostíků (*Hydropsyche* sp.) pak antibiotika azitromycin a klaritromycin (obě antibiotika patří mezi léčiva, která je potřeba monitorovat v povrchových vodách!<sup>32</sup>), antidepressiva citalopram a sertralin, kardiovaskulární léčivo verapamil a klotrimazol.<sup>17</sup> V kontrolní (čisté) lokalitě nad Prachaticemi jsme nalovili pstruhy obecné, označili je a přesadili pod odtok z ČOV. Pstruhy jsme pak vzorkovali za 1, 3 a 6 měsíců a stanovovali koncentrace vybraných psychoaktivních léčiv v jejich jednotlivých orgánech. Bylo jich nalezeno jedenáct – nejvíce v játrech a ledvinách. V mozku byl nalezen pouze sertralin, který se ve vodě vyskytuje pouze na nízkých koncentračních hladinách (řádově do 10 ng/l<sup>18</sup>). Plazma a svalovina byla zasažena v mnohem menší míře. Čtyři léčiva (citalopram, mianserin, mirtazapin a sertralin) mají potenciál se bioakumulovat v rybí tkáni.<sup>18</sup> Tato bioakumulace byla pozorována i v jelicích tlouštích odlovených z deseti řek ČR.<sup>19</sup> V této studii jsme prokázali přítomnost sertralinu v mozku ryb ve všech lokalitách v ČR mimo ryb z horní Vltavy nad nádrží Lipno.

Nejen organismy v řekách jsou vystaveny působení mikropolutantů. Častým terciálním stupněm dočištění odpadních vod jsou rybníky a rybníční soustavy. V experimentu zaměřeném na studium vlivu odpadní vody na nejčastěji chované ryby jsme vysadili kapry obecné a candáty obecné (*Sander lucioperca*) do rybníka, který slouží jako dočišťovací nádrž odtoku ČOV. Po šestiměsíční expozici se v různých tkáních bioaku-

mulovalo 14 léčiv (ze 66 analyzovaných). Některá léčiva byla nalezena u obou druhů ryb (psychoaktivní – citalopram, tramadol, sertralin, venlafaxin a kardiiovaskulární telmisartan), jiná pouze u jednoho druhu ryby – kardiiovaskulární atenolol a jeho metabolit metoprololová kyselina u kapra, zatímco u candáta to byl azitromycin, karbamazepin (antiepileptikum), donepezil (na léčbu Alzheimerovy choroby), haloperidol (antipsychotikum) a verapamil (kardiiovaskulární léčivo). Dobrou zprávou je, že tyto sloučeniny jsou v rybách nalézány především v ledvinách a játrech. V rybím mase jsou přítomny ojediněle a jejich koncentrace jsou zde nízké.<sup>33</sup> Kromě bioakumulace došlo u exponovaných ryb ke změnám v hladině biomarkerů oxidativního stresu, biochemických parametrů v plazmě, genové expresi detoxifikační enzymů a ke změnám složení mastných kyselin v rybí svalovině.<sup>34,35</sup>

Zda se daná sloučenina bude bioakumulovat, záleží tedy nejen na fyzikálně-chemických vlastnostech látek, ale i na typu vodního organismu a druhu ryby.

## ZÁVĚR

Se zvýšenou spotřebou léčiv a dalších psychoaktivních látek ve společnosti dochází i ke zvýšené kontaminaci povrchových vod. Léčiva a drogy se v povrchových vodách vyskytují v koncentracích řádu nanogramů až mikrogramů na litr. I takto nízké koncentrace mohou negativně ovlivňovat vodní organismy (obojživelníky, ryby i bezobratlé, včetně společenstev mikroorganismů), což se může projevit např. změnami jejich chování či reprodukce. Hydrofobní léčiva a jejich metabolity se také mohou ve vodních organismech bioakumulovat. Přítomnost komplexní směsi mikropolutantů ve vodním prostředí může ovlivňovat biodiverzitu a s ní související ekosystémové funkce – např. samočistící procesy či efektivitu transformace živin a organických látek v rámci potravních řetězců.

Výsledky výzkumu chování a vlivu výše uvedených sloučenin mají dopad na aplikační i výrobní sféru společnosti. Vzhledem k jejich výskytu bude nutné adaptovat podmínky pro využití vyčištěných odpadních

vod jako zdrojů živin a závlah pro zemědělské plodiny. Léčiva a další psychoaktivní látky nejsou dostatečně odstraňovány konvenčními čistícími technologiemi, a pokud bude akcentováno riziko jejich přítomnosti v povrchových vodách, lze očekávat i dopad na oblast technologií čištění odpadních vod.

## Grantová podpora:

*Tento příspěvek vznikl za finanční podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR (VVI CENAKVA výzkumná infrastruktura, projekt LM2018099, 20192022) a Grantové agentury ČR (projekt 2009951S).*

## Corresponding author:

*Ing. Kateřina Grabicová, Ph.D., email: grabicova@frov.jcu.cz; Fakulta rybářství a ochrany vod (FROV), Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zátíší 728/II, 389 25 Vodňany*

## Abstract:

*In the last decade, the consumption of pharmaceuticals and illicit drugs increased. These compounds are metabolised in human body and excreted afterwards as a parent compound or its metabolite to wastewater. Analysing influent water to wastewater treatment plants we can gain the information on consumption of pharmaceuticals or illicit drugs in connected community. Despite highly centralized wastewater treatment, consequent removal such micropollutants is insufficient. With treated waters, residues of pharmaceuticals and drugs enter surface water where they can affect aquatic organisms at all trophic levels.*

## Keywords:

*behavioural changes in aquatic organisms; benthic organisms; bioaccumulation; fish; illicit drugs consumption; psychoactive pharmaceuticals; sertraline*

LITERATURA

1. Dodávky léčiv - se zaměřením na léčivé látky, 2021. Státní ústav pro kontrolu léčiv. <https://www.sukl.cz/dodavky-leciv-se-zamerenim-na-lecive-latky> (accessed Sept 23, 2020).
2. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. *European Drug Report 2020: Trends and Developments*; Luxembourg, 2020.
3. Vodovody, kanalizace a vodní toky - 2019, 2020. Český statistický úřad. <https://www.czso.cz/csu/czso/vodovody-kanalizace-a-vodni-toky-2019> (accessed Sept 23, 2020).
4. Wanner, J. Čištění odpadních vod v ČR: vývoj a současná situace, 2021. Vodní hospodářství. <http://vodnihospodarstvi.cz/cisteni-odpadnich-vod-cr/> (accessed Sept 23, 2020).
5. Golovko, O.; Kumar, V.; Fedorova, G.; Randak, T.; Grabic, R. Removal and Seasonal Variability of Selected Analgesics/Anti-Inflammatory, Anti-Hypertensive/Cardiovascular Pharmaceuticals and UV Filters in Wastewater Treatment Plant. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2014**, *21* (12), 7578–7585.
6. Golovko, O.; Kumar, V.; Fedorova, G.; Randak, T.; Grabic, R. Seasonal Changes in Antibiotics, Antidepressants/Psychiatric Drugs, Antihistamines and Lipid Regulators in a Wastewater Treatment Plant. *Chemosphere* **2014**, *111*, 418–426.
7. Vieno, N.; Tuhkanen, T.; Kronberg, L. Elimination of Pharmaceuticals in Sewage Treatment Plants in Finland. *Water Res.* **2007**, *41* (5), 1001–1012.
8. Wastewater-based epidemiology and drugs topic page, 2020. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. [https://www.emcdda.europa.eu/topics/wastewater\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/topics/wastewater_en) (accessed Nov 29, 2020).
9. Huestis, M. A.; Mitchell, J. M.; Cone, E. J. Urinary Excretion Profiles of 11-Nor-9-Carboxy-9-Tetrahydrocannabinol in Humans after Single Smoked Doses of Marijuana. *J. Anal. Toxicol.* **1996**, *20* (6), 441–452.
10. Infographic: methamphetamine residues in wastewater in selected European cities: trends and most recent data, 2020. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. [https://www.emcdda.europa.eu/media-library/infographic-methamphetamine-residues-wastewater-selected-european-cities-trends-and-most-recent-data-0\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/media-library/infographic-methamphetamine-residues-wastewater-selected-european-cities-trends-and-most-recent-data-0_en) (accessed Nov 29, 2020).
11. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. *Assessing Illicit Drugs in Wastewater: Advances in Wastewater-Based Drug Epidemiology*; Luxembourg, 2016.
12. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction and Europol. *EU Drug Markets Report 2019*; Luxembourg, 2019.
13. Grabic, R.; Grabicová, K.; Fedorova, G.; Golovko, O.; Randák, T. *Metodika sledování kontaminace povrchových vod organickými cizorodými látkami pomocí pasivních vzorkovačů*. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 158, 2015.
14. Grabic, R.; Vrana, B.; Fedorova, G.; Švecová, H.; Urík, J.; Červený, D.; Grabicová, K.; Šandová, M.; Turek, J.; Randák, T. *Využití pasivních vzorkovačů POCIS pro monitoring farmak a pesticidů v povrchových vodách*. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 167, 2018.
15. Vrana, B.; Urík, J.; Fedorova, G.; Švecová, H.; Grabicová, K.; Golovko, O.; Randák, T.; Grabic, R. In Situ Calibration of Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) for Monitoring of Pharmaceuticals in Surface Waters. *Environ. Pollut.* **2021**, *269*, 116121.
16. Švecová, H.; Grabic, R.; Grabicová, K.; Vojs Staňová, A.; Fedorova, G.; Červený, D.; Turek, J.; Randák, T.; Brooks, B. W. De Facto Reuse at the Watershed Scale: Seasonal Changes, Population Contributions, Instream Flows and Water Quality Hazards of Human Pharmaceuticals. *Environ. Pollut.* **2021**, *268*, 115888.
17. Grabicová, K.; Grabic, R.; Blaha, M.; Kumar, V.; Červený, D.; Fedorova, G.; Randák, T. Presence of Pharmaceuticals in Benthic Fauna Living in a Small Stream Affected by Effluent from a Municipal Sewage Treatment Plant. *Water Res.* **2015**, *72*, 145–153.
18. Grabicová, K.; Grabic, R.; Fedorova, G.; Fick, J.; Červený, D.; Kolarová, J.; Turek, J.; Zlabek, V.; Randák, T. Bioaccumulation of Psychoactive Pharmaceuticals in Fish in an Effluent Dominated Stream. *Water Res.* **2017**, *124*, 654–662.
19. Grabicová, K.; Grabic, R.; Fedorova, G.; Kolářová, J.; Turek, J.; Brooks, B. W.; Randák, T. Psychoactive Pharmaceuticals in Aquatic Systems: A Comparative Assessment of Environmental Monitoring Approaches for Water and Fish. *Environ. Pollut.* **2020**, *261*, 114150.
20. Randák, T.; et al. *Výskyt Farmak a Dalších Polutantů z Komunálních Odpadních Vod*

v Povodí Klíčových Vodárenských Zdrojů ČR, Závěrečná Zpráva Projektu NAZV QJ1530120; 2018.

21. Hubená, P.; Horký, P.; Grabic, R.; Grabicová, K.; Slavík, O.; Randák, T. Environmentally Relevant Levels of Four Psychoactive Compounds Vary in Their Effects on Freshwater Fish Condition: A Brain Concentration Evidence Approach. *PeerJ* **2020**, *8*, e9356.
22. Sancho Santos, M. E.; Grabicová, K.; Steinbach, C.; Schmidt-Posthaus, H.; Šálková, E.; Kolářová, J.; Vojs Staňová, A.; Grabic, R.; Randák, T. Environmental Concentration of Methamphetamine Induces Pathological Changes in Brown Trout (*Salmo Trutta Fario*). *Chemosphere* **2020**, *254*, 126882.
23. Douda, K.; Zhao, S.; Vodáková, B.; Horký, P.; Grabicová, K.; Božková, K.; Grabic, R.; Slavík, O.; Randák, T. Host-Parasite Interaction as a Toxicity Test Endpoint Using Asymmetrical Exposures. *Aquat. Toxicol.* **2019**, *211*, 173–180.
24. Ložek, F.; Kuklina, I.; Grabicová, K.; Kubec, J.; Buřič, M.; Randák, T.; Císař, P.; Kozák, P. Cardiac and Locomotor Responses to Acute Stress in Signal Crayfish *Pacifastacus Leniusculus* Exposed to Methamphetamine at an Environmentally Relevant Concentration. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17* (6), 2084.
25. Guo, W.; Hossain, M. S.; Kubec, J.; Grabicová, K.; Randák, T.; Buřič, M.; Kouba, A. Psychoactive Compounds at Environmental Concentration Alter Burrowing Behavior in the Freshwater Crayfish. *Sci. Total Environ.* **2020**, *711*, 135138.
26. Buřič, M.; Grabicová, K.; Kubec, J.; Kouba, A.; Kuklina, I.; Kozák, P.; Grabic, R.; Randák, T. Environmentally Relevant Concentrations of Tramadol and Citalopram Alter Behaviour of an Aquatic Invertebrate. *Aquat. Toxicol.* **2018**, *200*, 226–232.
27. Hossain, M. S.; Kubec, J.; Guo, W.; Roje, S.; Ložek, F.; Grabicová, K.; Randák, T.; Kouba, A.; Buřič, M. A Combination of Six Psychoactive Pharmaceuticals at Environmental Concentrations Alter the Locomotory Behavior of Clonal Marbled Crayfish. *Sci. Total Environ.* **2021**, *751*, 141383.
28. Kubec, J.; Hossain, M.; Grabicová, K.; Randák, T.; Kouba, A.; Grabic, R.; Roje, S.; Buřič, M. Oxazepam Alters the Behavior of Crayfish at Diluted Concentrations, Venlafaxine Does Not. *Water* **2019**, *11* (2), 196.
29. Ložek, F.; Kuklina, I.; Grabicová, K.; Kubec, J.; Buřič, M.; Grabic, R.; Randák, T.; Císař, P.; Kozák, P. Behaviour and Cardiac Response to Stress in Signal Crayfish Exposed to Environmental Concentrations of Tramadol. *Aquat. Toxicol.* **2019**, *213*, 105217.
30. Hossain, M. S.; Kubec, J.; Grabicová, K.; Grabic, R.; Randák, T.; Guo, W.; Kouba, A.; Buřič, M. Environmentally Relevant Concentrations of Methamphetamine and Sertraline Modify the Behavior and Life History Traits of an Aquatic Invertebrate. *Aquat. Toxicol.* **2019**, *213*, 105222.
31. Bláha, M.; Grabicová, K.; Shaliutina, O.; Kubec, J.; Randák, T.; Zlabek, V.; Buřič, M.; Veselý, L. Foraging Behaviour of Top Predators Mediated by Pollution of Psychoactive Pharmaceuticals and Effects on Ecosystem Stability. *Sci. Total Environ.* **2019**, *662*, 655–661.
32. Updated surface water Watch List adopted by the Commission, 2018. EU Science Hub. <https://ec.europa.eu/jrc/en/science-update/updated-surface-water-watch-list-adopted-commission> (accessed Nov 15, 2020).
33. Grabicová, K.; Grabic, R.; Fedorova, G.; Vojs Staňová, A.; Bláha, M.; Randák, T.; Brooks, B. W.; Žlábek, V. Water Reuse and Aquaculture: Pharmaceutical Bioaccumulation by Fish during Tertiary Treatment in a Wastewater Stabilization Pond. *Environ. Pollut.* **2020**, *267*, 115593.
34. Giang, P. T.; Burkina, V.; Sakalli, S.; Schmidt-Posthaus, H.; Rasmussen, M. K.; Randák, T.; Grabic, R.; Grabicová, K.; Fedorova, G.; Koba, O.; Golovko, O.; Turek, J.; Cervený, D.; Kolarova, J.; Zlabek, V. Effects of Multi-Component Mixtures from Sewage Treatment Plant Effluent on Common Carp (*Cyprinus Carpio*) under Fully Realistic Condition. *Environ. Manage.* **2019**, *63* (4), 466–484.
35. Sakalli, S.; Giang, P. T.; Burkina, V.; Zamaratskaia, G.; Rasmussen, M. K.; Bakal, T.; Tilami, S. K.; Sampels, S.; Kolarova, J.; Grabic, R.; Turek, J.; Randák, T.; Zlabek, V. The Effects of Sewage Treatment Plant Effluents on Hepatic and Intestinal Biomarkers in Common Carp (*Cyprinus Carpio*). *Sci. Total Environ.* **2018**, *635*, 1160–1169.